

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E
CHIRURGIA

DIPARTIMENTO DI MEDICINA DEI SISTEMI

Direttore: Prof. Roberto Vettor

UOC DI ENDOCRINOLOGIA

Direttore: Prof. Roberto Vettor

TESI DI LAUREA

**Il valore della procalcitonina nello screening del
carcinoma midollare tiroideo.**

Relatrice: Prof.ssa Caterina Mian

Correlatrice: Dott.ssa Simona Censi

Laureanda: Emma Zanin

Anno Accademico: 2023/2024

Sommario

RIASSUNTO	1
ABSTRACT	2
INTRODUZIONE	3
Carcinoma midollare della tiroide	3
Forma sporadica	3
Clinica	5
Forme ereditarie	5
Tecniche e marcatori per la diagnosi di MTC	6
Ecografia	6
Citologico	8
Altre indagini strumentali	10
Genetica	11
Biumorale	11
Calcitonina	11
Problematiche pre-analitiche	12
Problematiche analitiche	13
Problematiche post-analitiche	13
Valori di riferimento della calcitonina	13
Test al calcio gluconato	15
Altri markers	16
Pro-calcitonina	17
Stadiazione	18
Terapia chirurgica	20
Altre terapie	22
Follow-up	24
SCOPO DELLO STUDIO	27
MATERIALI E METODI	28
Tipo di studio e metodo di reclutamento	28
Pazienti	28
Laboratorio	29
Statistica	29
RISULTATI	30
Pazienti	30
Pazienti con MTC	32
Calcitonina	34
Calcitonina con cut off divisi per sesso	35
Cut-off migliori divisi per sesso	38

Procalcitonina.....	39
Procalcitonina e iperplasia a cellule C	39
Procalcitonina con cut-off 0,04	39
Procalcitonina con cut-off 0,07	41
Cut-off migliore per proCT	44
Calcitonina e procalcitonina combinate	45
Calcitonina >10 pg/ml e proct 0,04 ng/ml.....	45
Calcitonina >cut off sesso specifici e proCT 0,04 ng/ml	48
Calcitonina >10 pg/ml e proCT 0,07 ng/ml	51
Calcitonina >cut off sesso specifici e proCT 0,07 ng/ml	54
Procalcitonina in pazienti con livelli di CT moderatamente elevati.....	56
DISCUSSIONE.....	58
Procalcitonina come marcatore di screening.....	58
Citologici e cut-off di ProCT a confronto	58
Confronto tra cut-off di proCT	59
Considerazioni tra proCT e CT con cut off di 10 pg/ml.....	59
CT con cut-off di 10 pg/ml e cut-off sesso specifici a confronto	61
ProCT con cut-off di 0,04 ng/ml e CT con cut-off sesso specifici.....	62
ProCT con cut-off di 0,07 ng/ml e CT con cut-off sesso specifici.....	62
Migliori cut-off per la CT divisi per sesso	62
Considerazioni di performance finali.....	63
Possibili piffalls nell'utilizzo di questi due markers come screening	64
Limiti dello studio	64
CONCLUSIONI.....	66
BIBLIOGRAFIA.....	67

RIASSUNTO

Presupposti dello studio: la procalcitonina (proCT) è stata individuata come marcatore alternativo o aggiuntivo alla calcitonina (CT) per lo *screening* del carcinoma midollare della tiroide (MTC).

Scopo dello studio: stabilire il ruolo della proCT come marcatore da utilizzare nello screening del MTC.

Materiali e metodi: sono stati reclutati 478 pazienti operati a Padova per patologia nodulare tiroidea per indagare il ruolo della proCT a confronto con la CT per lo screening del MTC. Lo studio si è svolto retrospettivamente consultando le cartelle cliniche di pazienti i cui livelli sierici di proCT e di CT erano stati ottenuti retrospettivamente. Alla diagnosi istologica 23 pazienti su 478 si sono rivelati MTC.

Risultati: la CT con *cut-off* > 10pg/ml presentava le seguenti *performance*: sensibilità di 0,91; specificità di 0,98; VPP di 0,7; VPN di 0,99 ($p < 0,0001$) mentre la CT con *cut-off* sesso-specifici ha presentato una sensibilità di 0,61, una specificità di 0,99, un VPP di 0,93 e un VPN di 0,98. La CT con *cut-off* > 10 pg/ml aveva *performance* migliori rispetto alla proCT, sia utilizzando il *cut-off* di 0,04 ng/ml (sensibilità: 0,87; specificità: 0,96; VPP: 0,56 e VPN: 0,96; $p < 0,0001$) che utilizzando il *cut-off* di 0,07 ng/ml (sensibilità: 0,78; specificità 0,98; VPP: 0,72; VPN: 0,99; $p < 0,0001$). Nei citologici maligni il *cut-off* di proCT di 0,04 ng/ml e il *cut-off* di 0,07 ng/ml presentano entrambi una sensibilità e un VPN di 1,00. Utilizzando i *cut-off* sesso specifici per la CT insieme al dosaggio della proCT, con *cut-off* di 0,04 ng/ml, 6 pazienti vengono individuati dalla proCT ma non dalla CT. Utilizzando invece il *cut-off* di 0,07 ng/ml, questo numero saliva a 7.

Conclusioni: la CT sembra essere migliore della proCT come marcatore di screening per l'MTC in quanto più sensibile. La pro-CT con *cut-off* di 0,04 ng/ml sembra essere migliore rispetto al *cut-off* di 0,07 ng/ml in un contesto di screening in quanto più sensibile e potrebbe essere utilizzata assieme alla CT per aumentare la specificità per la diagnosi di MTC. La proCT con *cut-off* di 0,04 ng/ml potrebbe essere utilizzata insieme alla CT con *cut-off* sesso-specifici per aumentarne la sensibilità.

ABSTRACT

Background: procalcitonin (proCT) has been identified as an alternative or additional marker to calcitonin (CT) for the screening of medullary thyroid carcinoma (MTC).

Aim of the study: establishing the role of proCT as a marker to be used in MTC screening.

Materials and methods: 478 patients operated in Padua for a thyroid nodule were enrolled to investigate proCT levels in comparison with CT for MTC screening. The study was performed retrospectively by consulting the medical records of these patients, whose serum levels of proCT and CT were dosed preoperatively. At histological diagnosis, 23 out of 478 patients tested positive for MTC.

Results: CT with a cut-off > 10 pg/ml performed as follows: sensitivity of 0.91; specificity of 0.98; PPV of 0.7; NPV of 0.99 and $p < 0.0001$ while CT with sex-specific cut-offs presented a sensitivity of 0.61, a specificity of 0.99, a PPV of 0.93 and a NPV of 0.98. CT with a cut-off > 10 pg/ml performed better than proCT both using the cut-off of 0.04 ng/ml (sensitivity: 0.87; specificity: 0.96; PPV: 0.56 and NPV: 0.96; $p < 0.0001$) and using the cut-off of 0.07 ng/ml (sensitivity: 0.78; specificity 0.98; PPV: 0.72; NPV: 0.99; $p < 0.0001$). In malignant cytology, the proCT cut-off of 0.04 ng/ml and the cut-off of 0.07 ng/ml both have a sensitivity and a NPV of 1.00. If the CT-specific sex cut-offs are used in conjunction with the proCT assay, with a cut-off of 0.04 ng/ml, 6 patients are detected by proCT but not by CT. If the cut-off of 0.07 ng/ml is used instead, an additional patient is lost.

Conclusions: CT seems to be better than pro-CT as a screening marker for MTC as it is more sensitive. The pro-CT with a cut-off of 0.04 ng/ml seems to be better than the cut-off of 0.07 ng/ml in a screening context as it is more sensitive and could be used together with CT to increase the specificity for the diagnosis of MTC. ProCT with a cut-off of 0.04 ng/ml could be used together with CT with sex-specific cut-offs to increase its sensitivity.

INTRODUZIONE

Carcinoma midollare della tiroide

Il carcinoma midollare della tiroide (MTC) è una neoplasia maligna di origine neuroendocrina che origina dalle cellule C parafollicolari della tiroide stessa. Si tratta del terzo tumore tiroideo maligno più frequente dopo il carcinoma papillare e il carcinoma follicolare (Pelizzo et al., 2023). Questa patologia maligna si sviluppa dalle cellule della cresta neurale e ha la particolarità di produrre calcitonina (CT), in maniera simile alle normali cellule C parafollicolari. Queste cellule possono anche sintetizzare e rilasciare altri peptidi, come l'antigene carcinoembrionario (CEA) più comunemente e, in rari casi, il *corticotropin releasing hormone* (CRH), l'ormone adrenocorticotropo (ACTH), peptidi correlati al paratormone (PTH), l'insulina e il glucagone. La variante midollare del carcinoma tiroideo costituisce meno del 5% di tutti i tumori maligni della tiroide, secondo recenti dati SEER (*Surveillance, Epidemiology, and End Results*), basati sui database degli Stati Uniti, che lo collocano intorno all'1-2%. Questa proporzione potrebbe essere influenzata anche dall'eccessiva diagnosi di carcinoma papillare della tiroide negli ultimi decenni. (Wells et al., 2015a)

Forma sporadica

La forma sporadica di MTC si manifesta in un 75-80% di casi e presenta un picco di incidenza tra la quarta e la sesta decade di vita. Esso si manifesta solitamente come lesione unica ed evolve portando a un coinvolgimento linfonodale precoce; metastasi ai linfonodi cervicali laterali e centrali si attestano infatti tra 11-14% dei T1 e l'86-93% dei T4. Le metastasi a distanza più frequenti si presentano a livello di fegato, ossa e polmoni. Le metastasi alle ossa presentano una prognosi più sfavorevole (Pelizzo et al., 2023). L'alterazione genetica più frequente nei tumori sporadici risulta essere quella di *RET* ((REarranged during Transfection), la seconda mutazione più frequente è invece quella a carico dell'oncogene *RAS*. (Jaber et al., 2021). La mutazione di *RET* è presente nel 40-50% dei tumori midollari sporadici e

l'alterazione più frequente è a carico del codone 918, esone 16; essa è associata a una maggiore aggressività della neoplasia.(Elisei et al., 2008)
Nella figura 1 sono riassunte le caratteristiche genetiche principali degli MTC.

Classification of MTC

Hereditary MTC (germline <i>RET</i> mutation present)	25%
Sporadic MTC (no germline <i>RET</i> mutation identified)	75%
Sporadic MTC (no germline <i>RET</i> mutation identified)	
• No somatic <i>RET</i> mutations found	35%
• Somatic <i>RET</i> mutations found	65%
- Exon 16, codon 918	60%
- Exon 11, codon 630, 634	21%
- Exon 10, codon 609, 620	9%
- Exon 15, codon 891	9%

MTC: medullary thyroid cancer.

UpToDate®

Figura 1. Riassunto delle caratteristiche genetiche degli MTC.(Burton, 1992)

Nell'MTC sporadico *RET*-negativo, sono state rilevate mutazioni *H-RAS* e mutazioni *K-RAS*; tali mutazioni sono mutualmente esclusive rispetto a quelle di *RET*.(Moura et al., 2011). Esse sono presenti in circa il 20% dei carcinomi midollari della tiroide e sono considerate anche esse *driver* nella patogenesi, allo stesso modo delle mutazioni di *RET*.(Elisei et al., 2008)

Recenti studi hanno dimostrato inoltre la presenza “*copy number loss*” di *CDKN2C* e alterazioni nelle pathway di RB (proteina del retinoblastoma) e mTOR correlate ad una prognosi più infausta. Altri studi hanno valutato

l'aumentata espressione per alterazioni epigenetiche di mi-RNA come potenziale mediatore di patogenesi, è stato notato inoltre che sono presenti alterazioni di *FAT1/FAT4* in tumori midollari sporadici. Inoltre, sono stati identificati due sottotipi molecolari con un diverso comportamento biologico: il sottotipo mesenchimale caratterizzato da transizione epitelio-mesenchimale e il sottotipo proliferativo associato ad iperattivazione delle vie del ciclo cellulare. (Jaber et al., 2021)

Clinica

La forma sporadica del carcinoma presenta tipicamente un esordio clinico come nodulo tiroideo asintomatico. In alcuni casi può manifestarsi con raucedine a causa della paralisi del nervo laringeo ricorrente, diarrea persistente e arrossamenti cutanei. Il comportamento biologico dell'MTC sporadico è considerato imprevedibile: esiste una minoranza di tumori intra-tiroidei senza metastasi che, anche indipendentemente dalle dimensioni, presentano un decorso favorevole. Le manifestazioni restanti si suddividono in casi con un comportamento intermedio, con malattia residua stabile dopo la chirurgia, e casi difficilmente controllabili con malattia progressiva o multi-recidiva nonostante interventi chirurgici estesi e reiterati. Il numero di pazienti sottoposti a uno o più reinterventi per persistenza di malattia in questo caso è elevato. (Pelizzo et al., 2023)

Forme ereditarie

L'MTC ereditario (20-25% dei casi) è multifocale, bilaterale, associato a iperplasia delle cellule C. Questa forma di MTC è correlata ad alterazioni del gene *RET* (*REarranged during Transfection*) e si manifesta con la “*multiple endocrine neoplasia 2 syndrome*” (MEN2). In merito a questo ultimo punto si possono distinguere una sindrome MEN 2A o sindrome di Sipple (60% dei casi) e una sindrome MEN 2B o sindrome di Wagenmann-Froboese.

MEN 2A

La MEN2A è caratterizzata dall'associazione del tumore midollare con feocromocitomi presente in circa il 50% dei casi e iperparatiroidismo primario lieve e tardivo (pHPT) presente in circa il 20% dei casi. Può essere inoltre presente l'amiloidosi lichenoidale cutanea e la malattia di Hirschsprung. La prognosi dell'MTC in questa sindrome è migliore che nella MEN2B.

MEN 2B

Nella MEN 2B, il MTC è associata a feocromocitoma (50%), neuromi della mucosa, ganglioneuromatosi intestinale, ipertrofia dei nervi corneali e un caratteristico habitus marfanoide. Il comportamento clinico dell'MTC è aggressivo e ha una prognosi sfavorevole.(Pelizzo et al., 2023).

Nelle sindromi MEN2, il carcinoma midollare della tiroide di solito rappresenta la prima manifestazione clinica. Pertanto, è essenziale che tutti i pazienti con MTC vengano valutati non solo per la stadiazione pre-operatoria della neoplasia tiroidea (tramite misurazione di CT, CEA e valutazione mediante diagnostica per immagini), ma anche attraverso l'analisi delle metanefrine frazionate nel plasma e/o delle catecolamine e metanefrine nelle urine raccolte in un periodo di 24 ore, insieme alla misurazione dei livelli di calcio, fosforo e PTH. Se viene diagnosticato un feocromocitoma, il trattamento chirurgico di questo deve precedere quello del MTC.(Wells et al., 2015a).

Tecniche e marcatori per la diagnosi di MTC

Una diagnosi precoce risulta essere fondamentale per un trattamento adeguato della patologia e per permettere al paziente una prognosi quanto più favorevole possibile. L'iter diagnostico suggerito in caso di riscontro di una massa palpabile a livello del collo dalle linee guida dell'*American Thyroid Association* (ATA) comprende l'ecografia e l'eventuale agoaspirato della lesione, la diagnosi tuttavia risulta definitiva solo in seguito alla conferma istologica. L'MTC non presenta caratteristiche cliniche precoci e il tasso di diagnosi citologica si attesta attorno al 50-60%, per questo è sviluppata nel tempo un'alternativa diagnostica che si basa prevalentemente sul dosaggio della CT.

Ecografia

Molteplici patologie maligne della tiroide si manifestano come noduli focali e per questo motivo molte società di endocrinologi e radiologi hanno sviluppato dei criteri morfologici per identificare i noduli a rischio significativo di malignità ed evitare in questo modo biopsie non necessarie. Per questo motivo è stato rilasciato nel 2017 l'“*American College of Radiology Thyroid Imaging, Reporting and Data System*” (ACR TI-RADS) riassunto nella figura 2, che distingue 5 categorie morfologiche distinte che permettano di stabilire il rischio di malignità del nodulo preso in esame e la necessità o meno di ricorrere alla biopsia.(Alexander et al., 2020).

ACR (2017): TIRADS classification scheme and FNA guidance for thyroid nodules

Composition		Echogenicity		Shape		Margin		Echogenic foci	
Cystic or almost completely cystic	0	Anechoic	0	Wider-than-tall	0	Smooth	0	None or large comet-tail artifacts	0
Spongiform	0	Hyperechoic or isoechoic	1	Taller-than-wide	3	Ill-defined	0	Macrocalcifications	1
Mixed cystic and solid	1	Hypoechoic	2			Lobulated or irregular	2	Peripheral (rim) calcifications	2
Solid or almost completely solid	2	Very hypoechoic	3			Extrathyroidal extension	3	Punctate echogenic foci	3
		Points		Malignancy risk (%)		FNA biopsy threshold (mm)			
TR1		0		0.3		No biopsy			
TR2		2		1.5		No biopsy			
TR3		3		4.8		25			
TR4		4 to 6		9.1		15			
TR5		7+		35.0		10			

ACR: American College of Radiology; TIRADS: Thyroid Imaging, Reporting and Data System; FNA: fine-needle aspiration.

References:

- Middleton WD, Teefey SA, Reading CC, et al. Multiinstitutional analysis of thyroid nodule risk stratification using the American College of Radiology Thyroid Imaging Reporting and Data System. *AJR Am J Roentgenol* 2017; 208:1331.

Original figure modified for this publication. From: Tessler FN, Middleton WD, Grant EG, et al. ACR Thyroid Imaging, Reporting and Data System (TI-RADS): White paper of the ACR TI-RADS committee. *J Am Coll Radiol* 2017; 14:587. Table used with the permission of Elsevier Inc. All rights reserved.

UpToDate®

Figura 2. Classificazione TI-RADS

Nella maggior parte dei casi, l'MTC appare all'ecografia come un nodulo solido e ipoecogeno. Tuttavia, non sempre l'MTC presenta caratteristiche ecografiche sospette. Molto spesso, l'MTC non presenta margini irregolari, che sono presenti solo in percentuali variabili tra il 30-60%. Spesso mancano anche le microcalcificazioni o gli spots iperecogeni, presenti nel 20-45% dei casi; la morfologia "*taller-than-wide*" è riportata solo nel 10% circa dei casi. Applicando le moderne classificazioni di rischio ecografico, circa il 50% degli MTC potrebbe non essere classificato come a rischio elevato. (Matrone et al., 2021). Fondamentale risulta inoltre essere l'analisi ecografica dei linfonodi cervicali per una corretta stadiazione della patologia. (Wells et al., 2015b)

Nella figura 3 sono presenti 2 immagini ecografiche di MTC.

