

X Congresso Regionale AME Puglia e Basilicata:  
"... aspettando Bari 2013"

Lecce, 21-22 dicembre 2012  
Grand Hotel Tiziano e dei Congressi



# Caso Clinico

## Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico"

**Marino Marinelli**  
Day Service Malattie della Tiroide  
FOGGIA

## Caso Clinico

# Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico" Le Neoplasie Tiroidee a cellule Ossifile Premessa

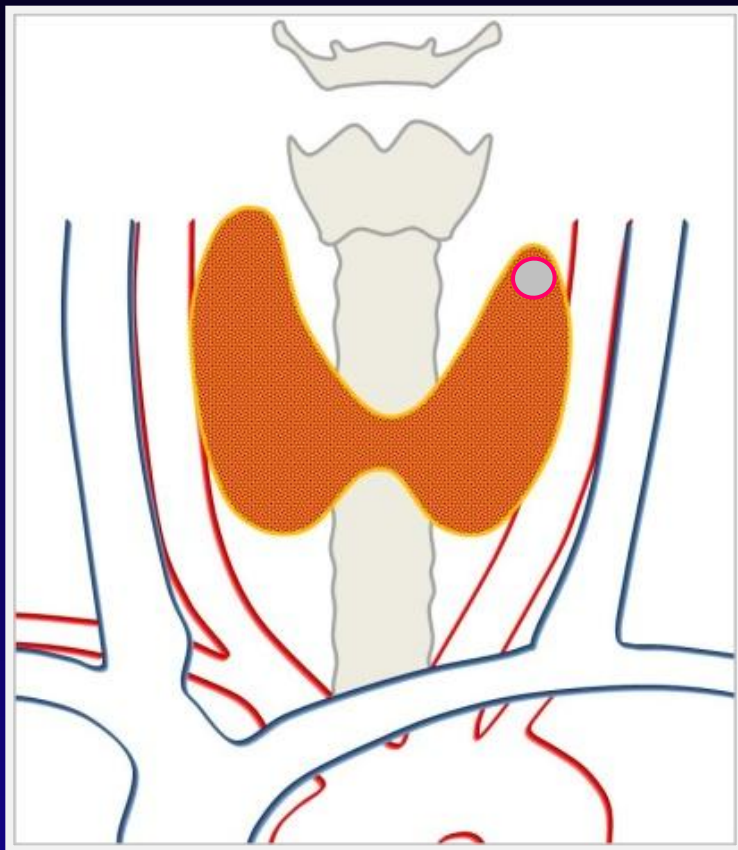
- Si definisce nodulo a cellule Ossifile una lesione contenete almeno il 75% di tali cellule.
- Le Neoplasie a cellule Ossifile costituiscono il 3% circa di tutti i tumori tiroidei.
- Solo il 15-45% risultano essere dei Carcinomi (HCC).
- Il 16%-25% sono Noduli iperplastici nel contesto di Gozzi nodulari o Tiroiditi di Hashimoto, la restante percentuale è costituita da Adenomi.

# Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico"

## Le Neoplasie Tiroidee a cellule Ossifile Premessa

- I Carcinomi a cellule Ossifile (HCC) hanno un comportamento più aggressivo dei corrispettivi Follicolari poiché presentano frequenti recidive (metastasi linfonodali e a distanza) ed alto indice di mortalità anche per l'inefficacia della Terapia Radiometabolica.

# Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico"



## Sintesi Anamnestica

La Sig.ra A. Patrizia di 45aa, fu sottoposta a screening tireologico il 05.07.11, per familiarità da parte di madre affetta da M. di Basedow. L'E.O. era negativo e la paziente era asintomatica. Il profilo ormonale ed autoanticorpale tiroideo era nella norma.



# Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico"

## Diagnostica Ecotomografica

All'ETG la Tiroide era di normali dimensioni, ad ecostruttura disomogenea.

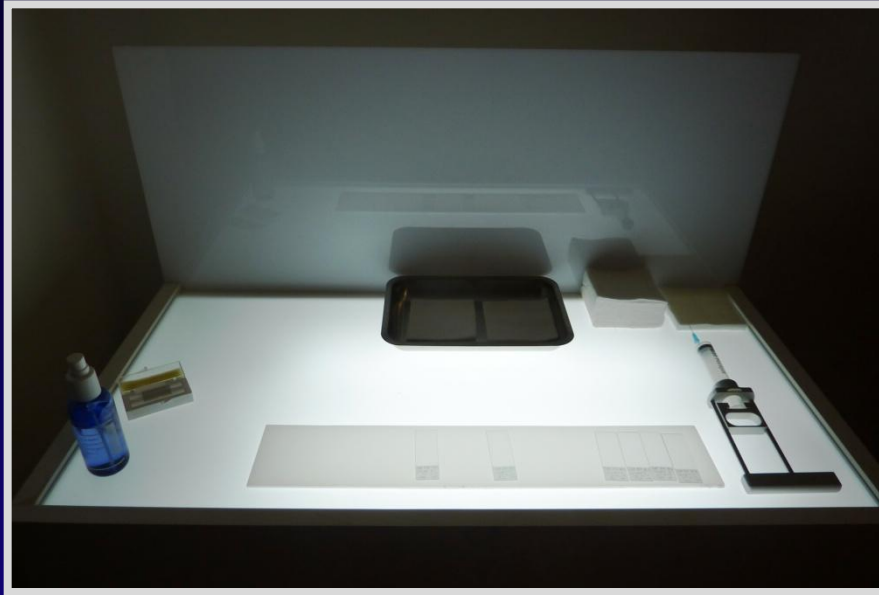
Al polo superiore del lobo sinistro si rilevava un micronodulo del dm di 6x4x4mm, solido ipoecogeno, contenente alcuni spots iperecogeni, a margini sfumati in stretta contiguità con la capsula e con pattern vascolare di tipo I. Non si rilevavano linfadenopatie loco regionali ad eco-pattern sospetto.



