



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TORINO

Scuola di Dottorato in Scienze della Vita e della Salute
Dottorato in Fisiopatologia Medica

TESI DI DOTTORATO

**Ruolo dell'ecografia morfologico-quantitativa nella differenziazione
dei tessuti tiroidei. Concordanza con dati clinici, biochimici
e anatomo-patologici.**

Relatore

Prof. Mauro Maccario

Candidata

Dr.ssa Nadia Bonelli

ANNO ACCADEMICO 2016-2017

INDICE

1. INTRODUZIONE	pag. 1
2. I NODULI TIROIDEI: EPIDEMIOLOGIA E PATOGENESI	pag. 3
3. I NODULI TIROIDEI: INQUADRAMENTO DIAGNOSTICO	pag. 8
<i>Anamnesi, esame obiettivo ed esami di laboratorio</i>	pag. 8
<i>Diagnostica per immagini: ruolo dell'ecografia tiroidea</i>	pag. 13
<i>Esame citologico mediante biopsia con ago sottile (FNAB)</i>	pag. 15
4. PRINCIPI FISICI DELL'ECOTOMOGRAFIA TIROIDEA	pag. 18
<i>Le sonde ecografiche</i>	pag. 20
<i>L'effetto Doppler e il colorDoppler</i>	pag. 22
<i>Elastosonografia</i>	pag. 23
5. PARTE SPERIMENTALE	pag. 26
<i>Premesse e scopo dello studio</i>	pag. 26
<i>Costruzione del modello operativo</i>	pag. 29
<i>Estrazione- Comparazione</i>	pag. 39
<i>Costruzione dell'algoritmo</i>	pag. 48
<i>Discussione e conclusioni</i>	pag. 54
6. BIBLIOGRAFIA	pag. 64

CAPITOLO 1

INTRODUZIONE

L'ecografia tiroidea sta diventando sempre di più uno strumento fondamentale per l'endocrinologo che si interessa di problematiche tiroidee per completare al meglio le strategie diagnostiche e terapeutiche. Sarà sempre di più un bagaglio culturale della competenza dei tiroidologi.

E' stato infatti dimostrato come il suo impiego sia in grado di modificare il management clinico in circa il 60% dei pazienti, identificando noduli di piccole dimensioni, spesso non apprezzabili all'esame clinico. La metodica è in grado di fornire una stima accurata del numero, delle dimensioni e della natura solida o cistica dei noduli presenti, oltre che della presenza di alterazioni diffuse della struttura tiroidea, rivelandosi quindi particolarmente utile non solo nella diagnosi ma anche nella gestione del follow-up della patologia nodulare tiroidea.

Il ruolo principale dell'ecografia diagnostica è quello di consentire una valutazione preliminare delle masse cervicali, siano esse noduli tiroidei o linfonodi latero-cervicali, in modo da permettere un'adeguata selezione delle lesioni da sottoporre a esame citoaspirato, che rappresenta attualmente la metodica diagnostica più sensibile, soprattutto quando condotta mediante guida ecografica. Sono stati identificati alcuni caratteri ecografici più sospetti per malignità, quali l'ipoecogenicità, l'irregolarità dei margini, l'assenza di un orletto periferico definito, la presenza di microcalcificazioni intranodulari e la vascolarizzazione intralesionale; recentemente è stato inoltre proposto come ulteriore criterio di sospetto l'aspetto rotondo o "più alto che largo", ovvero la presenza di un diametro anteroposteriore maggiore di quello trasverso.

Uno dei principali problemi che si trova ad affrontare un'ecografista della patologia tiroidea è quello di riuscire a trasformare un'impressione soggettiva in un qualche valore oggettivo in modo da poter essere meglio compreso da chi recepisce il messaggio ecografico. Ad esempio, valutando una formazione nodulare ipoecogena, quanto è ipoecogena? Quanto è disomogenea? Noi abbiamo cercato di affrontare questi problemi.