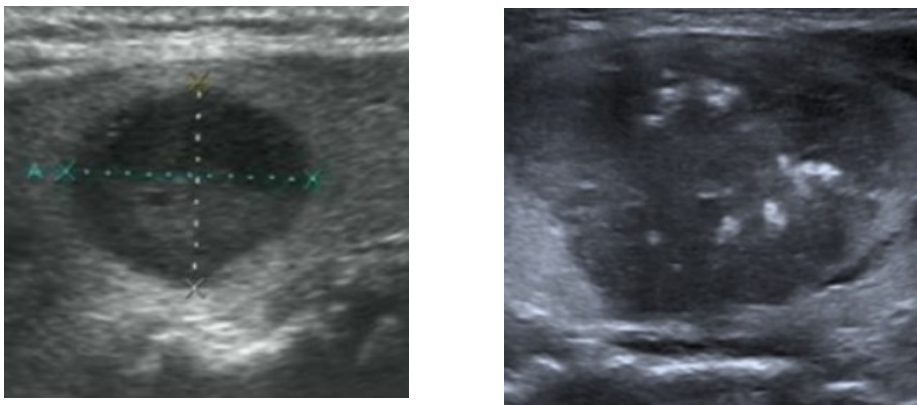


Figura 3. Immagini ecografiche di MTC

Citologico

La biopsia con aspirazione con ago sottile (FNA) dei noduli tiroidei è uno strumento diagnostico sicuro ed utile nel caso si riscontrino patologie nodulari tiroidee. Dovrebbe essere eseguita nei noduli tiroidei maggiori di 1 cm, in considerazione delle caratteristiche ecografiche e anche in nodi di dimensioni minori in presenza di caratteristiche ecografiche sospette.

In seguito viene eseguita la classificazione che si basa sui risultati citologici che vengono suddivisi in 5 categorie proposta nel 2007 dalla Società Italiana di Anatomia Patologica e Citologia insieme alla Divisione Italiana dell'Accademia Internazionale di Patologia (SIAPEC-IAP). Nel 2014, sulla base delle alterazioni architetturiche e citologiche e della componente di fondo, sono state distinte due sottoclassi a differente rischio di malignità

distinte: TIR 3A (lesione indeterminata a basso rischio, LRIL) e TIR3B (lesione indeterminata ad alto rischio, HRIL). (Nardi et al., 2014) Le caratteristiche dei risultati citologici e i relativi approcci terapeutici sono riassunte nella figura 4.

Table 1 2013 Italian thyroid cytology classification system

Code	Diagnostic category	Expected risk of malignancy (%)	Suggested actions
TIR1	Non-diagnostic	Not defined	Repeat US-guided FNA after at least 1 month
TIR1C	Non-diagnostic-cystic	Low (variable on the basis of clinical findings)	Evaluate the clinical setting and/or repeat FNA
TIR2	Non-malignant/benign	<3	Follow-up
TIR3A	Low-risk indeterminate lesion (LRIL)	<10 ^a	Repeat FNA/ clinical follow-up
TIR3B	High-risk indeterminate lesion (HRIL)	15–30 ^a	Surgery
TIR4	Suspicious of malignancy	60–80	Surgery (consider frozen section)
TIR5	Malignant	>95	Surgery

^a Expected rate of malignancy for the TIR3 subcategories is mainly found on clinical experience and is only partially based on the evidence of the published data

Figura 4(Nardi et al., 2014)

L'MTC presenta un aspetto citologico variabile e i criteri citologici più importanti sono un *pattern* cellulare disperso di cellule poligonali o triangolari, granuli citoplasmatici azzurofilo e nuclei disposti eccentricamente con cromatina granulare grossolana e amiloide. Nonostante l'aspetto caratteristico, solo nel 50% dei casi si ha una citologia conclusiva, questa evidenza la necessità di sviluppare strumenti diagnostici aggiuntivi per promuovere una diagnosi precoce ed evitare i falsi negativi (Trimboli P, 2015).

La diagnosi di MTC può essere verificata con l'immunolocalizzazione di CT, cromogranina o CEA, confermando l'assenza di colorazione della tireoglobulina e, soprattutto, rilevando livelli elevati di CT nel siero del paziente. Per questo motivo quando l'analisi citologica non è conclusiva o mostra caratteristiche suggestive di MTC, i livelli di CT devono essere misurati nel liquido di lavaggio dell'FNA e il campione deve essere valutato mediante colorazione IHC per determinare la presenza di marcatori come CT,

cromogranina e CEA e l'assenza di tireoglobulina.

L'FNA-CT ha dimostrato una notevole sensibilità e una performance diagnostica apparentemente migliore rispetto all'FNA citologico. Il principale punto a favore dell'FNA-CT è la possibilità di utilizzo in qualsiasi laboratorio. Nonostante i test convenzionali per la calcitonina non siano stati specificamente progettati per questo scopo, non sono stati segnalati problemi significativi riguardanti la misurazione della CT nei campioni FNA nella letteratura disponibile. Tuttavia, la principale limitazione potenziale dell'FNA-CT potrebbe essere l'assenza di una soglia definita da seguire nella pratica clinica. In ogni caso i valori registrati di FNA-CT nelle lesioni MTC sono generalmente elevati, facilitando una diagnosi accurata.

Altri potenziali punti deboli dell'FNA-CT sono condivisi con alternative diagnostiche, come l'immunocitochimica per la calcitonina. In particolare, l'iperplasia delle cellule C potrebbe causare falsi positivi sia nell'FNA-CT che nell'immunocitochimica. Tuttavia, mentre l'immunocitochimica potrebbe non essere eseguibile su campioni FNA non ottimali, l'FNA-CT può essere valutata efficacemente in tali casi.

È fondamentale notare che è necessario un elevato valore di CT sierica prima dell'FNA per identificare i casi in cui l'FNA-CT potrebbe essere appropriata, anche se questa strategia clinica è oggetto di dibattito. Inoltre, la misurazione del valore di CT sierica fornisce informazioni cruciali per migliorare l'interpretazione morfologica dei campioni FNA. (Trimboli et al., 2022)

Altre indagini strumentali

Nel caso di sospetto processo di metastatizzazione è indicata l'esecuzione di una TC per ricercare la presenza di metastasi a livello linfonodale o polmonare. Per le metastasi a livello epatico i metodi più sensibili e specifici sono la tomografia computerizzata (TC) con mezzo di contrasto (MDC) e la risonanza magnetica nucleare (RMN) con MDC. L'RMN assiale e la scintigrafia ossea possono essere indagini complementari per ricercare metastasi ossee. La tomografia a emissione di positroni con 2-[18F]-fluoro-2-deossi-D-glucosio (FDG) (FDG-PET/CT) e la 18F-diidrossifenilalanina F-DOPA-PET/CT sono meno sensibili nel rilevare le metastasi, rispetto ad altre procedure di imaging. Purtroppo, nessuna singola procedura fornisce un

imaging ottimale di tutto il corpo.(Wells et al., 2015b)

Genetica

L'1%-7% dei pazienti con presunta MTC sporadica ha in realtà una malattia ereditaria. I pazienti con MTC sporadico dovrebbero sottoporsi a consulenza genetica e all'analisi diretta del DNA per individuare un eventuale allele *RET* mutato. I pazienti che dovessero presentare una conferma di una mutazione di *RET* germinale devono essere valutati e ai loro parenti di primo grado devono essere offerti consulenza genetica e test genetici. Nel 5%-9% dei pazienti affetti da MEN2A e nella grande maggioranza dei pazienti affetti da MEN2B, la mutazione di *RET* insorge de novo e quasi sempre dall'allele paterno. Attualmente non vi è alcuna indicazione per la valutazione dei tumori tiroidei di pazienti con MTC.(Wells et al., 2015b)

Bioumorale

Calcitonina

Dato che la tempestività diagnostica ha un impatto significativo sull'*outcome* del MTC e considerando la limitata capacità dell'ecografia nel rilevare in modo affidabile l'MTC, assume un'importanza ancora maggiore la diagnosi biochimica. Tuttavia, rimane oggetto di dibattito lo *screening* della CT nei pazienti con noduli tiroidei. La CT è un ormone polipeptidico secreto dalle cellule C della tiroide e risulta essere un *marker* tumorale molto sensibile in pazienti che presentano noduli tiroidei poiché idealmente tutti i tumori midollari la producono, anche se sono stati descritti rari tumori midollari non CT-secerenti. La CT è composta da 32 amminoacidi e deriva dalla pro-calcitonina, un pro-ormone di 116 amminoacidi. La loro produzione dipende dall'espressione del gene *Calc-1* presente a livello del cromosoma 11 con l'espressione di 6 esoni attraverso lo splicing e codifica tessuto-specifica. La comunità scientifica presenta opinioni differenti in relazione alla misurazione routinaria della CT in pazienti con noduli tiroidei e le linee guida dell'Associazione Medici Endocrinologi consigliano la valutazione di quest'ultima solo in pazienti in cui un elevato livello di CT potrebbe modificare la diagnosi o l'approccio chirurgico alla patologia. (Censi et al., 2023)

Anche la *European Thyroid Association* (ETA) e la *American Thyroid Association* (ATA) raccomandano la misurazione della calcitonina in presenza di noduli tiroidei solo in casi selezionati. Tutto ciò per evitare una sovra-diagnosi causata dalla specificità contenuta di questo marcatore, un falso positivo potrebbe infatti portare il paziente a procedure e terapie inutili e potenzialmente dannose. In uno studio Cochrane del 2020, nei vari studi analizzati sono stati inclusi 72.638 individui affetti da noduli tiroidei, di cui 187 risultavano positivi al carcinoma midollare della tiroide (valore predittivo positivo del 7,7% con CT>10 pg/ml). I risultati suggeriscono che sia il test della calcitonina basale che quello stimolato sono efficaci nel rilevare la maggior parte dei casi di carcinoma midollare della tiroide. Tuttavia, dato che questa forma di cancro è estremamente rara tra coloro che presentano noduli tiroidei, c'è un'alta probabilità di ottenere risultati falsi positivi nei livelli di calcitonina.

Questo potrebbe portare a interventi chirurgici non necessari sulla tiroide, il che comporta l'obbligo di assumere ormone tiroideo per tutta la vita e il rischio di complicazioni.(Verbeek et al., 2020)

Per questo le associazioni sopracitate non si espongono né a favore né contro lo *screening* della calcitonina in tutti i noduli tiroidei. In particolare la ETA consiglia la valutazione della calcitonina nei seguenti contesti: pazienti con noduli tiroidei che stanno per essere sottoposti a intervento chirurgico o terapia mini-invasiva; noduli tiroidei con risultati citologici indeterminati o caratteristiche ecografiche sospette. Inoltre, la determinazione della calcitonina dovrebbe essere considerata in presenza di una storia personale o familiare di carcinoma midollare della tiroide o di neoplasia endocrina multipla di tipo 2.(Durante et al., 2023; Haugen et al., 2016)

Certamente livelli di CT al di sopra di 100 pg/mL rendono la diagnosi di MTC molto probabile ma livelli intermedi di questo marcatore possono portare a dubbi diagnostici. La CT infatti, nonostante sia un marcatore molto sensibile presenta una serie di problematiche pre-analitiche, analitiche e post-analitiche. (Censi et al., 2023)

Problematiche pre-analitiche

Dal punto di vista pre-analitico esistono numerose condizioni che possono alterare i livelli di CT come il sesso maschile, il fumo di sigaretta, farmaci

quali glucocorticoidi, inibitori di pompa protonica (PPI), beta-bloccanti e glucagone, ingestione acuta di alcol, ipercalcemia, tumori neuroendocrini, insufficienza renale cronica e ipergastrinemia. Esistono inoltre dati discordanti sulle tiroiditi autoimmuni e i tumori tiroidei di origine follicolare.

Problematiche analitiche

Dal punto di vista analitico esistono problematiche correlate alla pulsatilità di rilascio di questo ormone correlata anche con l'assunzione di cibo e l'emivita di soli 15-40 minuti. La CT inoltre non è stabile a temperatura ambiente e viene rapidamente degradata dalle proteasi. In aggiunta, nonostante l'utilizzo di nuovi sistemi di dosaggio quali il *chemiluminescent immunoassay* (CLIA) e le piattaforme immunoradiometriche, la quantificazione risulta ancora essere compromessa da interferenze da parte di anticorpi eterofili e dal fenomeno della macro-CT. Inoltre molti kits commerciali non presentano metodi standardizzati per il dosaggio della CT.

Problematiche post-analitiche

Dal punto di vista post-analitico risulta essere complesso stabilire *cut-off* universalmente riconosciuti per distinguere un'elevazione di CT causata da un MTC da un'elevazione dovuta ad altre condizioni quali per esempio farmaci, ipergastrinemia acuta, abuso d'alcol, fumo di sigaretta, altri tumori neuroendocrini...Un modo per aumentare quindi la specificità della CT nei confronti dell'MTC è eseguire un test di stimolazione di conferma con calcio gluconato (vedi paragrafo posto in seguito: "*test al calcio gluconato*") attuabile solo in centri di terzo livello che comunque non hanno *cut-off* universalmente riconosciuti. (Censi et al., 2023)

Valori di riferimento della calcitonina

Quando si riscontra ipercalcitoninemia, è fondamentale inizialmente escludere cause secondarie e possibili interferenze di laboratorio. Inoltre, i livelli basali di CT forniscono importanti indicazioni sul livello di sospetto di un MTC: valori di calcitonina superiori a 100 pg/ml sono fortemente indicativi di un MTC, mentre valori moderatamente elevati presentano un valore predittivo positivo basso e richiedono ulteriori valutazioni, tramite un

test di stimolazione con calcio gluconato o la misura della CT da eluato del nodo tiroideo. (John B. Hazard, 1959)

Per quanto riguarda il test al calcio gluconato, un recente studio multicentrico condotto in Italia ha valutato l'accuratezza della CT basale e stimolata in 135 pazienti con noduli tiroidei e diagnosi istologica confermata, di cui 47 MTC sporadici. Il miglior valore di soglia per la CT basale è stato identificato come superiore a 30 pg/ml nelle donne (sensibilità: 75.9%, specificità: 93.7%) e superiore a 34 pg/ml negli uomini (sensibilità: 88.9%, specificità: 95%). Lo studio ha anche analizzato la performance della CT stimolata con calcio gluconato, individuando un valore di soglia superiore a 79 pg/ml nelle donne (sensibilità: 100%, specificità: 50%) e superiore a 466 pg/ml negli uomini (sensibilità: 94.4%, specificità: 80%). In generale, tutti i pazienti con MTC e CT basale sopra la soglia identificata hanno mostrato una CT stimolata sopra la soglia, dimostrando così l'alta accuratezza della CT basale. Tuttavia, alcuni MTC potrebbero non essere stati individuati senza lo stimolo, poiché i pazienti con CT basale al di sotto delle soglie identificate erano tutti in stadio T1N0, con MTC intra-tiroidei di piccole dimensioni. Combinando la misurazione della CT basale con quella stimolata, tutti i MTC sono stati correttamente identificati sia tra le donne che tra gli uomini. Tuttavia, i dati presenti in letteratura riguardanti i valori di soglia per la CT basale e stimolata non sono uniformi, probabilmente a causa dell'eterogeneità nelle caratteristiche delle popolazioni studiate, in particolare per quanto riguarda la prevalenza di MTC.(Fugazzola et al., 2021).

Nella figura 5 sono riassunti i passaggi per l'interpretazione e il *follow-up* dell'ipercalcitonemia moderata.

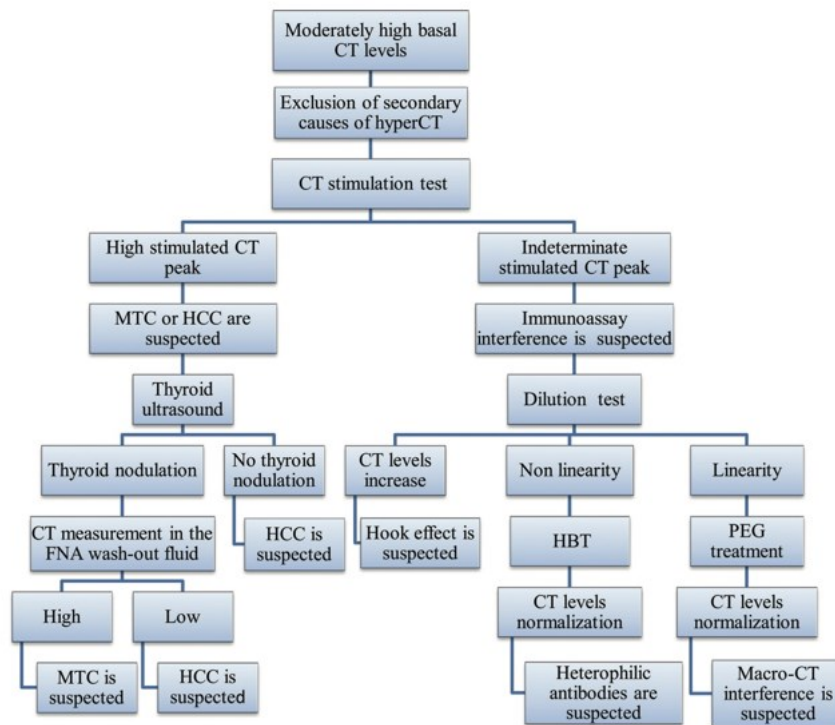


Figure 4. Algoritmo che integra gli esami clinici, laboratoristici e radiologici per l'interpretazione e il *follow-up* dell'ipercalcitoninemia moderata. FNA=fine-needle aspiration, HBT=anticorpi eterofili bloccanti, HCC=iperplasia a cellule C, hyperCt= ipercalcitoninemia, macroCt=macrocalcitonina, MTC= medullary thyroid carcinoma, PEG=glicole polietilenico.

Figura 5. Algoritmo per l'interpretazione dell'ipercalcitoninemia moderata.

Test al calcio gluconato

Un'elevata concentrazione di calcio stimola la secrezione di CT da parte delle cellule parafollicolari della tiroide grazie alla presenza sulle cellule C parafollicolari di recettori transmembrana simili ai recettori metabotropici del glutammato. Questo recettore riconosce il Ca^{2+} e altri cationi polivalenti ed è accoppiato da cambiamenti nel turnover dei fosfoinositidi che portano al rilascio di Ca^{2+} dai depositi intracellulari per questo fa parte della famiglia dei CaSR (*calcium sensing receptors*). (Freichelt et al., 1996). Su questo principio si basa il test del calcio gluconato che consiste nell'iniezione di calcio endovena, il quale porta ad un aumento della produzione del rilascio di CT maggiore in presenza di MTC.