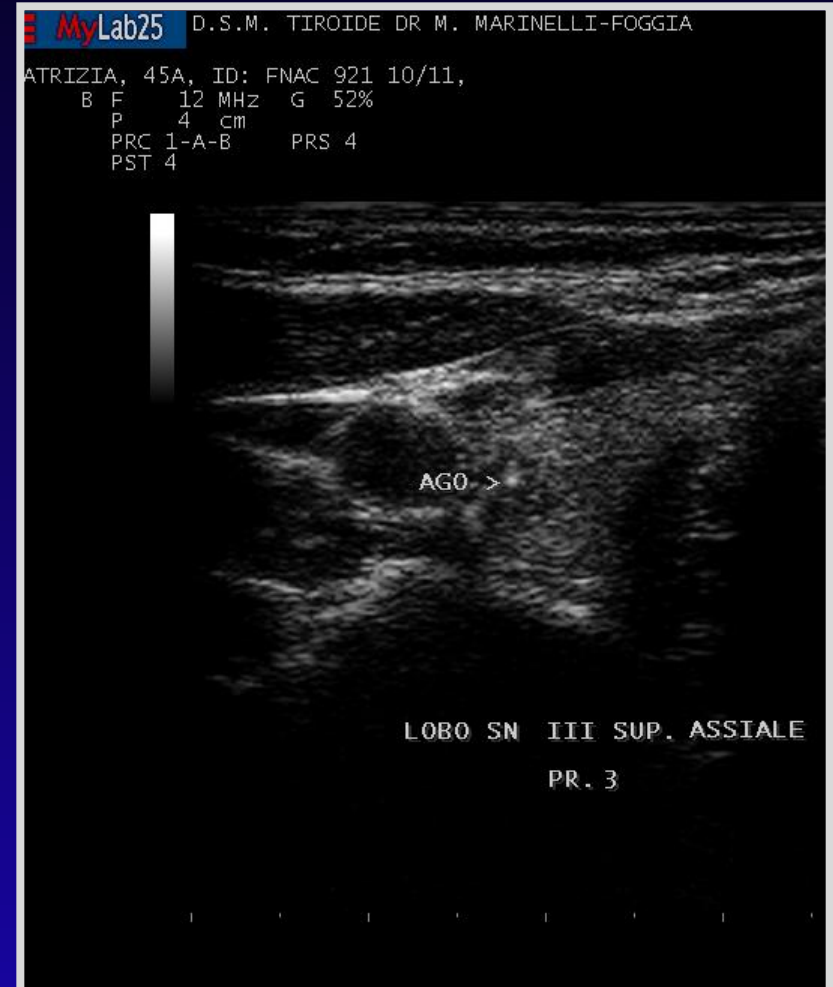
## Caso Clinico

# Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico"

## Agoaspirato Tiroideo Eco-guidato (US-FNA)



La paziente fu sottoposta ad Agoaspirato tiroideo eco-guidato (US-FNA).



## Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico"

### Agoaspirato Tiroideo (Referto Citologico)

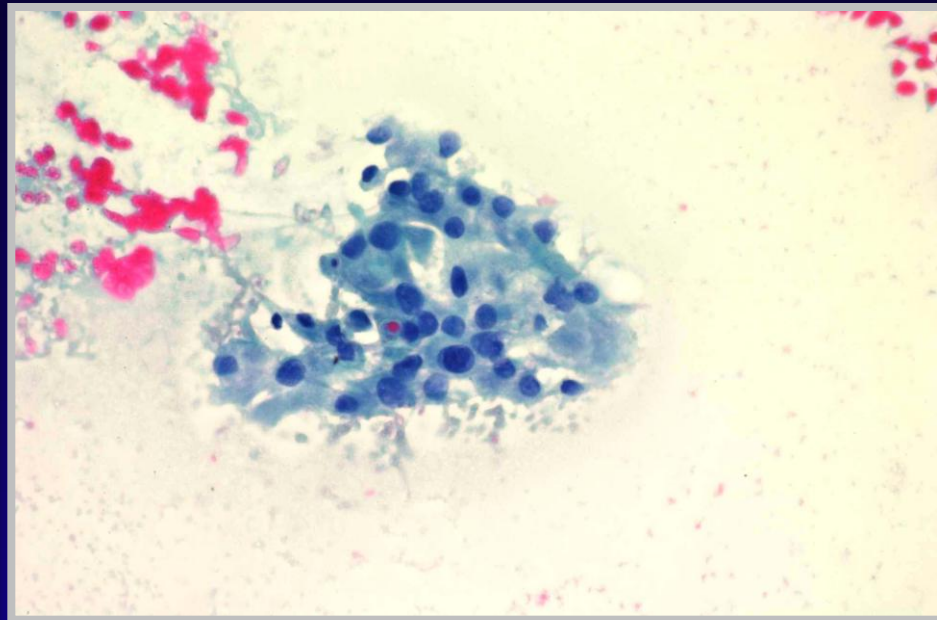
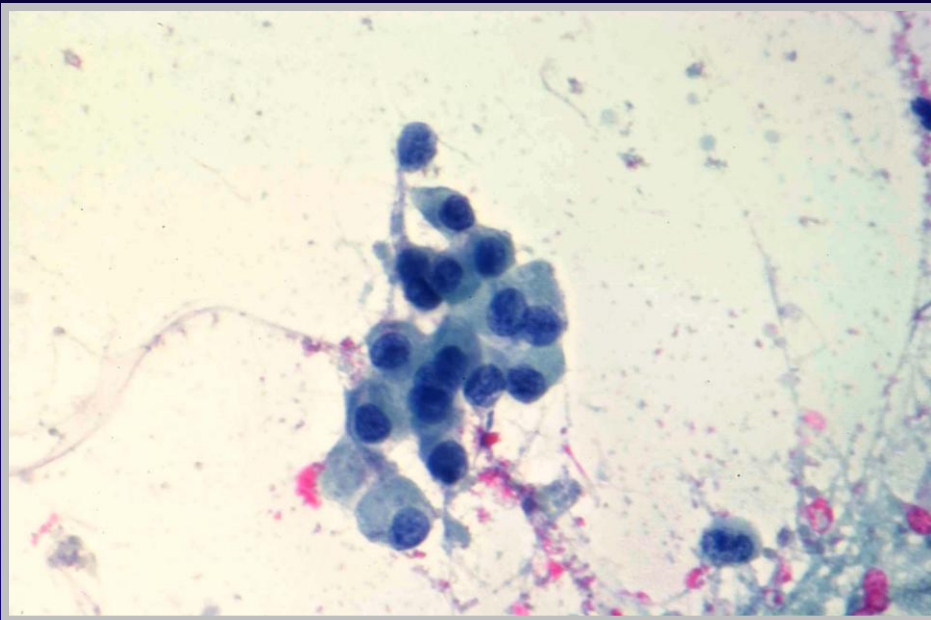
Strisci scarsamente cellulati ed ematici. Anche la colloide è scarsamente rappresentata. Sono presenti alcuni gruppi di cellule "ossifile" con atipie nucleari, che orientano verso una Proliferazione Follicolare (categoria TIR.3).