Il nostro progetto fa parte di un main-project della cosiddetta "intelligenza artificiale" applicata alla diagnostica ecografica tiroidea. Rappresenta la parte fondamentale perché prevede la costruzione di un modello e di un algoritmo diagnostico che ci permetta di differenziare la struttura dei tessuti nodulari tiroidei benigni da quelli maligni.

Il main-project è la costruzione di un'intelligenza artificiale, ossia di una macchina che non sostituisce l'uomo ma lo affianca nell'eseguire determinate operazioni. Nella fattispecie, la macchina dovrebbe aiutare il medico ecografista in una diagnosi di differenziazione, per quanto possibile oggettiva, dei nodi benigni da quelli maligni. L'oggettivazione di questo percorso, a differenza della soggettività del giudizio del medico, consiste nel rendere in grado la macchina di esprimere in termini numerici probabilistici quella che può essere l'ipotesi diagnostica.

Il nostro progetto è quello di sviluppare un software diagnostico ecografico tiroideo che ci permetta di analizzare tutti i segni ecografici, di catalogarli e quantificarli (con un lavoro molto impegnativo di operatori esperti) in modo che la macchina possa avere un bagaglio storico di informazioni semplice, preciso, schematico riferito alle patologie nodulari tiroidee benigne e maligne.

Nella fase della verifica pratica del progetto, l'intelligenza artificiale, sulla base di algoritmi di analisi tissutale, confronterà il segno legato all'esame ecografico estemporaneo con il- i segni simili riferiti alla patologia tiroidea

benigna e maligna, producendo un'ipotesi diagnostica sulla benignità o malignità dei nodi con probabilità differenti (ex: 70% neoplasia, 30% nodo di struma).

Il nostro progetto dal punto di vista operativo consta di tre momenti:

a) Costruzione del modello operativo

Appropriata, completa e schematica descrizione dei segni ecografici riferiti alle varie tessiture nodulari tiroidee benigne e maligne.

b) Estrazione-comparazione

Analisi delle caratteristiche ecografiche del nodulo tiroideo estratte quantitativamente dall'immagine ecografica e successivo confronto con la classificazione fornita dal modello operativo, al fine di utilizzare i classificatori più funzionali al progetto di costruzione dell'algoritmo diagnostico.

c) Costruzione dell'algoritmo

Realizzazione delle procedure informatiche necessarie per classificare i vari segni ecografici e attribuirli "pesati" (sia in funzione di fattori intrinseci al segno stesso che fattori estrinseci), per compiere le operazioni di confronto fra esame estemporaneo e l'archivio della banca dati della macchina e le procedure informatiche per esprimere in termini probabilistici l'ipotesi diagnostica.

CAPITOLO 2

I NODULI TIROIDEI: EPIDEMIOLOGIA E PATOGENESI

Il nodulo tiroideo rappresenta una delle patologie di maggior frequenza nell'ambito dell'area clinica endocrinologica. Il riscontro alla palpazione di un nodulo tiroideo si verifica nel 3-7% della popolazione generale (1) e raggiunge percentuali di gran lunga superiori nelle aree a carenza iodica (2,3); inoltre il rilievo ecografico di noduli non palpabili varia dal 20 al 76% della popolazione generale, in accordo con i dati autoptici (4).

La prevalenza di noduli tiroidei è inoltre più elevata negli anziani, nelle donne, nei soggetti esposti a radiazioni ionizzanti (2).

Dal punto di vista clinico-patologico la gran parte dei noduli tiroidei è di natura benigna, inquadrabile per lo più nell'ambito della patologia gozzigena o, meno frequentemente, tiroiditica. I tumori maligni rappresentano non oltre il 5% dei noduli clinicamente manifesti, indipendentemente dalle dimensioni (3,5).