Il test con calcio gluconato richiede un rigoroso protocollo di esecuzione, considerando le possibili variazioni rapide dei livelli di calcemia che potrebbero causare effetti pro-aritmici sul cuore. È essenziale condurre un'accurata anamnesi del paziente per escludere patologie cardiache e assunzione di digitalici. Prima del test, è inoltre consigliabile eseguire un

ECG per escludere condizioni che potrebbero controindicare il test, come le alterazioni del QTc, una frequenza cardiaca inferiore a 40 bpm o superiore a 110 bpm e/o la presenza di un blocco atrioventricolare di II o III grado. Inoltre, è consigliabile dosare i livelli di calcio ionizzato (Ca), fosfato (P), magnesio (Mg) e potassio (K) per escludere eventuali disionie, poiché un'elevata concentrazione di fosfato può causare la precipitazione di calcio e fosfato, mentre calcio e magnesio agiscono come antagonisti nel mantenimento del tono vascolare, e il calcio può influenzare il potassio con conseguenze sul ritmo cardiaco.

La dose raccomandata di calcio gluconato è di 25 mg/kg, e la quantità di calcio da somministrare deve essere calcolata sul peso corporeo aggiustato per evitare sovradosaggi nei pazienti obesi. Durante l'infusione, che deve essere eseguita alla velocità di 5 ml/min per almeno 3 minuti, è necessario prelevare campioni di sangue al basale e poi a +2, +5 e +10 minuti, immediatamente mettendo le provette nel ghiaccio per prevenire la degradazione della calcitonina da parte delle proteasi plasmatiche a temperatura ambiente. Durante il test, i pazienti devono essere monitorati con un ECG. È importante notare che il test è generalmente sicuro, con il più comune effetto collaterale rappresentato dalla sensazione di calore (57% dei casi), mentre l'alterazione del ritmo cardiaco più frequentemente registrata è una bradicardia sinusale transitoria. Data la sua natura investigativa, il test è spesso disponibile solo presso centri di terzo livello o strutture attrezzate con personale esperto nella sua esecuzione.(Fugazzola et al., 2021)

Altri markers

Per i motivi sopracitati si rendono necessari studi su nuovi *markers* di malattia, più specifici. Il CEA risulta non essere abbastanza sensibile e specifico per essere utilizzato di routine, nonostante sue elevazioni abbiano utilità prognostica pre-operatoria in alcuni casi. Esso potrebbe essere utile insieme alla CT come *marker* addizionale per un migliore il *follow-up* post-operatorio in quanto sono stati descritte recidive con CT bassa e CEA in rialzo, in genere meno differenziate.

La cromogranina A è un *marker* caratteristico di tutti i tumori neuroendocrini ma non si è rivelato essere abbastanza sensibile e specifico per soppiantare la

CT nel suo ruolo di *marker* più utilizzato.

L'enolasi neuro-specifica (NSE) è una proteina citosolica che presenta una sensibilità e specificità fino al 70% e al 85% nel rilevare tumori neuroendocrini. Tuttavia non esistono abbastanza studi sul tumore midollare per riportarne la relativa sensibilità e specificità.

Pro-calcitonina

Un marcatore che potrebbe essere promettente dal punto di vista della diagnosi del MTC è il precursore della CT a cui si è precedentemente accennato. Esso viene utilizzato ad oggi come *marker* per stati settici batterici e per il *follow-up* di risposta agli antibiotici poiché viene prodotto a livello extratiroideo dai leucociti in risposta a endotossine e citochine infiammatorie. La procalcitonina (proCT) potrebbe essere un buon *marker* di diagnosi, esso infatti risulta avere un'emivita di 20-24h, indipendente dalla sua concentrazione e presenta stabilità a temperatura ambiente. Inoltre i *kits* commerciali della proCT risultano essere più confrontabili in quanto prodotti da una singola compagnia e si è dimostrato *cut-off* possono essere redatti e condivisi a livello internazionale. La proCT in aggiunta non è alterata da farmaci e altre condizioni fisiologiche e patologiche. Potrebbe essere, inoltre, un buon marcatore prognostico in quanto correlato a grandezza del tumore, coinvolgimento linfonodale, estensione e presenza di metastasi a distanza. In recenti metanalisi è stata attestata una sensibilità del 90% e una specificità del 100% considerando un intervallo compreso tra 0,06 e 0,5 ng/ml. Tuttavia bisogna considerare che sono stati eseguiti in pazienti in cui era già stato misurato il livello di CT che presenta una sensibilità molto elevata e che nel caso di negatività aveva portato ad una sospensione del processo diagnostico alla ricerca del carcinoma midollare. Inoltre ad oggi non sono presenti dei *cut-off* universalmente riconosciuti se non quelli elaborati per gli stati settici, che in contesto di neoplasia potrebbero non essere ottimali. (Censi et al., 2023). In uno studio del 2021 si è stabilito un *cut-off* della proCT basale di 0.07 ng/ml con sensibilità, specificità, VPP (valore predittivo positivo) e VPN (valore predittivo negativo) rispettivamente del 85,7%, 98,9%, 98,2% e 90,6% mentre per la proCT stimolata al di sopra dei 0,19 ng/ml con sensibilità,

specificità, VPP e VPN di 90%, 100%, 100% e 86,7%.(Censi et al., 2021). Tuttavia, esistono ancora alcuni problemi correlati alla specificità e alla sensibilità in quanto non è stato ancora stabilito un *cut-off* che permetta di avere contemporaneamente specificità e sensibilità soddisfacenti. Inoltre sembra non essere sensibile nell'identificare i micro carcinomi midollari (il 65,2% se ≤ 10 mm). (Censi et al., 2023).

È importante notare che la proCT non mostra differenze significative tra maschi e femmine ed è generalmente indosabile negli individui sani. Tuttavia, la proCT, oltre ad aumentare in condizioni di sepsi batterica, può aumentare anche in caso di infiammazioni, infezioni, malattie immunitarie, traumi, colpi di calore, chirurgia e shock cardiogeno. In tutte le condizioni precedentemente citate la calcitonina non aumenta o aumenta solo di poco. Per questo motivo la proCT potrà probabilmente essere utilizzata solo come marcatore complementare e non a sostituzione della CT, per aumentarne la specificità.(Censi et al., 2021)

Stadiazione

Fondamentale per la prognosi di sopravvivenza malattia-specifica del paziente risulta essere la stadiazione post-operatoria del tumore. La classificazione degli stadii TNM utilizzata per la stadiazione dell'MTC, si riferisce all'estensione anatomica del tumore, utilizzando gli attributi "tumore" (T), "linfonodo" (N) e "metastasi" (M). In questa classificazione "T" descrive l'estensione del tumore primario (T), "N" si riferisce all'assenza o alla presenza di coinvolgimento linfonodale e all'estensione dei linfonodi regionali [LN], e "M" indica la presenza o l'assenza di metastasi a distanza.(Huang & O'Sullivan, 2017).

Nella tabella I sono riassunti i criteri per la stadiazione del MTC.

Stadiazione TNM dell'American Joint Committee on Cancer (AJCC), ottava edizione (American Joint Committee on Cancer., 2017)

T-tumore primitivo

Tx	Tumore non valutabile
T0	Nessuna evidenza di tumore
T1	Tumore ≤ 2 cm limitato alla tiroide
T1a	Tumore ≤ 1 cm

T1b	Tumore >1 cm ma ≤2 cm
T2	Tumore ≥2 cm e ≤4 cm, limitato alla tiroide
T3	Tumore ≥ 4 cm o con estensione extratiroidea
T3a	Tumore ≥ 4 cm come dimensione maggiore, limitato alla tiroide
T3b	Tumore di qualsiasi dimensione con estensione extratiroidea macroscopica a carico dei muscoli sottoioidei (sternoioideo, sternotiroideo, tiroioideo o omoioideo) o dei tessuti molli peritiroidei
T4	Malattia avanzata
T4a	Malattia moderatamente avanzata: tumore di ogni dimensione con estensione extratiroidea macroscopica nei tessuti circostanti del collo, includendo i tessuti molli sottocutanei, laringe, trachea, esofago o nervo laringeo ricorrente
T4b	Malattia molto avanzata: tumore di ogni dimensione esteso verso il rachide o dentro/vicino ai grossi vasi, tumore che invade la fascia prevertebrale, i vasi mediastinici o ingloba la carotide

N- Linfonodi (LN) regionali

NX	LN regionali non valutabili
N0	Assenza di metastasi ai LN regionali
N0a	Uno o più LN benigni confermati citologicamente o istologicamente
N0b	Non evidenza clinica e radiologica di metastasi ai LN locoregionali
N1	Metastasi ai LN regionali
N1a	Metastasi ai LN del VI o VII livello (mediastino superiore), omolaterali o bilaterali
N1b	Metastasi ai LN del collo omolaterale, bilaterale o controlaterale (Livelli I, II, III, IV o V) o LN retrofaringei

M- Metastasi a distanza

M0	Assenza di metastasi a distanza
-----------	---------------------------------

M1	Presenza di metastasi a distanza
-----------	----------------------------------

Stadio

Stadio I	T1 a, b	N0	M0
Stadio II	T2, T3	N0	M0
Stadio III	T1, T2, T3	N1a	M0
Stadio IVa	T1, T2, T3 T4a	N1b Qualsiasi N	M0
Stadio IVb	T4b	Qualsiasi N	M0
Stadio IVc	Qualsiasi T	Qualsiasi N	M1

Tabella I

La valutazione quantitativa delle metastasi linfonodali, da 1 a 10 (N1), da 11 a 20 (N2) e più di 20 (N3), è un importante classificatore prognostico che dovrebbe essere incorporato nei sistemi di stadiazione AJCC, che attualmente includono le categorie N1a e N1b le quali si riferiscono solo al coinvolgimento qualitativo dei compartimenti linfonodali (MacHens & Dralle, 2013)

Terapia chirurgica

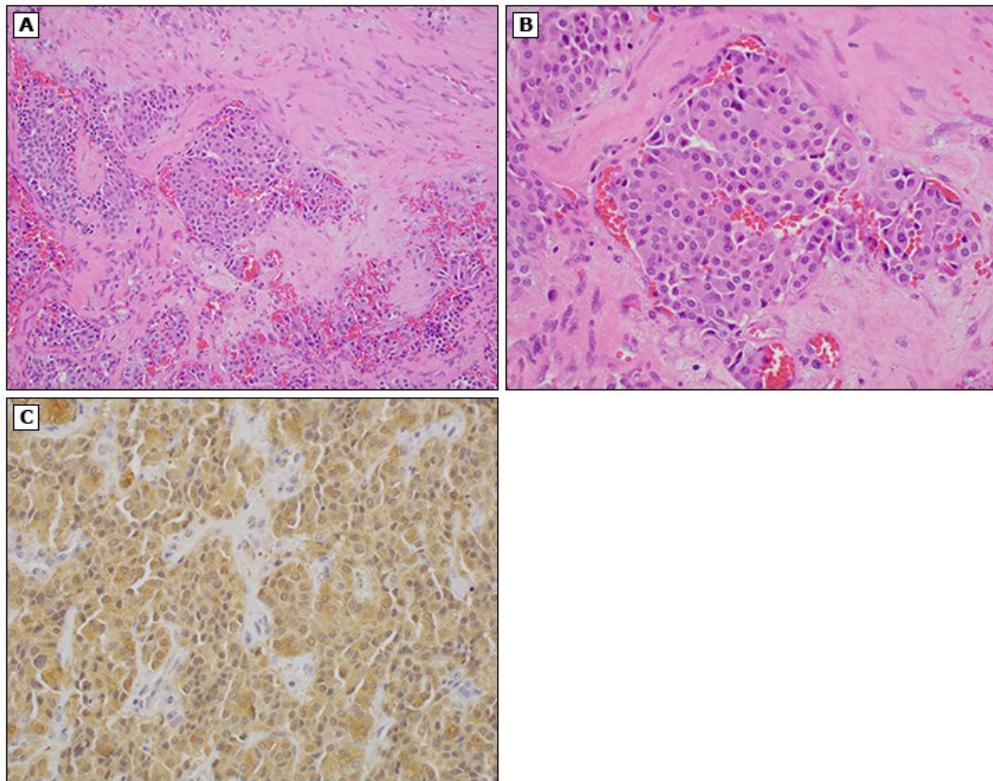
Il MTC viene trattato con la tiroidectomia totale e una dissezione linfonodale centrale, chirurgie più estese si riservano invece qualora si abbia presenza di segni di diffusione extratiroidea. (Censi et al., 2023). Nell'MTC la dissezione linfonodale laterale del collo è ancora oggetto di controversie. Secondo le linee guida della *Society of Surgical Oncology*, la dissezione del collo omolaterale è consigliata solo nei casi di MTC sporadici con linfonodi laterali del collo palpabili o nei pazienti con coinvolgimento del compartimento centrale del collo. Secondo le linee guida del *National Comprehensive Cancer Network*, la dissezione radicale omolaterale del collo è consigliata solo in caso di MTC sporadico di dimensioni superiori a 1 cm. La necessità di una dissezione controlaterale deve essere considerata nei pazienti con malattia tiroidea bilaterale; per i pazienti con un MTC sporadico di dimensioni inferiori a 1 cm, è raccomandata esclusivamente la dissezione centrale del collo. Secondo le linee guida tedesche, la dissezione bilaterale di *routine* del collo è consigliata

per l'MTC ereditario, mentre la dissezione omolaterale del collo è preferibile per le forme sporadiche, con dissezione controlaterale contemplata solo in presenza di coinvolgimento dei linfonodi omolaterali. Altri chirurghi suggeriscono la dissezione bilaterale di *routine* del collo, persino nelle forme sporadiche, soprattutto nei casi di tumori palpabili unilaterali.(Scollo et al., 2003).

In uno studio del 2010 si utilizza un approccio chirurgico basato anche sui livelli di CT basale che prevederebbe la tiroidectomia totale (TT) accompagnata dalla dissezione sistematica dei linfonodi centrali e laterali su entrambi i lati del collo, a meno che i livelli di CT basale non siano pari o inferiori a 200 pg/ml. In tal caso, potrebbe essere considerato il risparmio del compartimento linfonodale laterale del collo controlaterale. Per i tumori ricorrenti, potrebbe essere adeguato un approccio mirato ai singoli depositi tumorali, evitando la necessità di una dissezione linfonodale estesa in un collo già cicatrizzato. La valutazione del rapporto costo-efficacia di questo concetto dipende dalla disponibilità e dall'accesso dei pazienti a chirurghi dotati delle competenze specifiche necessarie per rimuovere tutti i linfonodi del collo con la minima morbidità chirurgica possibile. Ulteriori studi sono necessari per confermare la fattibilità di questo approccio, basato su biomarcatori e stratificato in base al rischio, per un tumore caratterizzato da un elevato carico di malattia e dalla mancanza di opzioni terapeutiche efficaci diverse dalla chirurgia.(Machens & Dralle, 2010)

Nella figura 6 sono presenti alcune immagini istologiche di MTC ricavate in seguito alla rimozione chirurgica della tiroide.

Medullary thyroid cancer: Findings on surgical histology



- (A) H&E low power: Medullary thyroid carcinoma with the typical solid nested architecture.
- (B) H&E high power: Medullary thyroid carcinoma with the typical solid nested architecture. The tumor cells have neuroendocrine type nuclei and can be plasmacytoid (center of the nest).
- (C) Calcitonin immunostain: In almost all cases, the tumor is diffusely positive for calcitonin.

H&E: hematoxylin and eosin stain.

Courtesy of Ronald A Ghossein, MD.

UpToDate®

Figura 6. Immagini istologiche di MTC

Altre terapie

Nel caso di tumori avanzati o irresecabili è possibile l'utilizzo degli MKI (*multikinase inhibitors*) e dei *RETinhibitors*. Questi ultimi sembrano essere più tollerati dai pazienti e più efficaci negli studi attualmente in corso. (Censi et al., 2023)

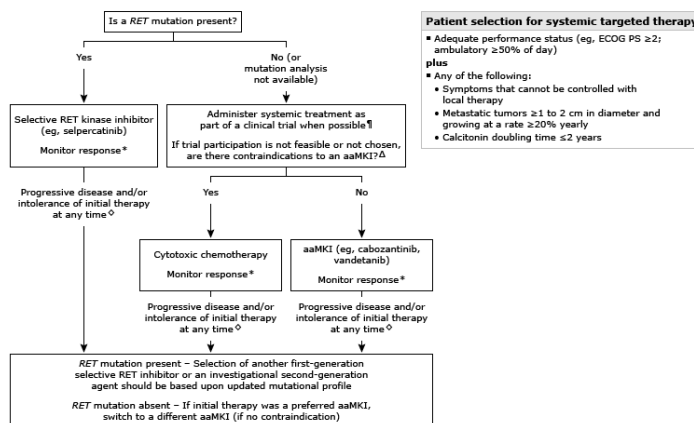
In genere, l'indicazione per una terapia attiva, che sia loco-regionale o sistemica, si applica ai pazienti con malattia metastatica sintomatica, in presenza di lesioni adiacenti a strutture vitali, o quando si osserva una massa

tumorale estremamente estesa o una progressione della malattia secondo i criteri *Response Evaluation Criteria in Solid Tumors* (RECIST). (Eisenhauer et al., 2009)

Diversi agenti inibitori di VEGFR2 e RET hanno dimostrato elevati tassi di risposta in studi di fase 2 su pazienti con MTC metastatico. Vandetanib e Cabozantinib sono stati sottoposti a studi di fase 3 su larga scala, con l'obiettivo principale di dimostrare un prolungamento della sopravvivenza libera da progressione (PFS) rispetto al placebo. (Hadoux & Schlumberger, 2017). La loro attività anti-tumorale si basa principalmente sull'inibizione multichinasica di fattori angiogenetici chiave, primo tra tutti il *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor Type 2* (VEGFR2). Selpercatinib e Pralsetinib, inibitori selettivi di *RET*, si sono affermati negli ultimi anni poiché hanno ottenuto ottimi risultati in quanto a efficacia e sicurezza nei trial di fase 3. (Hadoux et al., 2023).

Nella figura 7 sono riassunti i passaggi per l'utilizzo della terapia target sulla malattia sistemica.

Systemic targeted therapy for metastatic or advanced medullary thyroid cancer



This algorithm is intended for use with additional UpToDate content on medullary thyroid cancer.

aaMKI: anti-angiogenic multitargeted kinase inhibitor; ECOG PS: Eastern Cooperative Oncology Group performance status.

* Follow calcitonin and carcinoembryonic antigen levels every 3 to 6 months. Imaging of metastatic sites at intervals based on clinical factors (eg, calcitonin doubling time, location of lesions, overall burden of disease).

¶ Clinical trial options are often dictated by the presence of specific gene mutations or signaling pathway abnormalities that are the targets of approved or investigational therapies.