CLASSIFICAZIONE CITOLOGICA (Consensus Citologico Gruppo di Lavoro SIAPEC-IAP – 2007)	
TIR. 1	Inadeguato (non diagnostico)
TIR. 2	Negativo per cellule maligne (Benigno)
<b>TIR. 3</b>	<b>Indeterminato (Proliferazione Follicolare)</b>
TIR. 4	Sospetto di Malignità
TIR. 5	Diagnostico di Malignità

# Caso Clinico

## Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico"

### Esame Citologico



# Caso Clinico

## Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico"

### Esame Citologico





# Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico"

## The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology (2007)

CATEGORIE DIAGNOSTICHE	
I	Nondiagnostic or Unsatisfactory
II	Benign
III	Atypia of Undetermined Significance or Follicular Lesion of Undetermined Significance (AUS-FLUS)
IV	Follicular Neoplasm or Suspicious for a Follicular Neoplasm (FN-SFN) Specify if Hürthle cell (oncocytic) type
V	Suspicious for Malignancy
VI	Malignant

## Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico"

### The Bethesda System Implied Risk of Malignancy and Recommended Clinical Management

Diagnostic Category	Risk of Malignancy (%)	Recommended Clinical Management
Nondiagnostic or Unsatisfactory	1 - 4	Repeat FNA with ultrasound guidance
Benign	0 - 3	Clinical follow-up
Atypia of Undetermined Significance or Follicular Lesion of Undetermined Significance (AUS-FLUS)	5 - 15	Repeat FNA
Follicular Neoplasm or Suspicious for a Follicular Neoplasm Specify if Hürthle cell (oncocytic) type	15 - 30	Surgical lobectomy
Suspicious for Malignancy	60 - 75	Near-total thyroidectomy or surgical lobectomy
Malignant	97-99	Total thyroidectomy

## Caso Clinico

# Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico" Proposta di una nuova Classificazione Italian Consensus for the Classification and Reporting of Thyroid Cytology (SIAPEC-AIT 2014)

CATEGORIE DIAGNOSTICHE	
TIR. 1	Inadeguato (non diagnostico)
TIR. 1C	Lesione Cistica
TIR. 2	Negativo per cellule maligne (Benigno)
TIR. 3A	<b>Indeterminato</b> Cellular microfollicular/Hürthle cell pattern in a background of poor colloid amount with degenerative/regressive features. Partially compromised specimens (blood contamination) with mild cytologic or architectural alterations. Expected lower risk of malignancy.
TIR. 3B	<b>Indeterminato (Proliferazione Follicolare)</b> Monotonous, repetitive microfollicular pattern with scanty or absent colloid. More likely follicular neoplasm; expected higher risk of neoplasia.
TIR. 4	Sospetto di Malignità
TIR. 5	Diagnostico di Malignità

# Caso Clinico

## Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico"

### Considerazioni

Secondo le linee guida internazionali si sarebbe dovuto ripetere il prelievo citoaspirativo, vista la scarsità di tireociti presenti sugli strisci.

L'analisi di mutazione del gene B-RAF (V600E), che eseguiamo di routine sui noduli ad eco-pattern sospetto, risultò "positiva", confermando la diagnosi di Carcinoma Papillifero ed evitando la ripetizione del prelievo citoaspirativo.

Pertanto la Sig.ra Patrizia fu inviata al chirurgo per una Tiroidectomia totale con revisione del compartimento cervicale centrale.

# Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico"

## Analisi Molecolare

L'Analisi di mutazione viene eseguita mediante amplificazione genica con PCR dell'esone 15 del gene B-RAF (T1799A) e successivo sequenziamento del DNA estratto dal citoaspirato

Questa mutazione "oncogenica" porta alla sostituzione nell'isoforma B della proteina RAF (Serina/Treonina Kinasi), dell'Ac. Glutammico con Valina in posizione 600 (V600E) provocandone un'attivazione "costitutiva" che a sua volta innesca la cascata mitogena della via MAP Kinasica

La mutazione del gene B-RAF V600E è l'alterazione genetica più comune riscontrata nei Ca. Papilliferi (40-70%) e pertanto può esserne considerato il marcatore molecolare più specifico.