Per quanto riguarda l'eziopatogenesi, la carenza iodica rappresenta uno dei principali fattori implicati nella formazione dei nodi tiroidei, in particolare nel caso del gozzo endemico; l'insufficiente apporto di iodio provoca infatti un'iniziale ridotta sintesi di ormoni tiroidei, che induce un'ipersecrezione tireotropinica al fine di mantenere una condizione di eutiroidismo. Il TSH, mediante l'attivazione di una via intracellulare c-AMP dipendente, determina la replicazione della cellula follicolare con conseguenti ipertrofia e iperplasia ghiandolare a frequente evoluzione nodulare (6). Altri elementi sono responsabili dello sviluppo di gozzo e di noduli tiroidei; è noto che alcuni fattori di crescita endocrini e paracrini (quali EGF, IGF I e II)

Commento [NB1]:

Commento [NB2]:

agiscono stimolando la moltiplicazione cellulare in maniera sinergica con il TSH attraverso meccanismi non dipendenti dall'attivazione dell'adenilato ciclasi (7). Inoltre sostanze gozzigene naturali, fattori autoimmunitari e genetici giocano un ruolo non indifferente. Nel caso del gozzo sporadico e familiare sono state descritte alterazioni molecolari in differenti tappe della sintesi ormonale tiroidea, in parte ereditarie, che, analogamente a quanto avviene per il deficit iodico, determinano aumento compensatorio della secrezione di TSH. La formazione del nodo tiroideo è quindi legata all'azione cronica di vari stimoli esogeni ed endogeni su cloni specifici di cellule follicolari, caratterizzati da un potenziale replicativo maggiore e da un metabolismo iodico più elevato. In seguito alla proliferazione dei suddetti cloni si possono nel tempo creare aree nodulari funzionalmente autonome, con conseguente ipertiroidismo (8,9). Nella maggior parte degli adenomi tossici e dei nodi autonomi sono state identificate mutazioni puntiformi del gene che codifica per il recettore del TSH (TSH-R). Queste mutazioni attivano costitutivamente il TSH-R determinando un aumento dei livelli di c-AMP con conseguente incremento della proliferazione e della funzione delle cellule follicolari, indipendentemente dalla presenza del TSH (9,10). Meno comunemente mutazioni somatiche vengono identificate a carico della proteina $G_{s\alpha}$, che, anche in questo caso, danno luogo all'attivazione costitutiva della via metabolica dell'AMP ciclico (10).

Per quanto riguarda i tumori maligni della tiroide, ad oggi sono state identificate numerose alterazioni genetiche ed epigenetiche (quali la mutazione di B-RAF e RAS per i cancri differenziati, di p53 per il tumore anaplastico, di RET per il carcinoma midollare) che causano un'incontrollata attività di plurimi pathways di segnalazione intracellulare con conseguenti avvio e progressione dell'oncogenesi (11).

L'obiettivo primario nella valutazione di un nodulo tiroideo resta quello di escludere la presenza di una lesione evolutiva di tipo neoplastico maligno.

A questo scopo possono essere disposti molti accertamenti: l'esame clinico, dosaggi di laboratorio concernenti la funzionalità tiroidea e la presenza di autoimmunità rivolta verso la ghiandola, markers di tessuto tiroideo normale o patologico, ed esami morfo-funzionali di tipo strumentale, quali ecografia, scintigrafia, radiografia del collo, tomografia assiale computerizzata, risonanza magnetica nucleare e tomografia ad emissione di positroni.

L'applicazione di tutte queste procedure in tutti i pazienti portatori di noduli tiroidei costituirebbe un peso insostenibile per il sistema sanitario, in considerazione dell'enorme prevalenza della patologia nodulare tiroidea nella popolazione e della relativa bassa frequenza di neoplasie maligne della tiroide.