Δ Contraindications to aaMKIs may include:

- Major surgery within 28 days
- Active bleeding
- Untreated hemorrhagic brain metastases
- Encasement by tumor of major arteries such as the carotid
- Arterial thromboembolic event within the last 6 to 12 months

We also try to minimize use of potent aaMKIs in patients with prior external beam radiotherapy to the neck due to reports of tracheoesophageal fistulas.

◊ Biopsy of the growing resistant tumor to identify the mechanism of resistance or to identify the emergence of a targetable mutation may be useful for determining eligibility for a clinical trial or a different therapy.

Follow-up

Per la diagnosi di recidiva del tumore nei pazienti con MTC, la determinazione della CT postoperatoria è di importanza centrale. I valori di CT nell'intervallo di normalità sono considerati come prova della completa estirpazione del tumore, detta anche guarigione biochimica. È importante valutare i pazienti nel periodo post-operatorio per stabilire se l'intervento è risultato essere curativo o meno. In uno studio su 124 pazienti sottoposti a tiroidectomia totale per tumori diversi dall'MTC, 121 (97%) non presentavano CT sieriche rilevabili con l'ICMA. In quelli con livelli di CT rilevabili, c'erano o tessuto tiroideo residuo o secrezione ectopica di CT da parte di una patologia maligna non tiroidea. (Engelbach et al., 2000)

REVISED ATA MANAGEMENT GUIDELINES FOR MTC

589

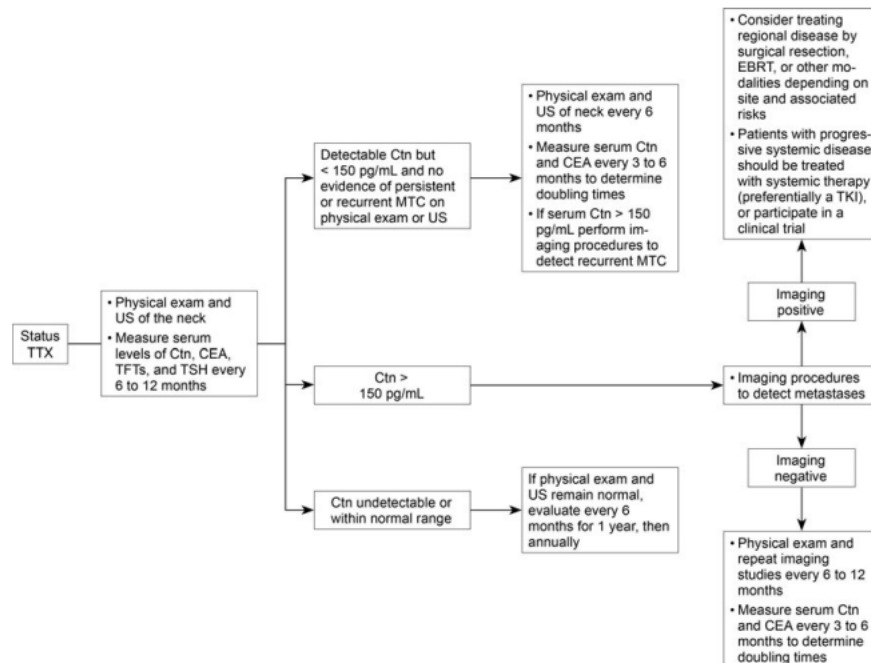


FIG. 3. Management of patients following thyroidectomy for persistent or recurrent medullary thyroid carcinoma. Ctn, calcitonin; CEA, carcinoembryonic antigen; EBRT, external beam radiotherapy; MTC, medullary thyroid carcinoma; TFTs, thyroid function tests; TSH, thyrotropin; TKI, tyrosine kinase inhibitor; TTX, total thyroidectomy; US, ultrasound.

Figura 8. Gestione dei pazienti con recidiva di MTC

È importante valutare i pazienti nel periodo postoperatorio per determinare se la tiroidectomia è stata curativa (vedi figura 8). La CT negativa in pazienti sottoposti a tiroidectomia totale indica infatti una rimozione completa della tiroide. In pazienti con una positività alla CT nel periodo post-operatorio si deve invece sospettare la mancata rimozione di parte della tiroide o una recidiva di malattia.

La normalizzazione dei livelli sierici di CT dopo l'intervento è un importante indicatore di un esito favorevole. Tuttavia, c'è stata discussione riguardo al tempo necessario affinché il livello sierico di CT raggiunga il suo punto più basso (nadir) dopo l'intervento chirurgico. Alcuni studi suggeriscono che 3 mesi dopo l'intervento possa essere il momento ottimale per determinare il livello di CT nel siero. (Elisei R, 2012) . Altri studi propongono che la tiroidectomia sia curativa se il livello di CT sierico stimolato post-operatorio è inferiore a 10 pg/mL. Oltre i livelli di CT, è indicata anche la misurazione del CEA. Questi due marcatori andrebbero misurati a 3 mesi dall'intervento e nel caso in cui essi risultassero indosabili o dentro i limiti di norma del laboratorio di riferimento andrebbero valutati ogni 6 mesi per un anno e quindi annualmente.(Wells et al., 2015a)

Ulteriori studi hanno dimostrato che i pazienti con calcitonina indosabile hanno un esito migliore della malattia rispetto a coloro con livelli di calcitonina dosabile ma all'interno dei limiti del range di laboratorio. Poiché manca un sistema per valutare il rischio di recidiva e persistenza, è stato proposto un approccio di stratificazione del rischio per il carcinoma midollare della tiroide (MTC) basato sulla risposta alla terapia iniziale, simile a quello utilizzato per il carcinoma differenziato. Questo sistema di classificazione del rischio permette una stima della mortalità correlata alla malattia, oltre a valutare il rischio di recidiva o persistenza della malattia.

In base ai livelli di calcitonina e CEA misurati entro il primo anno dalla chirurgia, insieme ai risultati radiologici, i pazienti possono essere suddivisi nelle seguenti categorie:

- Risposta eccellente (ER): con calcitonina indosabile, CEA nei limiti della norma e assenza di evidenza strutturale di malattia;
- Risposta biochimica incompleta (BiR): con calcitonina dosabile o CEA al di sopra del range normale, ma senza evidenza strutturale di malattia;

- Risposta strutturale incompleta (SiR): con evidenza strutturale di malattia, indipendentemente dai livelli di calcitonina e CEA. (figura 9)

TABLE 1. PROPOSED RESPONSE TO THERAPY DEFINITIONS FOR MEDULLARY THYROID CARCINOMA

	Best response to initial therapy	Definition	Risk of structural recurrence*	Disease-specific death
ER	Excellent	Undetectable calcitonin and normal CEA without structural evidence of disease	< 1–8.5%	< 3–5%
BiR	Biochemical incomplete	Detectable calcitonin or abnormal CEA in the absence of structural evidence of disease	—	0% at 10 years; 21% at 15 years
SiR	Structural incomplete	Persistent/recurrent structural disease regardless of calcitonin and CEA	—	20% at 5 years; 60% at 10 years; 75% at 20 years

Data from Tuttle and Ganly 2013 (1).

*Recurrence was defined as new evidence of disease after a period of no evidence of disease. Patients with an incomplete response are classified as having persistent disease and not "recurrence."

CEA, carcinoembryonic antigen.

Figura 9

Si stima che in caso di risposta eccellente il rischio di recidiva strutturale sia inferiore al 8.5%, mentre in caso di risposta BiR vari studi riportano un rischio più consistente, compreso tra il 25% e il 44%. È chiaro quindi che i livelli di calcitonina, in assenza di segni di persistenza della malattia strutturale, possono influenzare il rischio di recidiva e guidare il clinico nella pianificazione dei monitoraggi successivi. Nei casi di risposta BiR, i fattori di rischio associati a una maggiore probabilità di malattia strutturale durante il follow-up sono il sesso maschile, l'estensione extratiroidea minima, le dimensioni maggiori del tumore primario, il coinvolgimento linfonodale (N1a+N1b, non solo N1a), lo stadio IV, livelli più elevati di calcitonina e un tempo di raddoppio della calcitonina ≤ 24 mesi, questi ultimi tre considerati fattori di rischio indipendenti. (Lindsey SC, 2015) (Fanget et al., 2021; Prete et al., 2023).

Durante il *follow-up*, un aumento progressivo del livello sierico di CT a 150 pg/mL deve indurre a eseguire ulteriori esami di *imaging*. Le linee guida del 2015 consigliano come esami complementari: ecografia del collo, TC del torace, RM con contrasto o TC trifasica con contrasto del fegato, scintigrafia ossea e RM del bacino e dello scheletro assiale. (Wells et al., 2015a)

Se la diagnosi di MTC viene fatta dopo un'emitiroidectomia unilaterale, il lobo tiroideo rimanente deve essere asportato nei pazienti con MTC ereditario, perché la probabilità che l'MTC sia già presente o si sviluppi in futuro si avvicina al 100%. Nei pazienti con MTC sporadico l'incidenza di MTC bilaterale varia dallo 0% al 9% e ci sono pochi studi che valutano la gestione dei pazienti in questo contesto. (Wells et al., 2015a)

SCOPO DELLO STUDIO

Lo scopo dello studio è valutare il valore della pro-calcitonina combinata con la calcitonina nello *screening* del tumore midollare della tiroide nel nodulo tiroideo.

MATERIALI E METODI

Tipo di studio e metodo di reclutamento

Pazienti

Abbiamo condotto uno studio osservazionale retrospettivo su 491 pazienti sottoposti a tiroidectomia tra gennaio 2022 e marzo 2024 per patologia nodulare tiroidea. Il progetto è stato approvato dal Comitato Etico per la Sperimentazione Clinica (CESC) dell'Azienda Ospedaliera di Padova e condotto in conformità alle linee guida della dichiarazione di Helsinki e alle norme di Buona Pratica Clinica dell'Unione Europea. Il reclutamento si è tenuto presso la UOC di Endocrinocirurgia dell'Azienda Ospedaliera di Padova. L'arruolamento prevedeva il rispetto di specifici criteri di inclusione ed esclusione di seguito esposti:

I criteri di inclusione:

- i) la maggiore età;
- ii) una chirurgia tiroidea eseguita per patologia nodulare, benigna o maligna;
- iii) la capacità di esprimere un consenso informato.

Criteri di esclusione:

- i) incapacità di esprimere un consenso informato.

I dati clinici e laboratoristici sono stati raccolti tramite consultazione delle cartelle online. I dati di TNM sono stati valutati secondo l'ottava edizione della stadiazione dell'*American Joint Committee on Cancer* (2017) (5). I dati del citologico sono stati catalogati secondo una classificazione a 5 livelli, proposta nel 2007 dalla Società Italiana di Anatomia Patologica e Citologia insieme alla Divisione Italiana dell'Accademia Internazionale di Patologia (SIAPEC-IAP). Nel 2014, sulla base delle alterazioni architettone e citologiche e della componente di fondo, sono state distinte due sottoclassi a differente rischio di malignità distinte: TIR 3A e TIR3B(Nardi et al., 2014) Dai 491 pazienti iniziali si sono dovuti escludere 12 pazienti per incompletezza dei dati (vedi figura 10).

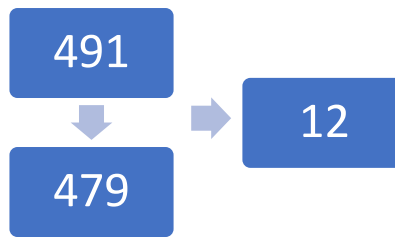


Figura 10

Laboratorio

La CT è stata dosata utilizzando un CLIA (test immunometrico chemiluminescente) a due siti LIAISON CT II-GEN (DiaSorin Inc., Stillwater, MN, USA), con una sensibilità analitica di 2 ng/L.

La proCT è stata dosata utilizzando un CLIA LIAISON BRAHMS PCT II GEN (DiaSorin, Saluggia, Italia), a due siti e due passaggi con una sensibilità analitica di 0,04 ng/ml.

Statistica

I dati sono stati raccolti in un database in Excel e sono stati elaborati attraverso software statistico (R package version 2.7-2). Innanzitutto, si è analizzata la normalità della distribuzione attraverso il test di Shapiro-Wilk e si è osservato che i valori di CT e proCT si distribuivano in modo non normale. Per tale motivo i valori di proCT e di CT sono stati espressi come valori mediani (con range interquartile, IQR). Il test del chi quadro è stato utilizzato per analizzare le associazioni tra la diagnosi di MTC e patologia non-MTC rispetto ai vari cut-off di CT e di proCT. L'analisi *Receiver Operating Characteristic* (ROC) è stata utilizzata per cercare il miglior *cut-off* per la diagnosi di MTC. È stato considerato statisticamente significativo un valore di $P < 0,05$.

RISULTATI

Pazienti

Il campione finale era composto da 478 soggetti: 384 (80,33%) donne e 94 (19,67%) uomini (grafico 1).

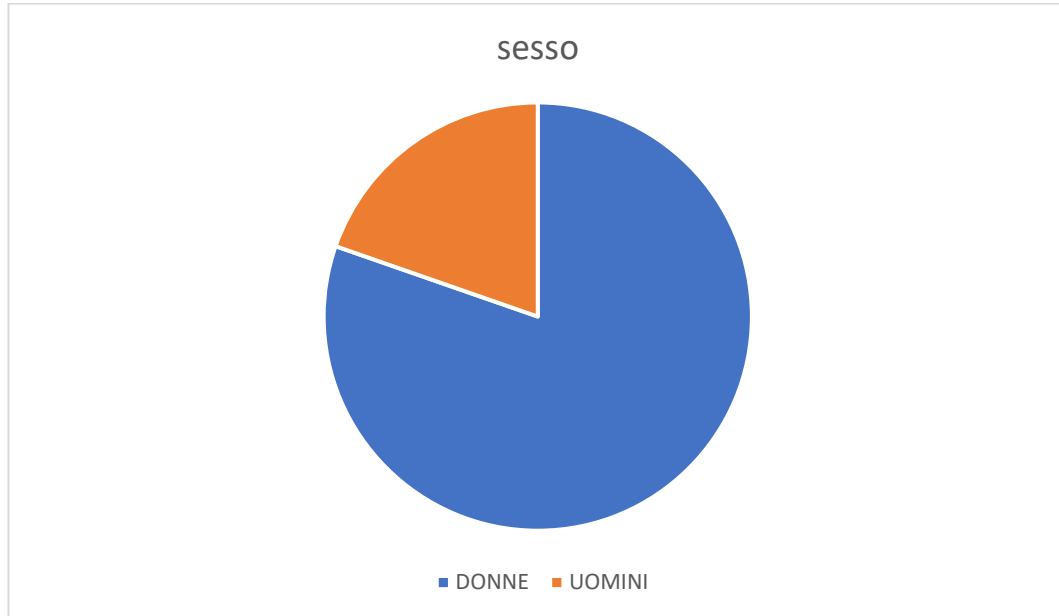


Grafico 1. Suddivisone dei pazienti dello studio divisi per sesso

L'età mediana era di 54,5 anni (range d'età 14-88 anni, range interquartile (IQR):21,75-63,75 anni). All'interno di questo campione sono state eseguite in totale 447 tiroidectomie totali (TT), 15 emitiroidectomie (ET), 1 tiroidectomia totale con paratiroidectomia e 15 totalizzazioni tiroidee di precedenti lobectomie. In quest'ultimo caso il citologico si riferiva al risultato di un agoaspirato effettuato sul parenchima tiroideo residuo.

Nel campione di pazienti su cui è stato eseguito l'agoaspirato pre-operatorio (394/478, 82,43%) si sono avuti i seguenti esiti: 11 TIR1 (2,79%), 79 TIR2 (20,50%), 67 TIR3A (17,01%), 100 TIR3B (25,38%), 51 TIR4 (12,94%) e 86 TIR5 (21,83%) (grafico 2). Il 28,66% dei casi (137/478 pazienti) aveva una FNA pre-operatoria compatibile con malignità (TIR4 o TIR5) mentre la restante parte (71,33%) ha avuto un risultato di patologia non-diagnostica benigna o indeterminata (341 pazienti).

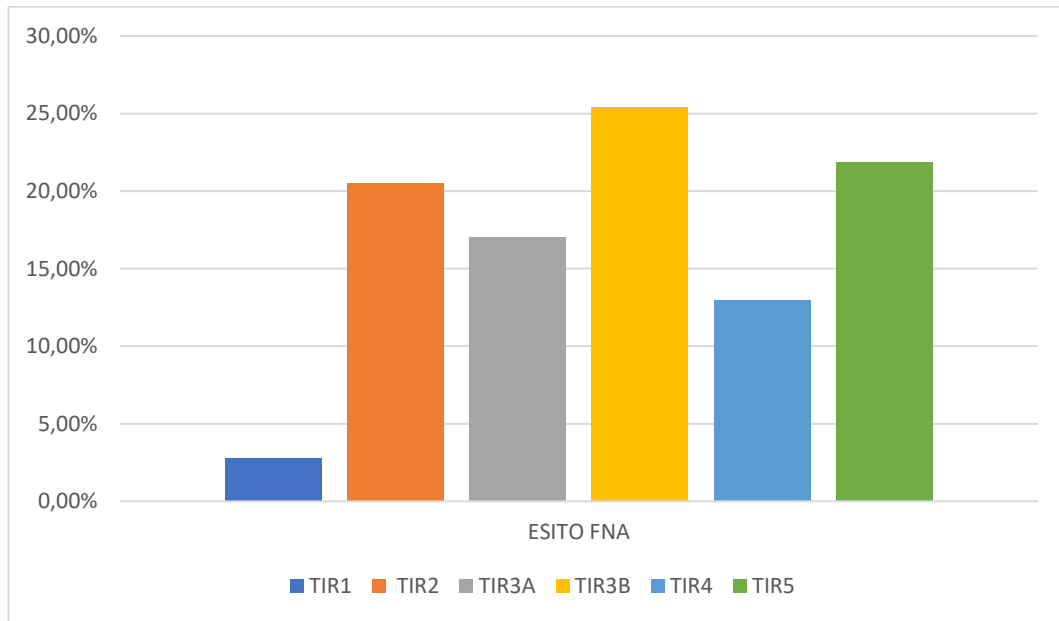


Grafico 2. Esito della FNA sui pazienti su cui è stato eseguito il citologico.

La diagnosi istologica definitiva ha visto la presenza di 36/478 adenomi (7,50%), 2/478 metastasi da carcinomi renali (0,4%), 1/478 linfoma (0,20%), 210/478 carcinomi papillari (43,90%), 27/478 carcinomi follicolari (5,60%), 2/478 carcinomi paratiroideo intra-tiroideo (0,40%), 2/478 carcinomi scarsamente differenziati (0,40%) e 23/478 MTC (4,80%), 169/478 gozzi (35,35%) e 6/478 tiroiditi (1,26%) (grafico3).