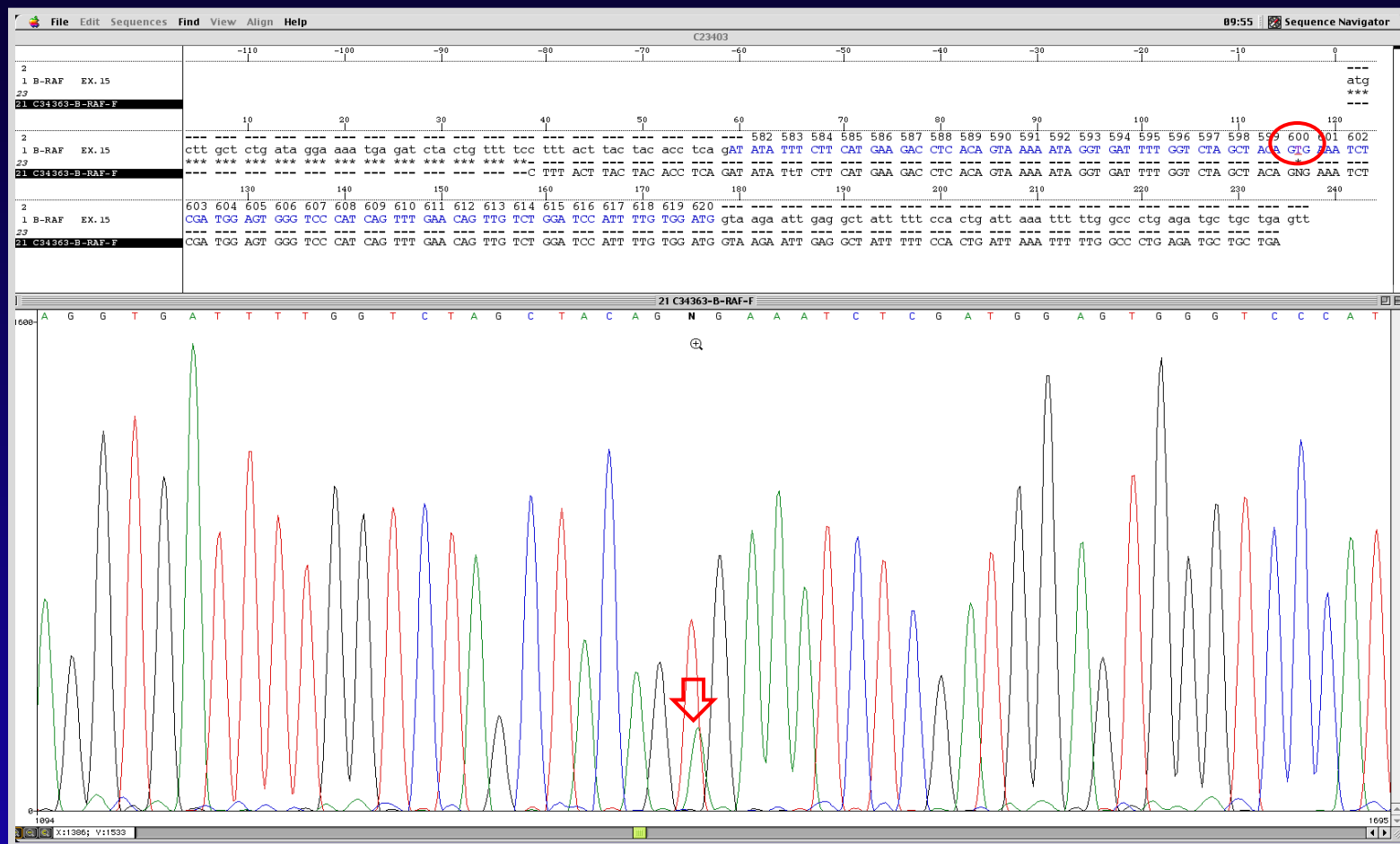


# Caso Clinico

## Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico"

### Diagnosi Molecolare

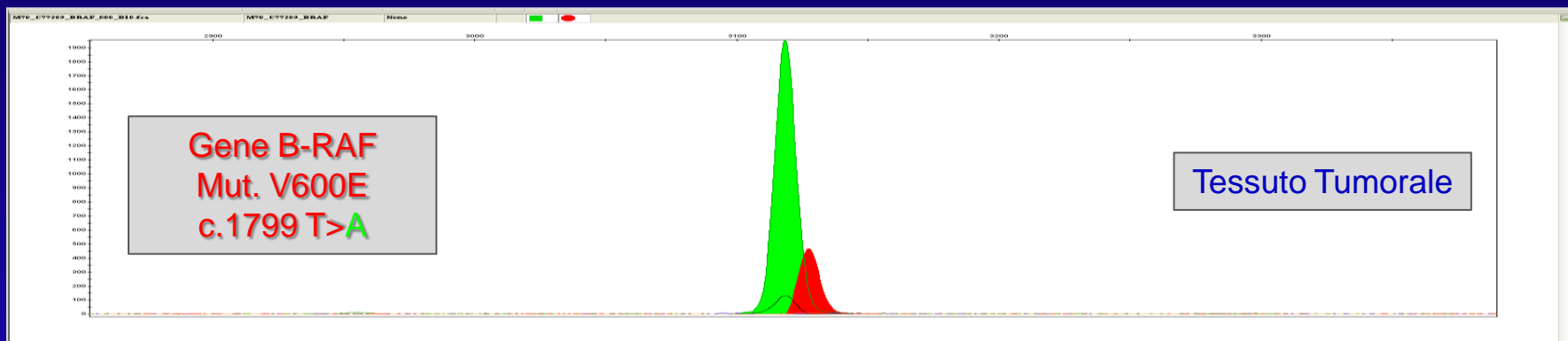
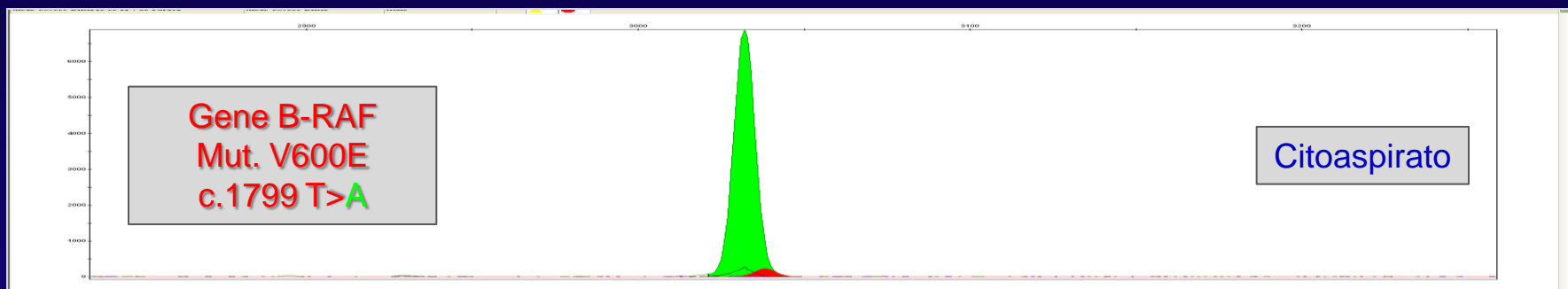
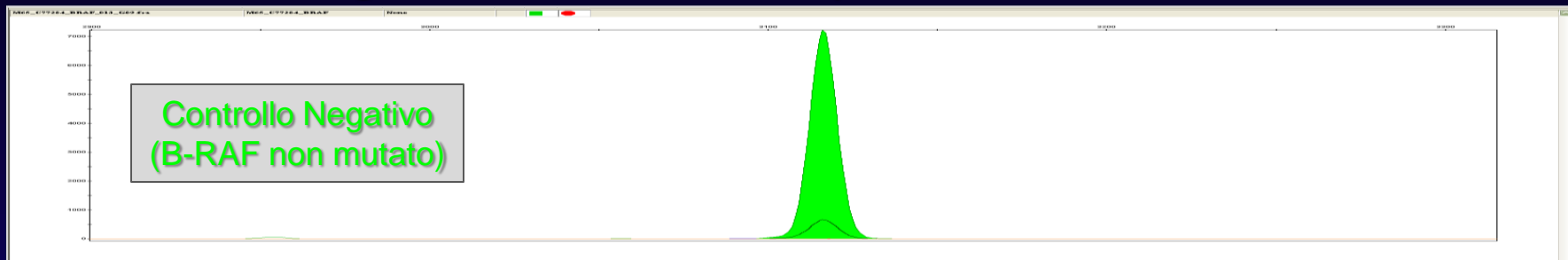
L'analisi di mutazione del gene B-RAF eseguita mediante sequenziamento del DNA estratto dal citoaspirato presentava la mutazione V600E T>A in eterozigosi a livello dell'esone 15



# Caso Clinico

## Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico" Diagnosi Molecolare

Analisi di mutazione del gene B-RAF eseguita mediante amplificazione genica (PCR) e Mini-sequenziamento del DNA



# Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico"



## Terapia Chirurgica

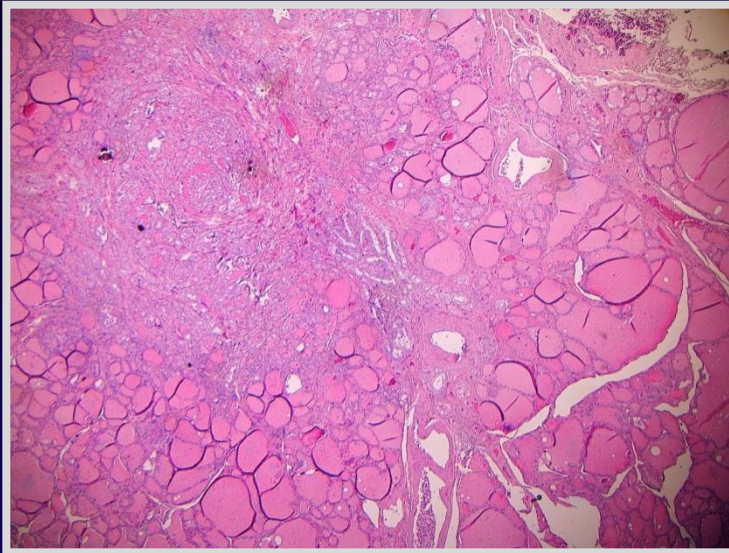
La Sig.ra Patrizia fu sottoposta a Tiroidectomia totale con asportazione di alcuni linfonodi del compartimento cervicale centrale.

## Descrizione Macroscopica

Al polo superiore del lobo sx nodulo biancastro sub-capsulare del dm di 6mm

## Caso Clinico

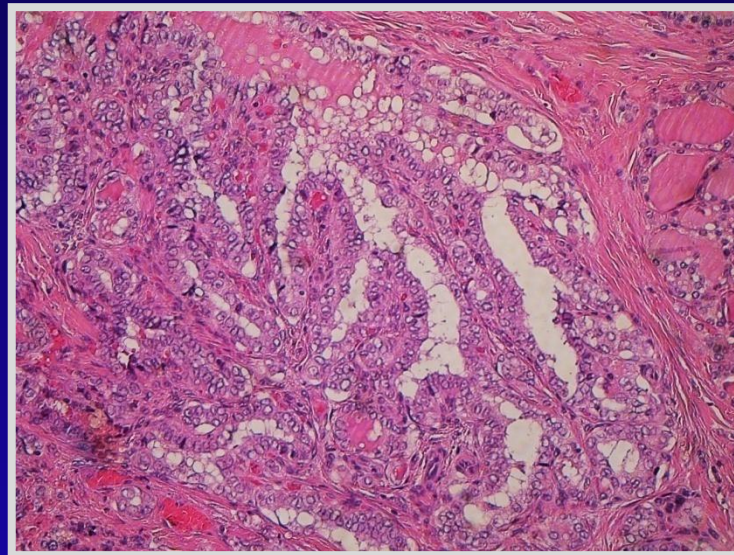
# Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico"



## Esame Istologico

Carcinoma Papillare varietà follicolare con infiltrazione della capsula tiroidea.

Linfonodi non metastatici  
(pT3N0Mx)