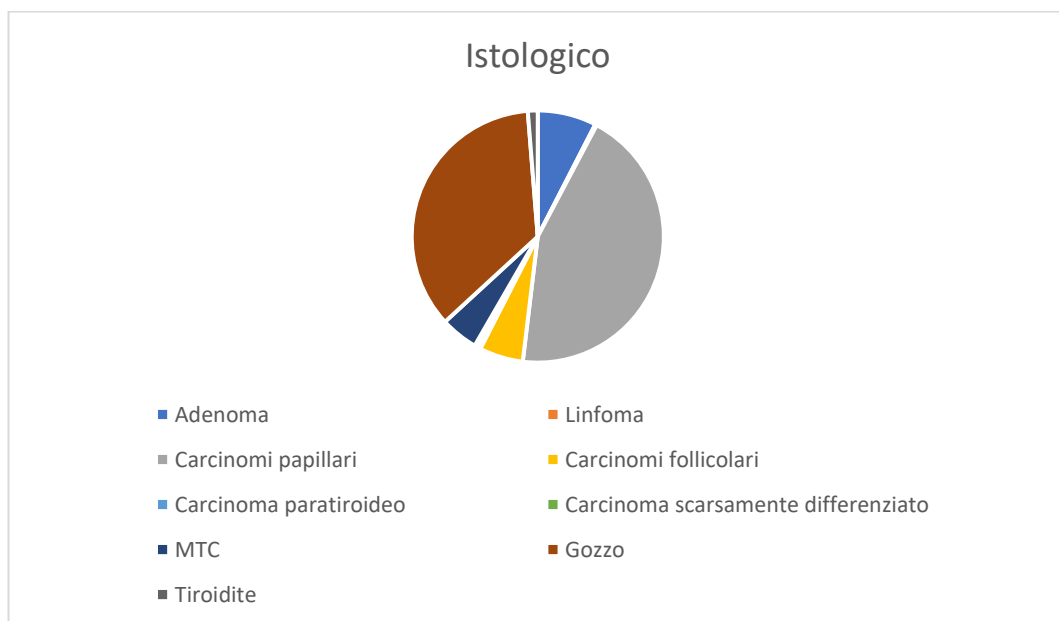


Grafico 3. Diagnosi istologica.

Pazienti con MTC

Limitatamente ai pazienti con MTC, 14/23 (60,87%) erano donne e 9/23 (39,13%) uomini, con un'età mediana di 58,00 anni (IQR:52-66 anni) e un'età media di 58,48 anni. La FNA di 20 di questi pazienti è stata eseguita e ha dato come esito: 2/20 TIR1 (10,00%), 1/20 TIR2 (5,00%), 2/20 TIR3A (10,00%), 3/20 TIR3B (15,00%), 5/20 TIR4 (25,00%) e 7/20 TIR5 (35,00%). Diciotto pazienti sono stati sottoposti a TT+linfektomia centrale, 1 paziente ha subito un'ET con linfektomia centrale e laterocervicale sinistra e 4 pazienti hanno subito una tiroidectomia totale, linfektomia centrale e linfektomia laterocervicale. All'istologico, si sono ottenuti i risultati di 9/20 pazienti erano T 1a (45,00%), 8/20 (40,00%) T1b, 2/20 T2 (10,00%), 1/20 T3a (2,00%). Il coinvolgimento linfonodale ha visto la presenza di 9/20 N0 (45,00%), 5/20 N1a (25,00%) e 4/20 N1b (20,00%) 2/20 Nx (10,00%). Le metastasi erano presenti in un solo paziente (M1, 5%). Per quanto riguarda lo stadio si hanno i dati di 21 pazienti 10/21 pazienti allo stadio 1 (47,61%), 2/21 pazienti allo stadio 2 (9,52%), 4/21 pazienti allo stadio (19,05%) 3 e 5/21 pazienti allo stadio 4 (23,81%). Tra i pazienti con MTC la mediana dei valori di proCT si è rivelata essere 4 ng/ml (IQR: 1,00-20,75 ng/ml) e la media 21,04 ng/ml. Per quanto riguarda la calcitonina la mediana era di 19,5 pg/ml (IQR:5-138,75 pg/ml) e la media di 485,08 pg/ml.

Tra questi pazienti, 21/23 (91,30%) avevano una CT> a 10 pg/ml e 14/23 (60,87%) risultano positivi per i *cut-off* sesso specifici. Per quanto riguarda la proCT 20/23 (86,96%) pazienti sono risultati al di sopra del *cut-off* di 0,04 ng/ml e 18/23 (78,26%) pazienti sono risultati al di sopra del *cut-off* di 0,07 ng/ml. Un paziente presenta una proCT \leq a 0,07 ng/ml ma > a 0,04 ng/ml e CT positiva sia per *cut-off* di 10 pg/ml che per i sesso specifici. Un paziente presentava una proCT negativa per tutti i *cut-off* e CT> a 10 pg/ml ma più bassa dei *cut-off* sesso specifici. Cinque pazienti presentavano una proCT positiva per tutti e due i *cut-off* e CT >10pg/ml ma negativa per i *cut-off* sesso specifici e infine un paziente presenta una proCT \leq a 0,07 pg/ml ma > a 0,04 ng/ml e una CT al di sopra di 10 pg/ml ma al di sotto dei *cut-off* sesso specifici. Non mancano i due pazienti negativi per tutto?

Nella tabella II sono riportate le caratteristiche cliniche e istologiche dei pazienti con diagnosi finale di MTC.

1. Caratteristiche dei pazienti con diagnosi di MTC:

Sesso	Età	Esito FNA	T	N	M	Stadio	Operazione chirurgica	ProCT	CT
F	66	TIR5	1b	0	0	1	TT+LC	2,22	452
M	77	TIR1	1a	0	0	1	TT+LC	0,05	38,9
F	58	TIR5	1b	0	0	1	TT+LC	3,29	255
F	45	TIR3B	1b	1a	0	3	TT+LC	2,38	67,3
F	73	TIR3B	1b	1a	0	3	TT+LC	3,1	374
M	50	TIR5	1a	1a	0	3	TT + LC	3,02	152
F	64	TIR4	1b	1a	0	3	TT+LC	4,28	1790
M	53		1a	1b	0	4A	TT+LC+linfektomia latero-cervicale sx	8,07	187
M	62	TIR4	2	1b	0	4A	TT+LC+linfektomia latero-cervicale sx	6,16	1440
M	41	TIR5	1b	1b	0	4A	TT+LC +linfektomia latero-cervicale sx	9,37	1110
M	71	TIR5	3a	1b	1	4C	ET +LC+linfektomia latero-cervicale sx con vena giugulare	484	11200
M	54	TIR4	1a	x	x	1	TT + LC	0,44	45,2
F	68	TIR5				4	TT+LC+linfektomia latero-cervicale	1,17	32,5
F	80						TT+LC	0,29	99,5
F	52	TIR3B	1b	x	0	1	TT+LC	0,04	1

F	61	TIR2	1a	0	0	1	TT+LC	0,04	17,4
F	46	TIR4	1a	0	0	1	TT+LC	0,23	27,1
M	52	TIR1	1a	0	0	1	TT+LC	0,1	30,8
F	62	TIR4	1a	0	0	1	TT+LC	16	28,7
M	39		1a	0	0	1	TT+LC	0,24	16,5
F	57	TIR3A	1b	1a	0	2	TT+LC	0,04	1,2
F	61	TIR5	2	0	0	2	TT+LC	6,37	16,7
F	53	TIR3A					TT+LC	0,07	22,6

Tabella II

Nei seguenti paragrafi, abbiamo analizzato le *performance* di CT e proCT nell'individuare l'MTC nel paziente con patologia nodulare tiroidea, utilizzando diversi *cut-off* diagnostici.

Calcitonina

Il valore mediano della calcitonina sul totale dei pazienti è risultato essere 1,00pg/ml (IQR:0,10-1,00 pg/ml), per una media di 38,58 pg/ml, con un valore massimo di 11,20 pg/ml. La calcitonina è risultata positiva (>10,00 pg/ml) in 30/478 pazienti (6,30%). Dei pazienti con MTC, 21/23 (91,30%) avevano la CT > 10 pg /ml. Inoltre 446 pazienti su 448 avevano la CT al di sotto del *cut-off* e non presentavano l'MTC. I risultati ottenuti sono riassunti nella tabella III.

MTC	CT-	CT+	
no	446	9	455
sì	2	21	23
TOT	448	30	478

Tabella III

Il riscontro di un valore di calcitonina $>10,00$ pg/ml aveva una sensibilità di 0,91, una specificità di 0,98, un valore predittivo positivo (VPP) di 0,70 e un valore predittivo negativo (VPN) del 0,99 nei confronti della diagnosi di MTC. Nella tabella IV sono riassunte le performance della CT.

sensibilità	0,91
specificità	0,98
VPP	0,70
VPN	0,99

Tabella IV

Calcitonina con cut off divisi per sesso

Un'altra considerazione da fare sulla calcitonina è quella sull'utilizzo del *cut-off* diviso per sesso, secondo i *cut-off* definiti dal lavoro di Fugazzola et al. (Fugazzola et al., 2021): $>30,00$ pg/ml per le donne e $>34,00$ pg/ml per gli uomini. La calcitonina è risultata positiva in 15/478 (3,14%) pazienti rispetto ai *cut-off* sesso-specifici.

Rispetto a questi *cut-off*, 454/463 (98,0,6%) sono risultati negativi alla calcitonina e si sono rivelati privi di MTC. Quattordici su 15 (93,30%), invece, avevano una CT positiva ed erano portatori di MTC. Solo un paziente su 455, pur non avendo un MTC era positivo al *cut-off* di CT sesso-specifico (donna di 88 anni con CT di 72,30 pg/ml e proCT di 0,28 ng/L, istologico: neoplasia follicolare non invasiva con atipie di tipo "papillare" in gozzo con flogosi linfo-monocitaria dello stroma).

I *cut-off* di calcitonina per sesso hanno quindi mostrato la seguente performance: sensibilità: 0,61; specificità: 0,99; VPP: 0,93 e VPN: 0,98; p value $<0,0001$. Nella tabella V sono riassunti i risultati con *cut-off* divisi per sesso.

MTC	CT-	CT+	
no	454	1	455
sì	9	14	23
TOT	463	15	478

Tabella V

Limitatamente ai pazienti con diagnosi citologica di benignità, i valori di calcitonina superiori ai *cut-off* sesso-specifici hanno mostrato le performance sotto riportate. Settantotto su 79 pazienti negativi per calcitonina non avevano effettivamente un MTC (98,73%) e 1 paziente con MTC si è rivelato sotto i *cut-off* sesso specifici, (donna di 61 anni T1aN0M0 con CT di 17,40 pg/ml e proCT di 0,04 ng/). Non vi era nessun paziente con MTC con citologico pre-operatorio benigno e CT superiore al *cut-off* sesso specifico. Le performance quindi erano le seguenti: specificità 0,99; VPN 1,00; *p value*<0,0001; nell'escludere l'MTC nei pazienti che hanno avuto una diagnosi di benignità alla FNA. Nella tabella VI sono riassunti i risultati per i citologici benigni.

MTC	CT-	CT+	
no	78	0	78
sì	1	0	1
TOT	79	0	79

Tabella VI

Limitatamente ai pazienti con diagnosi citologica indeterminata (TIR3), i valori di calcitonina superiori ai *cut-off* sesso-specifici hanno mostrato le performance sotto riportate. Centosesantuno su 164 pazienti negativi per calcitonina non avevano effettivamente un MTC (98,17%) e 2 pazienti su 3 (66,67%) con MTC si sono rivelati sopra i *cut-off* sesso specifici. Solo un paziente su 3 senza MTC era risultato positivo alla CT pur non avendo la malattia (donna di 88 anni con carcinoma follicolare con CT di 72,30 pg/ml e proCT di 0,27 ng/ml). Le performance quindi erano le seguenti: sensibilità 0,40; specificità 0,99; VPP 0,67; VPN 0,98; *p value*<0,0001, nell'escludere l'MTC nei pazienti che hanno avuto una diagnosi di benignità alla FNA. Nella tabella VII sono riassunti i risultati per i citologici indeterminati.

MTC	CT-	CT+	
no	161	1	162
sì	3	2	5

TOT	164	3	167
-----	-----	---	-----

Tabella VII

Limitatamente ai pazienti con diagnosi citologica di malignità valori di calcitonina superiori ai *cut-off* sesso-specifici hanno mostrato le performance sotto riportate. Centoventicinque su 128 pazienti negativi per calcitonina non avevano effettivamente un MTC (98,20%), viceversa, 9/9 pazienti con CT positiva si sono poi rivelati MTC (100,00%). Nessun paziente privo di MTC aveva una CT positiva. Le performance quindi erano le seguenti: sensibilità: 0,75; specificità: 1,00; VPP: 1,00; VPN: 0,98 $p\text{ value}<0,0001$. Nella tabella VIII sono riassunti i risultati per i citologici maligni.

MTC	CT-	CT+	
no	125	0	125
sì	3	9	12
TOT	128	9	137

Tabella VIII

Nella tabella IX si mettono a confronto le *performance* della calcitonina e della calcitonina con *cut-off* diviso per sesso.

	CT con <i>cut-off</i> > 10 pg/ml	CT con <i>cut-off</i> diviso per sesso
sensibilità	0,91	0,61
specificità	0,98	0,99
VPP	0,70	0,93
VPN	0,99	0,98

Tabella IX

Nella tabella X sono riassunte le *performance* per i citologici benigni, indeterminate e maligni con *cut-off* divisi per sesso.

	Citologici benigni	Citologici indeterminati	Citologici maligni
sensibilità	0,00	0,40	0,75
specificità	0,99	0,99	1,00

VPP	0,00	0,67	1,00
VPN	1,00	0,98	0,98

Tabella X. Performance in base a citologico per cut-off divisi per sesso

Cut-off migliori divisi per sesso

Tramite analisi di curva ROC, abbiamo individuato nel nostro campione il miglior *cut-off* di calcitonina, utile ad individuare la presenza di MTC, considerando il sesso. Nel sesso femminile il miglior *cut-off* di calcitonina di 12,20 pg/ml, una sensibilità di 85,71, una specificità di 99,46, un VPP di 85,70 e un VPN di 99,50 (AUC=0,93 p<0,0001). *Figura 11*

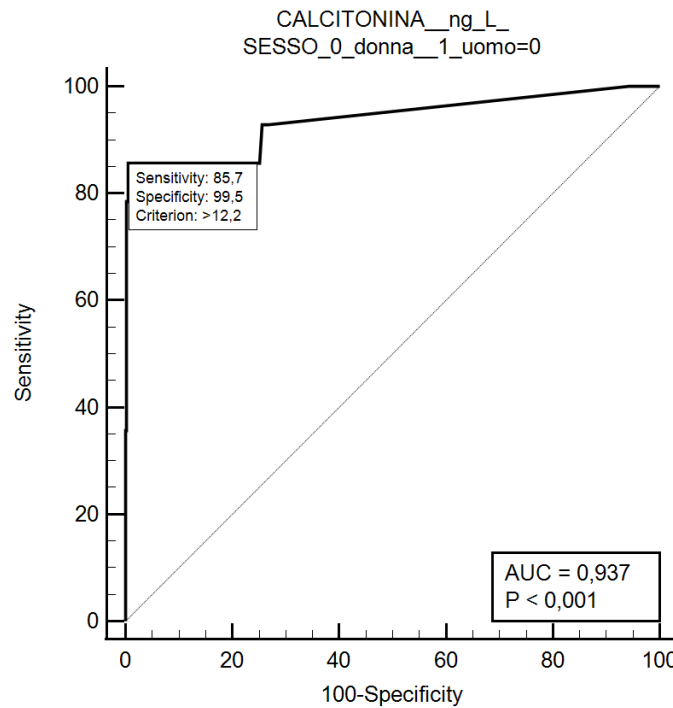


Figura 11

Per quanto riguarda la popolazione maschile è stato invece individuato il *cut-off* di 13,4 pg/ml con una sensibilità di 100,00 una specificità del 97,65, un VPP di 81,80 e un VPN di 100,00 (AUC 0,99, p<0,001). *Figura 12*

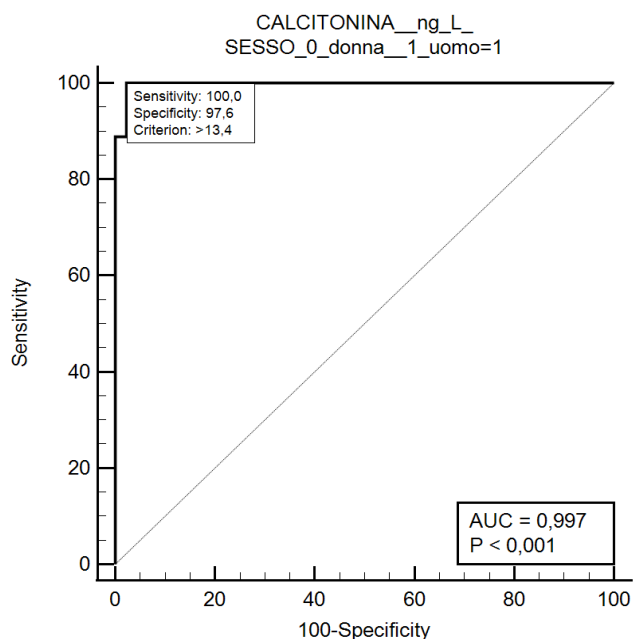


Figura 12

Procalcitonina

Il valore mediano della proCT era di 0,04 ng/ml (IQR 0,01-0,04 ng/ml), per una media di 1,19 ng/ml con un valore massimo di 484,00 ng/ml.

Procalcitonina e iperplasia a cellule C

All'interno del campione di pazienti con MTC (23), 8/23 (34,78%) risultavano avere un'iperplasia a cellule C mentre nessun paziente privo di MTC si è rivelato portatore di questa caratteristica. All'interno dei pazienti con iperplasia a cellule C si è riscontrata una proCT media di 2,82 ng/ml e una mediana di 0,34 ng/ml (IQR 0,14-2,74ng/ml).

Procalcitonina con cut-off 0,04

Utilizzando il *cut-off* di proCT di 0,04 (\geq 0,04 ng/ml), 36 pazienti su 478 (7,53%) sono risultati positivi alla proCT. In questo caso 20 pazienti su 23 (86,96%) con MTC sono risultati positivi alla proCT e 439 pazienti su 455 (96,48%) senza MTC si sono rivelati negativi alla proCT. Sedici pazienti su 455 (3,52%) inoltre avevano la proCT al di sopra del *cutoff* ma erano privi di MTC. (vedi tabella XI).

	ProCT-	ProCT+	TOT
No MTC	439	16	455

MTC	3	20	23
TOT	442	36	478

Tabella XI che riassume i risultati per il *cut-off* di 0,04 ng/ml

Si sono ottenuti i seguenti parametri di accuratezza: sensibilità: 0,87 specificità: 0,96 VPP: 0,56 VPN: 0,96 p value<0,0001.