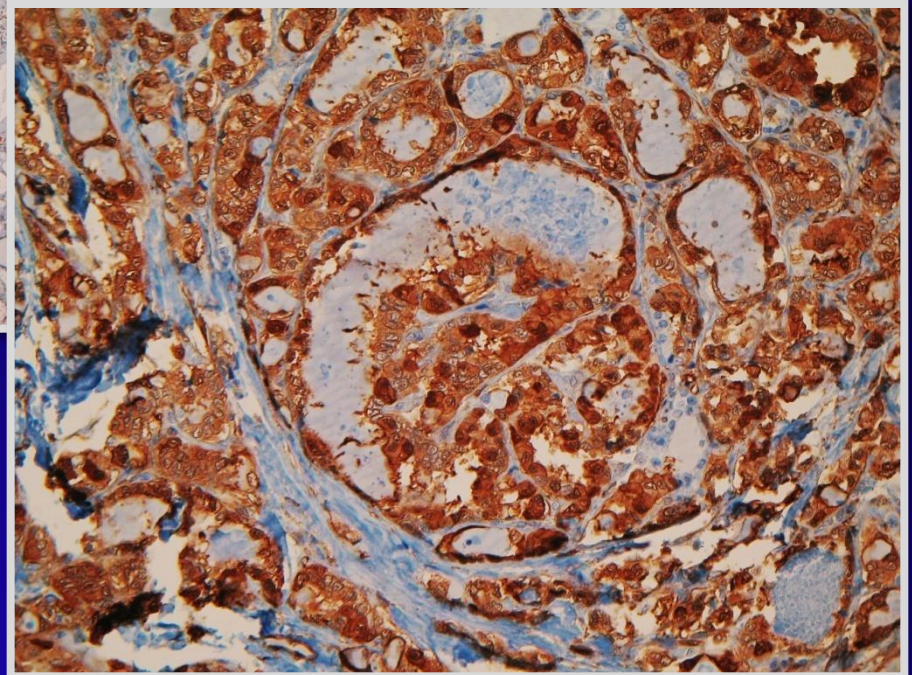
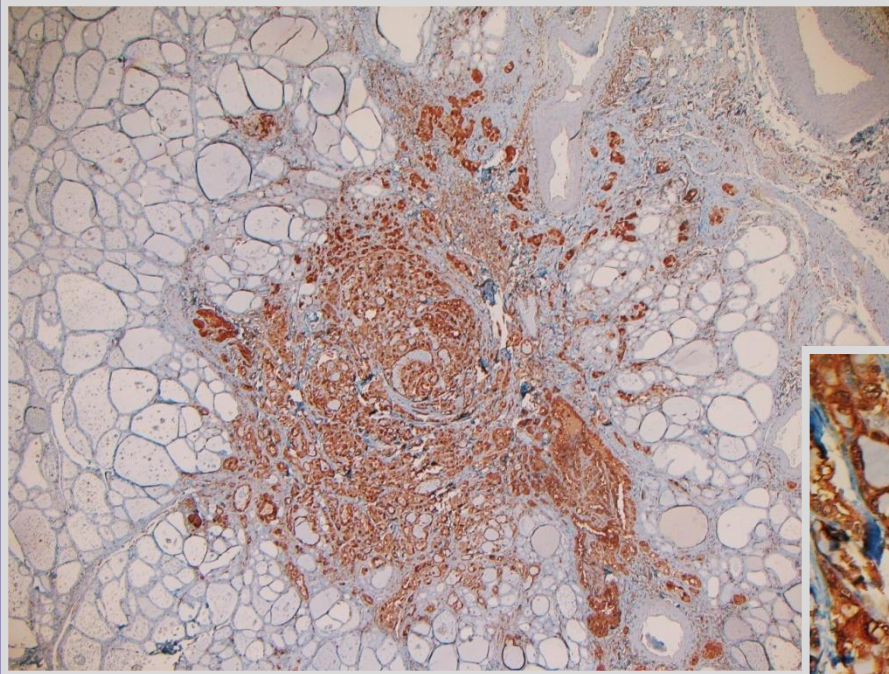




# Caso Clinico

## Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico"

### Immunoistochimica GALECTINA 3



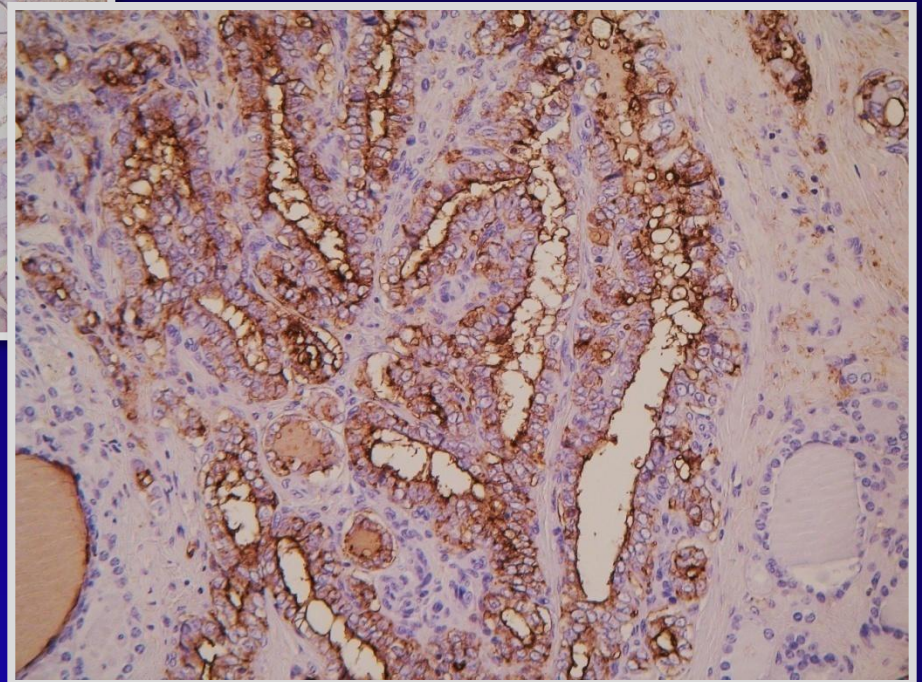
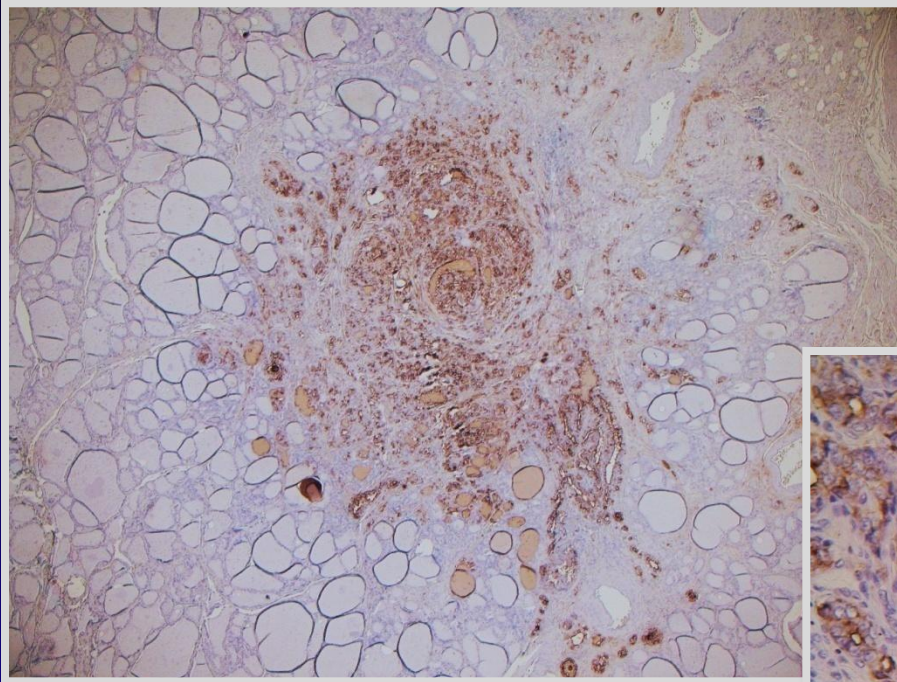


# Caso Clinico

## Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico"

### Immunoistochimica

### HBME-1



# Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico"

Considerazioni sull'analisi molecolare ed immunofenotipica nella diagnosi pre-operatoria dei Tumori Differenziati della Tiroide

- I Markers Immunocitochimici (ICC) sono più sensibili di quelli Molecolari ma meno specifici.
- I Markers Immunocitochimici (ICC) sono più utili dell'analisi di mutazione del gene B-RAF per le "Lesioni Indeterminate" (TIR.3) dove la variante follicolare del Ca. Papillifero è più frequente.
- Nei PTC vi è una significativa correlazione tra mutazione del gene B-RAF e caratteristiche clinico-patologiche di aggressività (**Invasione capsulare ed extratiroidea - Recidiva Tumorale - Metastasi Linfonodali - Multifocalità**). Dati non confermati in alcuni studi.

# Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico"

## Analisi molecolare di mutazione del gene B-RAF su Citoaspirato (FNA) - Vantaggi

1) Migliora l'accuratezza diagnostica nell'FNA del 20%

SPECIFICITA'	100%
SENSIBILITA'	75%
VPP	100%
VPN	74%

**Un TIR.1, un TIR.3 o un TIR.4, "BRAF+" può essere considerato diagnostico di Ca. Papillifero.**



# Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico"

## Analisi molecolare di mutazione del gene B-RAF su Citoaspirato (FNA) - Vantaggi

2) E' un potenziale marker "prognostico" nei PTC, individuando quelli che con maggior frequenza possono recidivare localmente, aiutando il clinico nella stratificazione del rischio e nel management pre e post-operatorio del paziente.

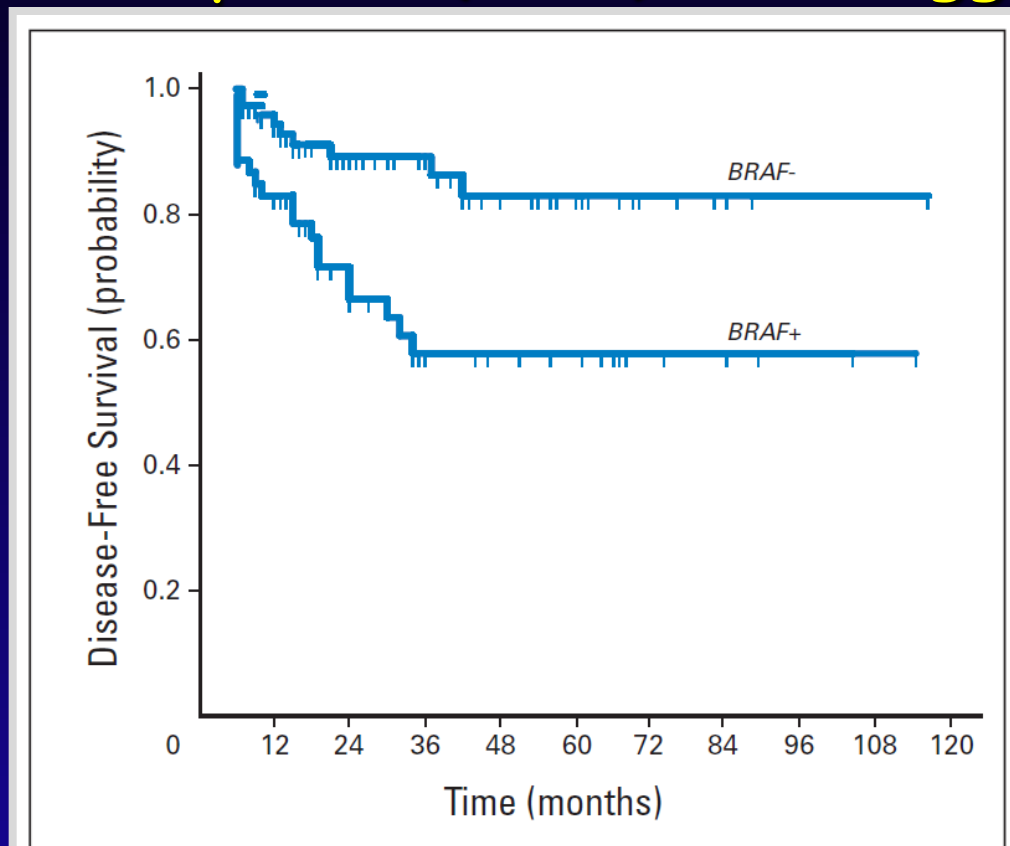
- Migliora la pianificazione della strategia chirurgica.
- Ottimizza la terapia Radiometabolica.
- Pone l'eventuale indicazione alla terapia con inibitori della Tirosina Kinasi in quei casi non responsivi alla terapia con Radioiodio.

Il 94% dei PTC ricorrenti/persistenti B-RAF+ non sono Iodo-captanti.