Nella tabella XII sono riassunte le performance del *cut off* di 0,04 ng/ml.

sensibilità	0,87
specificità	0,96
VPP	0,56
VPN	0,96

Tabella XII

Limitatamente ai pazienti con citologico maligno, 12/12 pazienti con MTC avevano una proCT $\geq 0,04$ ng/ml, 120/125 non-MTC presentavano una proCT al di sotto del *cut-off* sopracitato (p value<0,0001). Cinque pazienti senza MTC avevano una proCT positiva.

Si sono quindi ottenuti i seguenti valori: sensibilità: 1,00; specificità: 0,96; VPP: 0,71; VPN: 1,00. Nella tabella XIII sono riassunti i risultati ottenuti per i citologici maligni.

	ProCT-	ProCT+	
No MTC	120	5	125
MTC	0	12	12
	120	17	137

Tabella XIII

Limitatamente ai pazienti con citologico benigno, le performance della proCT con *cut-off* 0,04 ng/ml sono le seguenti. Settantaquattro su 75 pazienti negativi per proCT non avevano effettivamente un MTC (98,67%) e 1 paziente con MTC si è rivelato sotto il *cut-off* (donna di 61 anni T1aN0Mo). Non vi era nessun paziente con MTC con citologico pre-operatorio benigno e proCT superiore al *cut-off* mentre vi erano 4 pazienti con proCT al di sopra del *cut-off* e privi di MTC (p value: 0,8174). Le performance quindi erano le seguenti: sensibilità 0,00 specificità 0,95; VPP 0,00 VPN 0,99. Nella tabella

XIV sono riassunti i risultati per i citologici benigni.

	ProCT-	ProCT+	TOT
No MTC	74	4	78
MTC	1	0	1
TOT	75	4	79

Tabella XIV

Limitatamente ai pazienti con citologico indeterminato (TIR3), 3/5 (60,00%) avevano una proCT al di sopra del *cut-off* ed erano portatori di MTC mentre 155/162 (95,68%) pazienti non-MTC si sono rivelati negativi a questo *cut-off* di proCT ($p < 0,0001$). Sette pazienti su 162 (4,32%), pur non avendo un MTC avevano una proCT positiva. In questo contesto si sono ottenuti i seguenti valori di sensibilità: 0,60; specificità: 0,96; VPP: 0,30 e VPN: 0,99. Nella tabella XV sono riassunti i risultati ottenuti per i citologici indeterminati.

	ProCT-	ProCT+	TOT
No MTC	155	7	162
MTC	2	3	5
TOT	157	10	167

Tabella XV

Nella tabella XVI sono riassunte le performance per in base al citologico per *cutoff* di 0,04 ng/ml.

	Citologici benigni	Citologici indeterminati	Citologici maligni
sensibilità	0,00	0,60;	1,00;
specificità	0,95	0,96	0,96
VPP	0,00	0,30	0,71
VPN	0,99	0,99	1,00

Tabella XVI. Performance in base al citologico del cutoff di 0,04 ng/ml.

Procalcitonina con cut-off 0,07

Utilizzando il *cut-off* di proCT individuato nel lavoro precedente del nostro

gruppo (Censi et al., 2021) per la proCT basale (*cut-off* di $>0,07$ ng/ml) 25 pazienti su 478 sono risultati positivi alla proCT (5,23%). In questo caso 18/23 (78,26%) pazienti con MTC sono risultati positivi alla proCT, mentre 448 pazienti su 455 (98,46%), privi di MTC si sono rivelati negativi. Sette pazienti su 455 invece avevano la proCT al di sopra del *cut-off* pure essendo privi di MTC (p value <0.0001).

Nella tabella XVII sono riassunti risultati per *cut-off* $>0,07$ ng/ml.

	ProCT-	ProCT+	
No MTC	448	7	455
MTC	5	18	23
	453	25	478

Tabella XVII. Risultati per *cut-off* di $>0,07$ ng/ml.

Si sono ottenuti i seguenti parametri di accuratezza: sensibilità: 0,78, specificità: 0,98, VPP: 0,72 VPN: 0,99. Nella tabella XVIII sono riassunte le performance per il *cut-off* di 0,07 ng/ml.

sensibilità	0,78
specificità	0,98
VPP	0,72
VPN	0,99

Tabella XVIII

Limitatamente ai pazienti con citologico maligno, 12/12 pazienti con MTC avevano una proCT $> 0,07$ ng/ml, 123/125 (98,40%) non-MTC presentavano una proCT al di sotto del *cut-off* sopracitato (p value $<0,0001$). Due pazienti su 125, pur non presentando un MTC, avevano una proCT positiva (1,60%). Si sono quindi ottenuti i seguenti valori di accuratezza: sensibilità 1,00, specificità 0,98, VPP 0,86, VPN 1,00. Nella tabella XIX sono riassunti i risultati ottenuti per i citologici maligni.

	ProCT-	ProCT+	
NO MTC	123	2	125
MTC	0	12	12

	123	14	137
--	-----	----	-----

Tabella XIX

Limitatamente ai pazienti con citologico benigno, nessun paziente aveva una proCT al di sopra *del cut-off* ed era portatore di MTC mentre 76/77 (98,70%) pazienti non-MTC si sono rivelati negativi a questo *cut-off* di proCT (*p value*: 0,8720). Due pazienti su 78 (2,56%) senza MTC, pur non avendo un MTC presentavano una proCT superiore al *cut-off*. In questo contesto si sono ottenuti i seguenti valori di accuratezza: sensibilità: 0,00; specificità 0,97; VPP: 0,00 e VPN:0,99. Nella tabella XX sono riassunti i risultati ottenuti per i citologici benigni.

	ProCT-	ProCT+	
No MTC	76	2	78
MTC	1	0	1
	77	2	79

Tabella XX

Limitatamente ai pazienti con citologico indeterminato (TIR3), 2/5 (40,00%) avevano una proCT al di sopra del *cut-off* ed erano portatori di MTC mentre 159/162 (98,15%) pazienti non-MTC si sono rivelati negativi a questo *cut-off* di proCT. Tre pazienti su 162 (1,85%), pur non avendo un MTC avevano una proCT positiva (*p value*<0,0001). In questo contesto si sono ottenuti i seguenti valori di sensibilità: 0,40; specificità: 0,98; VPP: 0,40 e VPN: 0,98. Nella tabella XXI sono riassunti i risultati ottenuti per i citologici indeterminati.

	ProCT-	ProCT+	
No MTC	159	3	162
MTC	3	2	5
	162	5	167

Tabella XXI

Nella tabella XXII sono riassunte le *performance* per in base al citologico per cutoff di 0,07 ng/ml.

	Citologici	Citologici	Citologici
--	------------	------------	------------

	benigni	indeterminati	maligni
sensibilità	0,00	0,40;	1,00
specificità	0,97	0,98	0,98
VPP	0,00	0,40	0,86
VPN	0,99	0,98	1,00

Tabella XXII. Performance in base al citologico del cutoff di 0,07 ng/ml.

Confronto tra performance dei *cut-off*: 0,04 ng/ml e 0,07ng/ml. Tabella XXIII

	0,04 mg/ml	0,07 ng/ml
sensibilità	0,87	0,78
specificità	0,96	0,98
VPP	0,56	0,72
VPN	0,96	0,99

Tabella XXIII

Cut-off migliore per proCT

In seguito ad analisi con curva ROC è risultato che il migliore *cut-off* per il valore della proCT per differenziare MTC da non MTC era > 0,04 ng/ml (sensibilità 86,96%, specificità 96,48%, VPP 65,50%, VPN 99,30% AUC 0,93 p<0,0001). (figura 12)

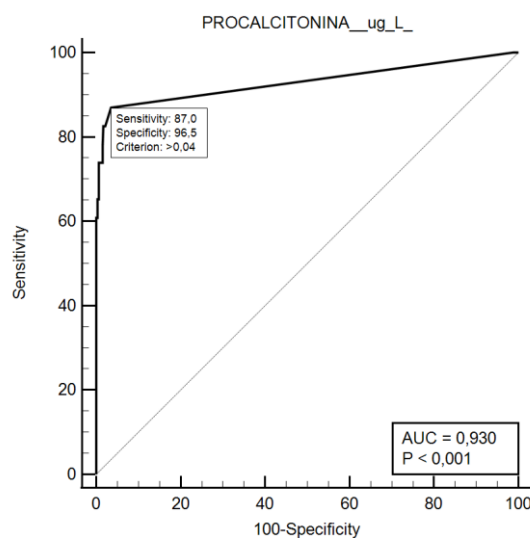


Figura 12

sì	2	0	1	20	23
	435	13	7	23	478

Tabella XXIV

Limitatamente al citologico benigno, 74/74 avevano entrambi i dati negativi e non avevano l'MTC (100,00%), non vi era nessun paziente positivo per entrambe in questo sottogruppo. Cinque pazienti avevano dati discordanti, di questi 1 aveva un MTC. Il paziente in questione era positivo alla CT e negativo alla proCT.–Il paziente presentava un carcinoma midollare di 9 mm al primo stadio con T1aN0M0. Gli altri 4, privi di MTC, erano risultati positivi alla proCT e negativi alla CT. Il *p value* è <0,001. Nella tabella XXV sono riassunti i risultati per i citologici benigni.

MTC	CT- /pro CT-	CT- /pro CT+	CT+/ proC T-	CT+/ proC T+	
no	74	4	0	0	78
sì	0	0	1	0	1
	74	4	1	0	79

Tabella XXV

Limitatamente al citologico indeterminato (TIR3), 154/156 (98,72%) pazienti con entrambi i marcatori negativi erano effettivamente privi di MTC, 3/6 (50%) pazienti avevano invece entrambe positive ed erano portatori di MTC.

Cinque pazienti avevano invece dati discordanti, tra i quali non vi era alcun MTC: quattro positivi alla proCT e negativi alla CT e 1 positivo alla CT e negativo alla proCT. Il *p value* è $<0,0001$. Nella tabella XXVI sono riassunti i dati ottenuti per i citologici indeterminati.

MTC	CT- /pro CT-	CT- /pro CT+	CT+/ proC T-	CT+/ proC T+	
no	154	4	1	3	162
sì	2	0	0	3	5
	156	4	2	1	167

Tabella XXVI

Limitatamente al citologico maligno, 118/118 (100%) dei pazienti con entrambi i marcatori negativi era privo di MTC, 12 pazienti avevano invece entrambe positive, ed erano MTC. 7 pazienti avevano invece dati discordanti, di cui nessun portatore di MTC: 5 positivi alla proCT e negativi alla CT, 2 positivi alla CT e negativi alla proCT. Il *p value* è $<0,001$. Nella tabella XXVII sono riassunti i risultati ottenuti per i citologici maligni.

MTC	CT- /pro CT-	CT- /pro CT+	CT+/ proC T-	CT+/ proC T+	
no	118	5	2	0	125

sì	0	0	0	12	12
	118	5	2	12	137

Tabella XXVII

Calcitonina >cut off sesso specifici e proCT 0,04 ng/ml

Se si considerano contemporaneamente procalcitonina (rispetto al *cut-off* di 0,04 ng/ml) e calcitonina con *cut-off* sesso specifici (>30,00 pg/ml per le donne e >34,00 pg/ml per gli uomini) otteniamo le seguenti performance. 439/442 (99,32%) pazienti senza MTC sono risultate negativi ad entrambe; viceversa, 14/15 (86,95%) avevano un risultato positivo per entrambe ed erano portatori di MTC. 3 pazienti, pur avendo entrambe negative, erano portatori di MTC. 21 pazienti avevano dati contrastanti, ovvero una CT negativa e una proCT positiva. Di questi, 6 erano risultati portatori di MTC, 15 no. Era inoltre presente una donna di 88 anni senza MTC ma con CT e proCT positive. Essa presentava una CT di 72,30 pg/ml e proCT di 0,28 ng/L e istologico con neoplasia follicolare non invasiva con atipie di tipo "papillare" in gozzo con flogosi linfo-monocitaria dello stroma. Il *p value* è <0,001. Nella tabella XXVIII sono riassunti i risultati per proCT *cut-off* di 0,04 ng/ml e CT con *cut-off* sesso specifico.

MTC	CT- /pro CT-	CT- /pro CT+	CT+/ proC T-	CT+/ proC T+	
no	439	15	0	1	455
sì	3	6	0	14	23

	442	21	0	15	478
--	-----	----	---	----	-----

Tabella XXVIII

Limitatamente al citologico benigno, 74/75 avevano entrambi i dati negativi e non avevano l'MTC (98,67%), inoltre nessun paziente era positivo ad entrambe. Quattro avevano dati discordanti, di questi nessuno aveva un MTC, tutti i pazienti risultavano positivi alla proCT ed erano negativi alla CT. Il p value è <0,001. Nella tabella XXIX sono riassunti i risultati per i citologici benigni.

MTC	CT- /pro CT-	CT- /pro CT+	CT+/ proC T-	CT+/ proC T+	
no	74	4	0	0	78
sì	1	0	0	0	1
	75	4	0	0	79

Tabella XXIX

Limitatamente al citologico indeterminato (TIR3), 155/157 (98,73%) pazienti con entrambi i marcatori negativi erano privi di MTC, 2/3 (66,67%) pazienti avevano invece entrambe positive ed erano portatori di MTC. Sette pazienti avevano invece dati discordanti, di cui un portatore di MTC, tutti positivi alla proCT e negativi alla CT. Il paziente con MTC era una donna di 53 anni con i seguenti valori di CT 22,6 pg/ml e proCT di 0,07 ng/ml. Il p value è <0,001. Nella tabella XXX sono riassunti i dati ottenuti per i citologici indeterminati.

MTC	CT- /pro CT-	CT- /pro CT+	CT+/ proC T-	CT+/ proC T+	
no	155	6	0	1	162
sì	2	1	0	2	5
	157	7	0	3	167

Tabella XXX

Limitatamente al citologico maligno, 120/120 (100%) dei pazienti con entrambi i marcatori negativi era privo di MTC, 9 pazienti avevano invece entrambe positive, e 9/9 erano MTC. 8 pazienti avevano invece dati discordanti, di cui 3 portatori di MTC positivi alla proCT e negativi alla CT. Il p value è <0,001. Nella tabella XXXI sono riassunti i risultati ottenuti per i citologici maligni.

MTC	CT- /pro CT-	CT- /pro CT+	CT+/ proC T-	CT+/ proC T+	
no	120	5	0	0	125
sì	0	3	0	9	12
	120	8	0	9	137

Tabella XXXI

Gli altri due pazienti con MTC ma con dati discordanti avevano una citologia non-diagnostica (TIR-1).

Calcitonina >10 pg/ml e proCT 0,07 ng/ml

Se si considerano contemporaneamente proCT (rispetto al *cut-off* di > 0.07 ng/ml) e calcitonina (>10 pg/ml) otteniamo le seguenti performance.

441/443 (99,55%) negative per entrambe effettivamente non avevano l'MTC, mentre 18/20 (90,00%) erano positive per entrambe ed avevano l'MTC. Quindici pazienti avevano risultati discordanti, 3/15 erano portatori di MTC. Tutti e tre avevano la CT positiva e la proCT negativa. Il paziente 1 aveva un MTC di 2mm, T1a, N0, M0 al primo stadio e il paziente 2 aveva un MTC di 9mm T1a, N0, M0 al primo stadio e il paziente 3 aveva un MTC di 8mm T1a, N0, M0 al primo stadio.

Limitatamente agli altri 12, che sono risultati avere risultati contrastanti tra CT/proCT e non erano portatori di MTC, 7 (58,33%) erano positivi alla CT (valori CT in pg/ml: 11,90 pg/ml; 12,20 pg/ml; 12,70 pg/ml; 11,40 pg/ml; 16,90 pg/ml; 19,20 pg/ml; 13,40 pg/ml; media 13,96 pg/ml mediana:12,70 pg/ml IQR: 11,90 pg/ml -16,90 pg/ml), 5 (41,67%) erano positivi alla proCT (valori in ng/ml: 0,36 ng/ml; 0,31 ng/ml; 0,17 ng/ml; 0,14 ng/ml; 0,12 ng/ml media: 0,22 ng/ml mediana: 0,17 ng/ml IQR:0,13 ng/ml -0,34 ng/ml). Due pazienti, pur avendo un MTC, erano negative per entrambe. Il p value è <0,001. Nella tabella XXXII sono riassunti i risultati per proCT *cut-off* di 0,07 ng/ml e CT>10pg/ml.

MTC	CT- /pro CT-	CT- /pro CT+	CT+/ proC T-	CT+/ proC T+	
no	441	5	7	2	455
sì	2	0	3	18	23

	443	5	10	20	478
--	-----	---	----	----	-----

Tabella XXXII

Limitatamente ai pazienti con citologico benigno, 76/76 (100,00%) sono risultati essere negativi per entrambe e non avevano l'MTC. In questo gruppo, nessun paziente era positivo per entrambe. Tre pazienti avevano un risultato discordante. Di questi 1 aveva l'MTC, positivo per CT e negativo per proCT, il paziente aveva un MTC di 9mm T1a, N0, M0 al primo stadio. Due pazienti, pur avendo un MTC, erano negative per entrambe. Il p value è <0,001.

Nella tabella XXXIII sono riassunti i risultati per i citologici benigni.

MTC	CT- /pro CT-	CT- /pro CT+	CT+/ proC T-	CT+/ proC T+	
no	76	2	0	0	78
sì	0	0	1	0	1
	76	2	1	0	79

Tabella XXXIII

Limitatamente agli indeterminati (TIR3), 157/159 (98,74%) erano negativi per entrambi e negativi per MTC, viceversa, 2/4 (50,00%) erano positivi per entrambi e portatori di MTC. Quattro avevano dati discordanti, uno era portatore di MTC e aveva la CT positiva e la proCT negativa il paziente 3 aveva un MTC di 8mm T1a, N0, M0 al primo stadio. Tra i non portatori di MTC con dati discordanti, 2 erano positivi alla CT e negativi alla proCT e 1 era positivo per proCT e negativo alla CT. Il p value è <0,001.

Nella tabella XXXIV sono riassunti i risultati per i citologici indeterminati.

MTC	CT- /pro CT-	CT- /pro CT+	CT+/ proC T-	CT+/ proC T+	
no	157	1	2	2	162
sì	2	0	1	2	5
	159	1	3	4	167

Tabella XXXIV

Limitatamente ai maligni, 120/121 (99,17%) erano negativi per entrambi e negativi per MTC, viceversa, 12/12 (100,00%) erano positivi per entrambi e portatori di MTC. Quattro avevano dati discordanti, nessuno era portatore di MTC, 2 erano positivi alla proCT e negativi alla CT e 2 erano positivi per CT e negativi alla proCT, tutti privi di MTC. Nella tabella XXXV sono riassunti i risultati per i citologici maligni.

MTC	CT- /pro CT-	CT- /pro CT+	CT+/ proC T-	CT+/ proC T+	
no	121	2	2	0	125
sì	0	0	2	12	12

	121	2	2	12	137
--	-----	---	---	----	-----

Tabella XXXV

Calcitonina >cut off sesso specifici e proCT 0,07 ng/ml

Se si considerano contemporaneamente procalcitonina (rispetto al *cut-off* di 0,07 ng/ml) e calcitonina con *cut-off* sesso specifici (30,00 pg/ml per le donne e >34,00 pg/ml per gli uomini) otteniamo le seguenti performance. 448/452 (99,12%) pazienti senza MTC sono risultate negative ad entrambe; viceversa, 13/14 (92,86%) avevano un risultato positivo per entrambe ed erano portatori di MTC. Dodici pazienti avevano solo una delle due positive, e 6 erano risultati portatori di MTC. Di questi pazienti con MTC, cinque avevano la proCT positiva ma la CT negativa e 1 aveva la CT positiva e la proCT negativa. Limitatamente agli altri 6, che sono risultati avere risultati contrastanti tra CT/proCT, avevano tutti la proCT positiva e la CT negativa e non erano portatori di MTC. Quattro pazienti con entrambe negative erano portatori di MTC. Il p value è <0,0001. Nella tabella XXXVI sono riassunti i risultati per proCT *cut-off* di 0,07 ng/ml e CT con *cut-off* sesso specifico

MTC	CT- /pro CT-	CT- /pro CT+	CT+/ proC T-	CT+/ proC T+	
no	448	6	0	1	455
sì	4	5	1	13	23
	452	11	0	14	478

Tabella XXXVI

Limitatamente al citologico benigno, 76/77 avevano entrambi i dati negativi e non avevano l'MTC (98,70%), inoltre nessun paziente era positivo ad entrambe. Due avevano dati discordanti, di questi nessuno aveva un MTC, tutti i pazienti risultavano positivi alla proCT ed erano negativi alla CT. *P* value: 0,872. Nella tabella XXXVII sono riassunti i risultati per i citologici benigni.

MTC	CT- /pro CT-	CT- /pro CT+	CT+/ proC T-	CT+/ proC T+	
no	76	2	0	0	78
sì	1	0	0	0	1
	77	2	0	0	79

Tabella XXXVII

Limitatamente al citologico indeterminato (TIR3), 159/162 (98,14%) pazienti con entrambi i marcatori negativi eran privi di MTC, 2/3 (66,67%) pazienti avevano invece entrambe positive ed erano portatori di MTC. Due pazienti avevano invece dati discordanti, di cui nessun portatore di MTC, tutti positivi alla proCT e negativi alla CT. *P* value<0,0001. Nella tabella XXXVIII sono riassunti i dati ottenuti per gli istologici indeterminati.

MTC	CT- /pro CT-	CT- /pro CT+	CT+/ proC T-	CT+/ proC T+	
-----	--------------------	--------------------	--------------------	--------------------	--

no	159	2	0	1	162
sì	3	0	0	2	5
	162	2	0	3	167

Tabella XXXVIII

Limitatamente al citologico maligno, 123/123 (100%) dei pazienti con entrambi i marcatori negativi erano privi di MTC, 9 pazienti avevano invece entrambe positive, e 9/9 erano MTC. Cinque pazienti avevano invece dati discordanti, di cui 3 portatori di MTC positivi alla proCT e negativi alla CT. *P value*:0,001. Nella tabella XXXIX sono riassunti i risultati ottenuti per i citologici maligni.

MTC	CT- /pro CT-	CT- /pro CT+	CT+/ proC T-	CT+/ proC T+	
no	123	2	0	0	125
sì	0	3	0	9	12
	123	5	0	9	137

Tabella XXXIX

Procalcitonina in pazienti con livelli di CT moderatamente elevati

All'interno del campione di pazienti positivi alla calcitonina (*Cut-off*> 10 pg/ml),

15 pazienti si sono rivelati essere al di sotto del valore sesso specifico, di questi 7 pazienti su 15 erano portatori di MTC (47,67%). In questi 7 pazienti erano presenti 5 donne (CT: 17,40 pg/ml; 28,70 pg/ml; 27,10 pg/ml; 22,60pg/ml; 16,70 pg/ml) e 2 uomini (CT: 16,50pg/ml; 30,80 pg/ml). I valori di proCT in questi pazienti risultano essere: 0,04ng/ml; 16,00 ng/ml; 0,23ng/ml; 0,24 ng/ml; 0,10 ng/ml; 0,07 ng/ml; 6,37 ng/ml (media: 3,29 ng/ml; mediana:0,23ng/ml; IQR:0,07-6,37ng/ml). Sei su 7 pazienti con livelli di CT moderatamente elevati ed MTC avevano una proCT positiva, rispetto al *cut-off* di 0.04 ng/ml e sarebbero stati individuati correttamente dalla proCT.

Nei pazienti privi di MTC (8/15-53,33%), erano presenti 2 donne (CT: 12,20pg/ml e 11,40 pg/ml) e 6 uomini (CT: 19,20 pg/ml; 23,10pg/ml; 13,40 pg/ml; 11,90 pg/ml; 16,90pg/ml; 12,70pg/ml). I valori di proCT di questi pazienti risultano essere: 0,04ng/ml; 0,12ng/ml; 0,05ng/ml; 0,04ng/ml; 0,04ng/ml; 0,04ng/ml; 0,04ng/ml; 0,04ng/ml (media: 0,05 ng/ml; mediana:0,04ng/ml; IQR:0,04-0,05ng/ml). Quindi, 6 su 8 avevano valori di proCT negativi rispetto al *cut-off* di 0,04 ng/ml e sarebbero stati adeguatamente identificati come privi di malattia in base ad una proCT negativa. Ne consegue che 12/15 con livelli di CT > 10 ma inferiori al *cut-off* sesso-specifici sarebbero stati correttamente identificati come MTC o non-MTC in base ad una proCT positiva o negativa rispetto al *cut-off* di 0,04 ng/ml.

DISCUSSIONE

Procalcitonina come marcatore di screening

La proCT per poter essere considerata un buon marcatore tumorale per lo screening del MTC deve presentare una buona sensibilità e specificità. In questo studio, se confrontata con la CT >10 pg/ml (sensibilità:0,91), risulta essere meno sensibile sia se si considera il *cut-off* di 0,04 ng/ml (sensibilità:0,87), sia se si considera il *cut-off* di 0,07ng/ml (sensibilità:0,78) proposto nel 2021 (Censi et al., 2021). Il *cut-off* di proCT di 0,07 ng/ml presenta tuttavia un VPP sovrapponibile a quello della CT (VPP proCT:0,72; VPP CT:0,70) a fronte di una specificità e un VPN uguali (specificità:0,98; VPN:0,99). Questo potrebbe suggerire che, in caso di screening per nodulo tiroideo, il dosaggio della proCT con *cut-off* di 0,07 ng/ml come marcatore ancillare alla CT potrebbe apportare informazioni utili e aggiuntive nella diagnosi di MTC, con un minore dispendio ulteriori di risorse diagnostiche. Il VPP infatti esprime la probabilità che di fronte di un test positivo, la persona presenti realmente la malattia.

Citologici e cut-off di ProCT a confronto

Limitatamente ai pazienti che presentavano un citologico maligno, il *cut-off* di proCT di 0,07 ng/ml si conferma più specifico e con un VPP maggiore del *cut-off* 0,04. Sempre nell'ambito del citologico maligno, la sensibilità e il VPN risultano invece entrambe di 1,00 con entrambi i *cut-off*.

Limitatamente ai pazienti che presentavano un citologico benigno, la sensibilità e il VPP risultano essere azzerate sia utilizzando il *cut-off* di 0,04 ng/ml che utilizzando il al *cut-off* di 0,07 ng/ml. Questo fenomeno si spiega se si considera la prevalenza di istologico maligno tra i citologici benigni: essendo la prevalenza bassa, si riduce anche la sensibilità ed il valore predittivo positivo. Per quanto riguarda la specificità il *cut-off* di 0,07 ng/ml risulta leggermente migliore rispetto al *cut-off* di 0,04 ng/ml mentre per il VPN entrambi i *cut-off* danno un risultato simile.

Limitatamente ai pazienti che presentavano un citologico indeterminato, il *cut-off* di 0,04 ng/ml presenta una sensibilità e un VPN maggiori rispetto al *cut-off* di 0,07 ng/ml. VPP e la specificità risultano maggiori con il *cut-off* di 0,07 ng/ml rispetto al *cut-off* di 0,04 ng/ml, similmente ai citologici maligni.

Confronto tra cut-off di proCT

Analizzando i dati di proCT nel loro complesso, la proCT, sia per un *cut-off* di 0,04 ng/ml che per un *cut-off* di 0,07 ng/ml risulta avere una sensibilità e specificità buona. Il VPP e VPN, come noto, sono influenzati dalla prevalenza di malattia che nel nostro campione è bassa, essendo pari a 4,80% (seppur più elevata rispetto alla prevalenza di MTC nella popolazione generale, trattandosi di un centro di riferimento di terzo livello). Ne consegue che il valore predittivo negativo della proCT rimanga elevato sostanzialmente in tutti i contesti. Viceversa, il VPP risulta più elevato in un contesto di citologici maligni, meno nel citologico indeterminato, per essere sostanzialmente nullo nel citologico benigno (calando progressivamente la prevalenza di MTC). Per quanto riguarda il confronto tra i due *cut-off*, in un'ottica di screening bisognerebbe preferire il *cut-off* più sensibile, che risulta il 0,04 ng/ml, ma questo, come detto, andrà a discapito della specificità, seppur in modo minimale.

Nei marcatori di *screening* risulta infatti fondamentale la sensibilità in quanto il loro scopo è quello di andare a diagnosticare più casi di malattia possibile anche a costo di perdere specificità ed effettuare approfondimenti diagnostici superflui su soggetti privi di malattia. Per questo potrebbe essere più utile utilizzare un *cut-off* di 0,04 ng/ml. Tuttavia, mentre nel caso dei soggetti con una FNA indeterminata o benigna risulta sempre preferibile utilizzare un *cut-off* di 0,04 ng/ml, nel caso di una FNA maligna possiamo utilizzare anche un *cut-off* più elevato, a 0,07 ng/ml, che si è rivelato mantenere una buona sensibilità, garantendo allo stesso tempo un aumento di VPP. Il tutto per sfruttare al massimo le performance dei due *cut-off* adeguandoli al contesto clinico.

Considerazioni tra proCT e CT con cut off di 10 pg/ml

Secondo i risultati ottenuti, la CT utilizzata da sola sembra dare migliori *performance* rispetto alla proCT utilizzata singolarmente. Considerando infatti solamente la proCT con il *cut-off* di 0,04 ng/ml, dal nostro studio è stato evidenziato che tre pazienti sfuggono alla diagnosi di MTC (13,04% del totale dei pazienti con MTC), uno tra questi presenta una proCT al di sotto del *cut-off* ma una CT >10 pg/ml. Due pazienti presentavano invece entrambi i markers negativi.

Combinando assieme i due, rispetto al *cut-off* di massima sensibilità ovvero > 10 pg/ml e $> 0,04$ ng/ml, i *cut-off*, assieme o separati, individuano quasi tutti gli MTC. Considerando i citologici benigni e contemporaneamente le *performance* dei *cut-off* di 0,04 ng/ml per la proCT e 10 pg/ml per la CT è interessante notare come tra i citologici benigni 74/74 pazienti negativi per entrambe non presentassero MTC. Si hanno invece 5 pazienti con risultati discordanti: 1 solo paziente presentava un MTC ed era positivo alla CT. Questo suggerisce una performance migliore della CT nei citologici benigni ma anche il fatto che di fronte alla negatività di entrambi i marcatori e un citologico benigno si possa escludere con una certa sicurezza un MTC. Tra gli indeterminati, si hanno dei buoni risultati in quanto 154 su 156 pazienti negativi a entrambi i marcatori non presentavano MTC, 3/5 pazienti con MTC sono risultati positivi a entrambe e tra i 5 pazienti con dati discordanti, nessuno era portatore di MTC. Due pazienti con MTC tuttavia vengono persi nella diagnosi di MTC in quanto negativi ad entrambi i marcatori, questo suggerisce che per i citologici indeterminati, l'utilizzo della proCT e della CT combinate possa non raggiungere una sensibilità abbastanza elevata. Per i citologici maligni invece le performance sono molto buone in quanto tutti i pazienti (118) senza MTC risultano avere entrambi i marcatori negativi e tutti i pazienti (12) con MTC vengono individuati dalla positività ad entrambi i marcatori. Sette pazienti senza MTC hanno mostrato risultati discordanti, di cui 5 pazienti con proCT positiva e 2 con CT positiva, suggerendo una migliore performance da parte della CT anche in questo caso. Questi risultati suggeriscono che di fronte a un citologico maligno, se si ha una negatività ad entrambi i marcatori si può escludere l'MTC con ragionevole certezza e nel caso di positività ad entrambi i marcatori si può invece confermare la diagnosi di MTC.

Nel caso del dosaggio della proCT con *cut-off* di 0,07 ng/ml, 5 MTC risultano al di sotto della soglia di positività pur presentando un'istologia positiva per MTC (sfuggono alla diagnosi). Utilizzando invece la CT con *cut-off* di 10 pg/ml, è possibile individuare l'MTC in tre di questi cinque pazienti, mentre gli altri due risultavano negativi a entrambi i marcatori. Importante risulta tuttavia segnalare che in questi due pazienti gli MTC risultano essere se ≤ 10 mm di grandezza, in linea con lo studio del 2021 di Censi et al. che afferma una sensibilità inferiore della proCT per i microcarcinomi (il 65,2% se ≤ 10 mm).(Censi et al., 2021). Da segnalare inoltre che tutti e tre gli MTC sfuggiti alla proCT, presentavano una FNA

con risultato indeterminato. Questo conferma ulteriormente come la proCT non possa essere utilizzata da sola come marker di screening, specie nelle fasi di malattia iniziale. Data l'importanza di una tempestiva diagnosi di MTC per migliorarne l'*outcome*, il ruolo della proCT rimane ancillare alla CT.

Nei citologici benigni, 76/76 pazienti risultano negativi a entrambi i marcatori e privi di MTC come per il *cut-off* di 0,04 ng/ml. Si hanno invece 3 pazienti con risultati discordanti di cui 1 paziente con MTC che presentava solo la CT positiva. In questo caso, alzando il *cut-off*, si evidenziano quindi meno falsi positivi alla proCT rispetto al *cut-off* di 0,04 ng/ml, che evidenziava 4 falsi positivi. Tra gli indeterminati, si hanno 4 pazienti con dati discordanti, tra cui c'era un portatore di MTC con CT positiva e proCT negativa che invece veniva individuato dal *cut-off* di proCT di 0,04 ng/ml. Due pazienti con MTC inoltre vengono persi nella diagnosi di MTC in quanto negativi ad entrambi i marcatori. Questo suggerisce che per i citologici indeterminati, l'utilizzo della proCT e della CT combinante possa non raggiungere una sensibilità abbastanza elevata e che comunque sia meglio utilizzare il *cut-off* di 0,04 ng/ml. Per quanto riguarda i citologici maligni, invece, l'utilizzo di CT >10 ng/ml e proCT >0,07 ng/ml insieme presenta delle performance molto buone in quanto nessun MTC sfugge alla diagnosi (12/12). Nel caso dei citologici maligni, come precedentemente accennato, sembrerebbe più affidabile il *cut-off* di 0,07 ng/ml, in quanto porta a risultati discordanti solo 4 pazienti, tutti privi di MTC mentre il *cut-off* di 0,04 ng/ml porta come risultati discordanti 7 pazienti di cui nessun portatore di MTC.

CT con cut-off di 10 pg/ml e cut-off sesso specifici a confronto

Una CT con *cut-off* >10 ng/ml, presentava delle buone performance: sensibilità 0,91; specificità 0,98; VPP 0,70 e VPN 0,99. Se si considerano invece i *cut-off* sesso specifici più alti (30 ng/ml per le donne e 34 ng/ml per gli uomini), la sensibilità ovviamente diminuisce come anche il VPN a favore del VPP e del che la specificità aumentano. Inoltre anche nelle analisi suddivise in base al citologico, la sensibilità si mantiene bassa sia per i benigni che per gli indeterminati, risultando infatti rispettivamente nulla e di 0,4, alzandosi invece per i maligni fino a 0,75, portando comunque a dei risultati meno soddisfacenti rispetto, per esempio, ad una proCT con *cut-off* di 0,04 ng/ml. Questo suggerisce che, almeno nello *screening*, risulta una scelta valida tenere basso il *cut-off* di CT per non perdere nessun MTC.

ProCT con cut-off di 0,04 ng/ml e CT con cut-off sesso specifici

Se si considerano i *cut-off* sesso specifici per la CT e la proCT con *cut-off* di 0,04 ng/ml, 439/442 pazienti risultano negativi a entrambe ed erano privi di MTC e 14/15 risultano positive a entrambe e con MTC, mentre 21 pazienti risultano positivi solo a 1 delle 2 (proCT positiva e CT negativa), di cui 6 con MTC e 15 senza MTC. Se si alza il *cut-off* della CT essa diventa quindi meno sensibile e potrebbe essere utile affiancarle la proCT per andare ad individuare gli MTC persi. Tra i citologici benigni le *performance* sembrano essere simili rispetto al *cut-off* di 10 pg/ml e 4 pazienti sono risultati con dati discordanti con proCT positiva di cui nessun portatore di MTC. Tra gli indeterminati, 7 pazienti hanno avuto risultati discordanti di cui uno con MTC. Questo paziente viene individuato dalla proCT a riconferma del fatto che, soprattutto nei citologici indeterminati, se si alza il *cut-off* della CT, può essere utile affiancare la proCT per recuperare sensibilità. Nei maligni i risultati si riconfermano rispetto al *cut-off* di proCT più basso, in quanto 120/120 pazienti sono negativi a entrambi i marcatori e sono privi di MTC, 9/9 sono positivi a entrambe e con MTC, mentre 8 pazienti presentano risultati discordanti di cui 3 portatori di MTC e positivi alla proCT e non alla CT.