## Caso Clinico

# Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico"

## Analisi molecolare di mutazione del gene B-RAF su Citoaspirato (FNA) - Vantaggi



**Fig 1.** Kaplan-Meier estimate of papillary thyroid cancer disease-free probability in patients with or without *BRAF* mutation. Short vertical lines indicate censored observations (months of follow-up for those who have not had recurrence/persistence; standard log-rank test;  $\chi^2 = 9.2$ ;  $P = .002$ ).



# Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico"

## Quali sono le alterazioni Molecolari riscontrate nelle neoplasie Ossifile ?

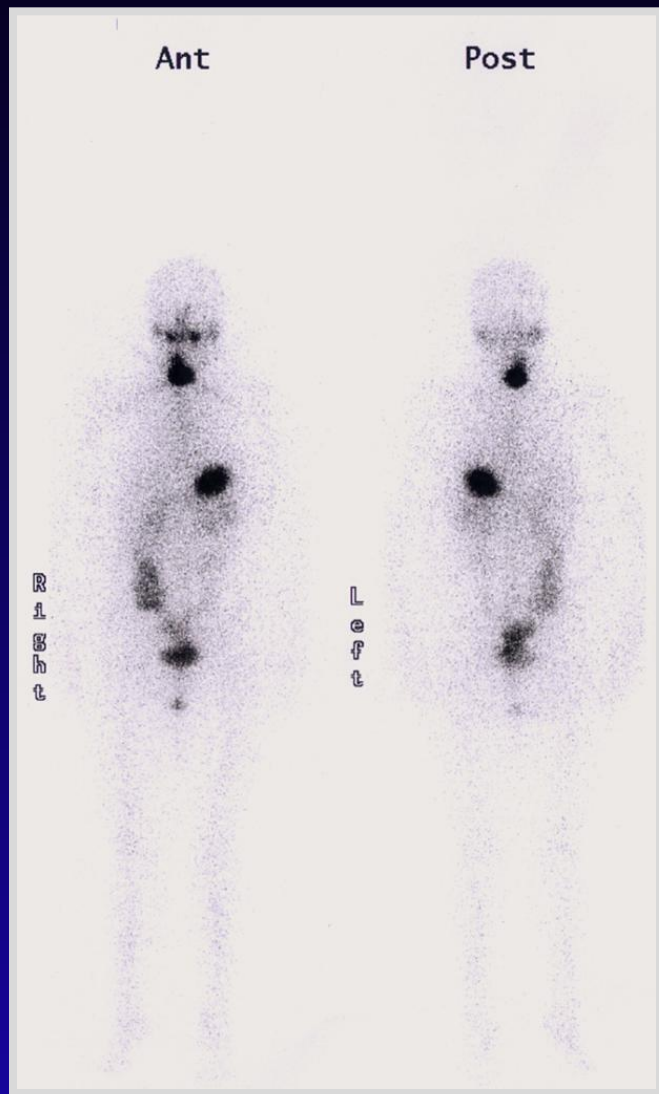
### Fenotipo neoplastico

L'immunostaining con il classico pannello, Galectina-3, HBME-1 e CK-19 è poco sensibile nelle neoplasie ossifile. L'iperespressione della Ciclina D1, D3 e del Ki67 aumenta il sospetto di malignità nelle lesioni ossifile a citologia indeterminata (TIR.3).

### Genotipo neoplastico

La mutazione del gene "pro-apoptotico" GRIM-19 (esone 1-5) può essere importante nella patogenesi delle Neoplasie a cellule Ossifile.

# Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico"



## Terapia Radiometabolica

La paz. Fu sottoposta a Terapia Radiometabolica dopo stimolazione con TSH ricombinante (Thyrogen<sup>®</sup>) e somministrazione di 50mCi di <sup>131</sup>I.

## Test al Thyrogen<sup>®</sup>

Dopo circa un anno ha effettuato il Test al Thyrogen<sup>®</sup> per la verifica post-ablativa, risultando "negativo" (TSH 135,5  $\mu$ UI/ml - Tg 0,05 ng/ml - TgAb <0,1 UI/ml).

## Follow-up annuale

L'ETG del collo non evidenziava lesioni sospette.

Attualmente la paz. è in terapia con L-T4 a dosaggio sostitutivo-soppressivo e gode di ottima salute.

# Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico"

## Conclusioni 1

- Non tutte le cellule ossifile riscontrate nei citoaspirati sono cellule di Hürtle (Oncocyte-like lesions) e non tutte dovrebbero essere considerate neoplasie follicolari, molte di queste risultano essere in realtà lesioni benigne.
- Solo il 15-45% delle Neoplasie Ossifile annida un carcinoma.
- La variante "Ossifila" del PTC è di raro riscontro.
- Anche alcuni PTC variante follicolare possono mimare citologicamente una Neoplasia Ossifila.

Queste lesioni devono essere inquadrare nel contesto clinico del paziente tenendo conto delle caratteristiche ETG e se necessario con l'ausilio di altre metodiche di diagnostica per immagini (18-FDG-PET, <sup>99</sup>Tc-sestaMIBI).

# Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico"

## Conclusioni 2

Il Carcinoma Papillifero della tiroide (PTC) a basso rischio, come nel caso clinico presentato, ha nella stragrande maggioranza dei casi un'ottima prognosi con remissione clinica completa.

E' anche vero che molti microPTC hanno un andamento indolente per tutta la vita, tanto che alcuni autori suggeriscono un atteggiamento "attendista-osservazionale", sottoponendo la lesione sospetta al solo follow-up clinico ed ecotomografico, per valutarne l'incremento volumetrico. Questo tipo di approccio clinico è ancora sotto studio, e necessita di essere validato su più ampie casistiche, soprattutto per le conseguenze psicologiche e legali che potrebbe causare.



# Caso Clinico

## Un Micronodulo a cellule ossifile "Atipico"

### Conclusioni 3

In futuro la caratterizzazione molecolare "pre-operatoria" del nodulo carcinomatoso, potrebbe aiutare l'Endocrinologo nel migliorare la stratificazione del rischio e nel corretto management clinico del Carcinoma tiroideo.