ProCT con cut-off di 0,07 ng/ml e CT con cut-off sesso specifici

Se si considerano i *cut-off* sesso specifici per la CT e la proCT con *cut-off* di 0,07 ng/ml, 448/452 pazienti risultano negativi a entrambe e senza MTC e 13/14 risultano positive a entrambe e con MTC mentre 12 pazienti risultano positivi solo a 1 delle 2 di cui 6 con MTC (5 con proCT positiva e CT negativa e 1 con CT positiva e proCT negativa) e 6 erano privi di MTC (tutti con proCT positiva e CT negativa). Tra i citologici benigni, 2 pazienti sono risultati con dati discordanti (proCT positiva e CT negativa) di cui nessun portatore di MTC. Tra gli indeterminati, 2 pazienti con risultati discordanti si sono rivelati privi di MTC. In questo caso, un paziente con MTC non viene individuato dalla proCT con *cut-off* di 0,07 ng/ml, mentre viene individuato dal *cut-off* di 0,04 ng/ml. Questo suggerisce che, andando a diminuire la sensibilità della CT, potrebbe essere utile utilizzare il *cut-off* di proCT più sensibile possibile. Nei maligni i risultati si mostrano simili a quelli con l'utilizzo del *cut-off* di 0,04 ng/ml.

Migliori cut-off per la CT divisi per sesso

Nelle analisi delle curve ROC si hanno due risultati differenti per uomini e donne ma più bassi rispetto a quelli proposti da Fugazzola et al (Fugazzola et al., 2021) . Si sono individuati rispettivamente i *cut-off* di 12,20 pg/ml per le donne e di 13,40 pg/ml a riconferma del fatto che gli uomini tendono ad avere valori di CT superiori rispetto alle donne come lo studio sopracitato affermava. Il *cut-off* così basso sesso-specifico, rispetto a quello dell'ultimo nostro studio, potrebbe essere legato alle caratteristiche della serie.

Considerazioni di performance finali

Combinando assieme i due, rispetto al *cut-off* di massima sensibilità ovvero > 10 pg/ml e $\text{proCT} > 0,04$ ng/ml, i *cut-off*, assieme o separati, individuano quasi tutti gli MTC. Non riescono ad individuare solo 2 pazienti, che avevano entrambi i markers negativi. In un'ottica di screening, quindi 21/23 venivano individuati da una $\text{CT} > 10$ ng/ml e/o una $\text{proCT} > 0,04$ ng/ml. Interessante notare come 15 pazienti avessero una $\text{CT} > 10$ pg/ml, ma inferiore ai *cut-off* sesso-specifici. Di questi, 7/15 avevano un MTC e 6/7 una proCT superiore a 0,04 ng/ml, 8 erano privi di MTC e 6/8 avevano una proCT indosabile. Ne risulta che, nella sottoclasse di pazienti con valori di CT borderline, la proCT risulta utile a classificare correttamente 12/15 pazienti. Solo 3/15 sfuggono alla corretta classificazione, 2 senza MTC e 1 MTC. Da Letteratura sappiamo che uno screening per CT con *cut-off* > 10 pg/ml in tutti i nodi tiroidei porterebbe teoricamente a diagnosticare tutti i casi di MTC (Verbeek et al., 2020). Il problema riguarda in questo caso la specificità della CT, che può ritrovarsi elevata per tutta una serie di cause secondarie, patologiche o fisiologiche. Questo potrebbe portare ad inutili accertamenti ulteriori nonché a tiroideomie non necessarie. Per evitare l'over-treatment si è proposto di usare dei *cut-off* sesso specifici per la CT (Fugazzola et al., 2021). Questo approccio porta inevitabilmente a ridurre la sensibilità. Dal nostro studio emerge come, nella "zona grigia", la proCT possa essere utile per recuperare una buona parte dei pazienti che risultano avere valori solo lievemente elevati di CT per classificarli correttamente. Un altro problema della CT riguarda la specificità. La proCT , secondo i dati del nostro studio, potrebbe rivelarsi utile nell'aiutare anche in questo ambito. Infatti, usando il *cut-off* di CT più sensibile, che permette di perdere meno casi di MTC possibile, garantendo al paziente una diagnosi precoce di MTC, si nota come la proCT possa aiutare nell'aumentare la specificità. Venti su 23 pazienti con MTC avevano entrambe positive. Un MTC aveva positiva solo la CT ed era un microMTC agli

stadi iniziali. Due pazienti sarebbero sfuggiti ad entrambi i markers, anch'essi micro MTC agli stadi iniziali. Solo un paziente presentava entrambi i markers positivi e non aveva un MTC. Possiamo supporre che avesse una qualche condizione di ipercalcitoninemia secondaria associata a sepsi o un NET. Di fatto quindi la proCT associata alla CT nello screening del MTC nel nodo tiroideo può aiutare nell'ottenere una diagnosi precoce evitando l'overtreatment.

Possibili pitfalls nell'utilizzo di questi due markers come screening

Infine, da segnalare un caso di una paziente che presentava entrambi i markers positivi, ma in assenza di MTC: una paziente donna di 88 anni con CT di 72,30 pg/ml e proCT di 0,28 ng/ml con istologico: "neoplasia follicolare non invasiva con atipie di tipo "papillare" in gozzo con flogosi linfo-monocitaria dello stroma". L'iperplasia a cellule C era assente. La calcitonina post-operatoria era di 75,3 pg/ml. Questa donna era oltretutto portatrice di nodulazione a citologico indeterminato. Questo avrebbe rappresentato un falso positivo ottenuto con entrambi i markers. Purtroppo, la paziente è stata persa nel corso del successivo *follow-up*, almeno per quanto riguarda i valori di proCT e di CT. Una non normalizzazione del valore di CT nel post-operatorio aiuta a formulare ipotesi nella diagnosi differenziale di questo rialzo di entrambi i markers. Vi è una possibile spiegazione per questo fenomeno: ci chiediamo se sia possibile che la paziente fosse stata affetta da un neuroendocrino misconosciuto. Questa possibile diagnosi sarebbe stata agilmente esclusa mediante l'esecuzione di un test al calcio o di una CT da eluato di nodulo tiroideo. Esistono poi una serie di possibili cause di CT falsamente elevata (interferenza di laboratorio, farmaci interferenti etc), che possono concomitare con cause più comuni di rialzo della proCT come uno stato settico. Il messaggio che deriva da questo caso riguarda l'importanza di escludere cause secondarie di rialzo della CT, anche in presenza di valori di CT e proCT aumentati in modo concorde.

Limiti dello studio

Il nostro studio presenta diversi limiti. In primo luogo si tratta di una serie retrospettiva e questo può aver impattato le performance riscontrate. In secondo luogo si tratta di una serie consecutiva di noduli, ma proveniente da un centro di terzo livello, di riferimento per l'intervento chirurgico in caso di patologia tiroidea e in particolare di MTC. Ne consegue una presenza di una prevalenza elevata,

4,80%, rispetto ad una prevalenza attesa attorno al 0.3% (Verbeek et al., 2020). Questo ha certamente alterato le performance per quanto concerne VPP e il VPN. Non sono inoltre stati considerati eventuali stati settici, soprattutto di origine batterica, che potrebbero alterare i valori di proCT e nemmeno l'eventuale utilizzo di farmaci interferenti come PPI, glucocorticoidi, e beta-bloccanti che possono invece alterare i valori di CT.

CONCLUSIONI

Per concludere, secondo i risultati del nostro studio, per lo screening del MTC la calcitonina sembrerebbe essere comunque un marcatore più sensibile e specifico rispetto alla proCT. Tuttavia la proCT potrebbe essere usato come marcatore adiuvante per aumentare la specificità di fronte a un riscontro positivo di CT, soprattutto per i citologici già evidenziati come maligni. Nel caso in cui si adottassero *cut-off* più elevati di CT per aumentare la specificità come quelli sesso-specifici proposti da Fugazzola et al.(Fugazzola et al., 2021) la proCT potrebbe essere utile per aumentare la sensibilità e quindi la *performance* dello *screening* andando ad individuare eventuali MTC che altrimenti non si classificherebbero in maniera adeguata.

BIBLIOGRAFIA

- Alexander, L. F., Patel, N. J., Caserta, M. P., & Robbin, M. L. (2020). Thyroid Ultrasound: Diffuse and Nodular Disease. In *Radiologic Clinics of North America* (Vol. 58, Issue 6, pp. 1041–1057). W.B. Saunders.
<https://doi.org/10.1016/j.rcl.2020.07.003>
- American Joint Committee on Cancer. (2017). *AJCC cancer staging manual* (B. S. L. F. B Mahul, Ed.; 8th ed.). springer.
- Burton, R. (1992). <https://www.uptodate.com/>.
- Censi, S., Di Stefano, M., Repaci, A., Benvenuti, T., Manso, J., Pagotto, U., Iacobone, M., Barollo, S., Bertazza, L., Galuppini, F., Benna, C., Pennelli, G., Plebani, M., Faggian, D., Colombo, C., Fugazzola, L., & Mian, C. (2021). Basal and Calcium-Stimulated Procalcitonin for the Diagnosis of Medullary Thyroid Cancers: Lights and Shadows. *Frontiers in Endocrinology*, 12.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2021.754565>
- Censi, S., Manso, J., & Mian, C. (2023). Other markers of medullary thyroid cancer, not only calcitonin. In *European journal of endocrinology* (Vol. 188, Issue 1). NLM (Medline). <https://doi.org/10.1093/ejendo/lvac009>
- Durante, C., Hegedüs, L., Czarniecka, A., Paschke, R., Russ, G., Schmitt, F., Soares, P., Solymosi, T., & Papini, E. (2023). 2023 European Thyroid Association Clinical Practice Guidelines for thyroid nodule management. *European Thyroid Journal*, 12(5). <https://doi.org/10.1530/ETJ-23-0067>
- Eisenhauer, E. A., Therasse, P., Bogaerts, J., Schwartz, L. H., Sargent, D., Ford, R., Dancey, J., Arbuck, S., Gwyther, S., Mooney, M., Rubinstein, L., Shankar, L., Dodd, L., Kaplan, R., Lacombe, D., & Verweij, J. (2009). New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1). *European Journal of Cancer*, 45(2), 228–247. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2008.10.026>
- Elisei, R., Cosci, B., Romei, C., Bottici, V., Renzini, G., Molinaro, E., Agate, L., Vivaldi, A., Faviana, P., Basolo, F., Miccoli, P., Berti, P., Pacini, F., & Pinchera, A. (2008). Prognostic significance of somatic RET oncogene mutations in sporadic medullary thyroid cancer: A 10-year follow-up study. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 93(3), 682–687. <https://doi.org/10.1210/jc.2007-1714>
- Elisei R, P. A. (2012). Advances in the follow-up of differentiated or medullary thyroid cancer. . *Nat Rev Endocrinol*.
- Engelbach, M., Goßrges, R., Goßrges, G., Forst, T., Pfußtzner, A., Pfußtzner, P., Dawood, R., Heerdt, S., Kunt, T., Bockisch, A., & Beyer, J. (2000). Improved Diagnostic Methods in the Follow-Up of Medullary Thyroid Carcinoma by Highly Specific Calcitonin Measurements*. In *J Clin Endocrinol Metab* (Vol. 85).
<https://academic.oup.com/jcem/article/85/5/1890/2660506>
- Fanget, F., Demarchi, M. S., Maillard, L., Lintis, A., Decaussin, M., & Lifante, J. C. (2021). Medullary thyroid cancer outcomes in patients with undetectable versus

- normalized postoperative calcitonin levels. *British Journal of Surgery*, 108(9), 1064–1071. <https://doi.org/10.1093/bjs/znab106>
- Freichelt, M., Zink-Lorenz, A., Holloschi, A., Hafner, M., & Flockerzi, V. (1996). *Expression of a Calcium-Sensing Receptor in a Human Medullary Thyroid Carcinoma Cell Line and Its Contribution to Calcitonin Secretion** (Vol. 137, Issue 9). <https://academic.oup.com/endo/article/137/9/3842/3037745>
- Fugazzola, L., Di Stefano, M., Censi, S., Repaci, A., Colombo, C., Grimaldi, F., Magri, F., Pagotto, U., Iacobone, M., Persani, L., & Mian, C. (2021). Basal and stimulated calcitonin for the diagnosis of medullary thyroid cancer: updated thresholds and safety assessment. *Journal of Endocrinological Investigation*, 44(3), 587–597. <https://doi.org/10.1007/s40618-020-01356-9>
- Hadoux, J., Elisei, R., Brose, M. S., Hoff, A. O., Robinson, B. G., Gao, M., Jarzab, B., Isaev, P., Kopeckova, K., Wadsley, J., Führer, D., Keam, B., Bardet, S., Sherman, E. J., Tahara, M., Hu, M. I., Singh, R., Lin, Y., Soldatenkova, V., ... Wirth, L. J. (2023). Phase 3 Trial of Selpercatinib in Advanced RET -Mutant Medullary Thyroid Cancer. *New England Journal of Medicine*, 389(20), 1851–1861. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2309719>
- Hadoux, J., & Schlumberger, M. (2017). Chemotherapy and tyrosine-kinase inhibitors for medullary thyroid cancer. In *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism* (Vol. 31, Issue 3, pp. 335–347). Bailliere Tindall Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2017.04.009>
- Haugen, B. R., Alexander, E. K., Bible, K. C., Doherty, G. M., Mandel, S. J., Nikiforov, Y. E., Pacini, F., Randolph, G. W., Sawka, A. M., Schlumberger, M., Schuff, K. G., Sherman, S. I., Sosa, J. A., Steward, D. L., Tuttle, R. M., & Wartofsky, L. (2016). 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer: The American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer. *Thyroid*, 26(1), 1–133. <https://doi.org/10.1089/thy.2015.0020>
- Huang, S. H., & O'Sullivan, B. (2017). Overview of the 8th Edition TNM Classification for Head and Neck Cancer. In *Current Treatment Options in Oncology* (Vol. 18, Issue 7). Springer New York LLC. <https://doi.org/10.1007/s11864-017-0484-y>
- Jaber, T., Dadu, R., & Hu, M. I. (2021). Medullary thyroid carcinoma. In *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity* (Vol. 28, Issue 5, pp. 540–546). Lippincott Williams and Wilkins. <https://doi.org/10.1097/MED.0000000000000662>
- John B. Hazard, M. D., W. A. H. M. D., G. C. JR. , M. D. (1959). Medullary (solid) carcinoma of the thyroid; a clinicopathologic entity. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 19(1,1), 152–161.
- Lindsey SC, G. I. P. F. et al. (2015). *Response to initial therapy predicts clinical outcomes in medullary thyroid cancer.*
- Machens, A., & Dralle, H. (2010). Biomarker-based risk stratification for previously untreated medullary thyroid cancer. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 95(6), 2655–2663. <https://doi.org/10.1210/jc.2009-2368>
- MacHens, A., & Dralle, H. (2013). Prognostic impact of N staging in 715 medullary thyroid cancer patients: Proposal for a revised staging system. *Annals of Surgery*, 257(2), 323–329. <https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e318268301d>

- Matrone, A., Gambale, C., Biagini, M., Prete, A., Vitti, P., & Elisei, R. (2021). Ultrasound features and risk stratification systems to identify medullary thyroid carcinoma. *European Journal of Endocrinology*, *185*(2), 193–200. <https://doi.org/10.1530/EJE-21-0313>
- Moura, M. M., Cavaco, B. M., Pinto, A. E., & Leite, V. (2011). High prevalence of RAS mutations in RET-negative sporadic medullary thyroid carcinomas. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *96*(5). <https://doi.org/10.1210/jc.2010-1921>
- Nardi, F., Basolo, F., Crescenzi, A., Fadda, G., Frasoldati, A., Orlandi, F., Palombini, L., Papini, E., Zini, M., Pontecorvi, A., & Vitti, P. (2014). Italian consensus for the classification and reporting of thyroid cytology. *Journal of Endocrinological Investigation*, *37*(6), 593–599. <https://doi.org/10.1007/s40618-014-0062-0>
- Pelizzo, M. R., Mazza, E. I., Mian, C., & Merante Boschini, I. (2023). Medullary thyroid carcinoma. In *Expert Review of Anticancer Therapy* (Vol. 23, Issue 9, pp. 943–957). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/14737140.2023.2247566>
- Prete, A., Gambale, C., Torregrossa, L., Ciampi, R., Romei, C., Ramone, T., Agate, L., Bottici, V., Cappagli, V., Molinaro, E., Materazzi, G., Elisei, R., & Matrone, A. (2023). Clinical Evolution of Sporadic Medullary Thyroid Carcinoma With Biochemical Incomplete Response After Initial Treatment. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *108*(8), e613–e622. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgad061>
- Scollo, C., Baudin, E., Travagli, J. P., Caillou, B., Bellon, N., Leboulleux, S., & Schlumberger, M. (2003). Rationale for central and bilateral lymph node dissection in sporadic and hereditary medullary thyroid cancer. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *88*(5), 2070–2075. <https://doi.org/10.1210/jc.2002-021713>
- Trimboli, P., Giannelli, J., Marques, B., Piccardo, A., Crescenzi, A., & Deandrea, M. (2022). Head-to-head comparison of FNA cytology vs. calcitonin measurement in FNA washout fluids (FNA-CT) to diagnose medullary thyroid carcinoma. A systematic review and meta-analysis. *Endocrine*, *75*(1), 33–39. <https://doi.org/10.1007/s12020-021-02892-x>
- Trimboli P, T. G. G. L. R. F. N. G. V. S. S. R. C. A. F. W. B. M. G. L. (2015). Detection rate of FNA cytology in medullary thyroid carcinoma: a meta-analysis. *Clin Endocrinol (Oxf)*. .
- Verbeek, H. H. G., de Groot, J. W. B., Sluiter, W. J., Muller Kobold, A. C., van den Heuvel, E. R., Plukker, J. T. M., & Links, T. P. (2020). Calcitonin testing for detection of medullary thyroid cancer in people with thyroid nodules. In *Cochrane Database of Systematic Reviews* (Vol. 2020, Issue 3). John Wiley and Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD010159.pub2>
- Wells, S. A., Asa, S. L., Dralle, H., Elisei, R., Evans, D. B., Gagel, R. F., Lee, N., MacHens, A., Moley, J. F., Pacini, F., Raue, F., Frank-Raue, K., Robinson, B., Rosenthal, M. S., Santoro, M., Schlumberger, M., Shah, M., & Waguespack, S. G. (2015a). Revised American thyroid association guidelines for the management of medullary thyroid carcinoma. *Thyroid*, *25*(6), 567–610. <https://doi.org/10.1089/thy.2014.0335>

Wells, S. A., Asa, S. L., Dralle, H., Elisei, R., Evans, D. B., Gagel, R. F., Lee, N., MacHens, A., Moley, J. F., Pacini, F., Raue, F., Frank-Raue, K., Robinson, B., Rosenthal, M. S., Santoro, M., Schlumberger, M., Shah, M., & Waguespack, S. G. (2015b). Revised American thyroid association guidelines for the management of medullary thyroid carcinoma. *Thyroid*, 25(6), 567–610.
<https://doi.org/10.1089/thy.2014.0335>