Il "gold standard" nella diagnosi differenziale del nodo tiroideo è l'esame citologico ottenuto da biopsia con ago sottile (FNAB) praticata direttamente sulla lesione mediante guida ecografica (12,13,14). La FNAB, tuttavia, è caratterizzata da una serie di non trascurabili problemi: è un esame relativamente costoso, invasivo e necessita di un operatore ecografico esperto (12,15,16). Inoltre, è legato alla competenza ed all'esperienza del patologo, all'idoneità del prelievo pervenuto ed alle notizie cliniche che lo accompagnano. L'estensione della FNAB a tutti i pazienti con una patologia nodulare della tiroide comporterebbe una spesa sanitaria elevata e un notevole impiego di risorse.

E' nata pertanto l'esigenza di sviluppare esami diagnostici alternativi, poco invasivi e poco costosi, dotati di un potere diagnostico rilevante nel riconoscere o escludere, non tanto la natura maligna di una lesione nodulare tiroidea, quanto l'indicazione alla biopsia stessa.

L'ecotomografia tiroidea, più di ogni altro esame diagnostico, sembra possedere queste caratteristiche. Per la semplicità dell'apparecchiatura richiesta e per l'immediatezza delle immagini che fornisce, l'ecografia è l'unica tra le metodiche diagnostiche di imaging che si è estesa oltre le strette competenze radiologiche entrando a far parte delle metodologie usate

nella pratica clinica quotidiana in molte branche specialistiche; la tecnica ecografica rappresenta la metodica ottimale per un'accurata ed affidabile valutazione del volume ghiandolare e dei noduli tiroidei quando eseguita da un operatore esperto (17,18). Infatti, grazie all'ecografia, si distinguono noduli anecogeni, vale a dire cistici e quasi sempre benigni, dai noduli solidi (ipo, iso o iperecogeni) o misti; essa è molto sensibile nel valutare dimensioni e numero dei noduli, oltre che il volume e l'aspetto della ghiandola in toto.

Principale obiettivo dell'utilizzo di quest'esame, oltre alla diagnosi della patologia nodulare, è il follow-up delle varie forme patologiche, sia nei pazienti con pregresso cancro tiroideo, sia nei pazienti con gozzo nodulare semplice già sottoposto o meno a FNAB, in cui va seguita nel tempo l'evoluzione morfologica e dimensionale del nodo.

Ad oggi sono ancora scarsi i dati relativi alla storia naturale del nodo tiroideo non tumorale. Aumentare la nostra conoscenza sull'evoluzione di tale patologia potrebbe essere d'aiuto nell'impostare un follow-up più adeguato a beneficio di un migliore rapporto costo/efficacia.

CAPITOLO 3

I NODULI TIROIDEI: INQUADRAMENTO DIAGNOSTICO

Allo scopo di escludere la natura maligna di un nodo tiroideo, si possono effettuare numerosi accertamenti: l'esame anamnestico e obiettivo, la valutazione laboratoristica sia della funzionalità tiroidea sia di un'eventuale autoimmunità rivolta verso la ghiandola, il dosaggio di markers specifici di tessuto tiroideo normale o patologico, ed indagini morfo-funzionali di tipo strumentale.

In considerazione della relativamente esigua proporzione di neoplasie maligne in rapporto alla larga prevalenza della patologia nodulare tiroidea, non appare giustificabile l'applicazione di tutte queste procedure in qualsiasi paziente portatore di noduli tiroidei.

Lo sforzo del medico pratico dovrà essere quindi teso a ricercare, per ogni singolo caso, gli accertamenti con maggiore potere diagnostico nell'ambito di una logica basata sul criterio generale di maggiore beneficio, al minore costo possibile.

Ad oggi sono a disposizione del clinico i suggerimenti delle maggiori società scientifiche di area endocrinologica quali l'*American Association of Clinical Endocrinologists* (AACE), l'*Associazione Medici Endocrinologi* (AME), l'*European Thyroid Association* (ETA) e l'*American Thyroid Association* (ATA), che hanno elaborato linee guida specifiche concernenti gli aspetti diagnostici e terapeutici della patologia nodulare tiroidea (19, 20).

Anamnesi, esame obiettivo ed esami di laboratorio

L'esposizione a radiazioni ionizzanti nella regione del collo rappresenta il più importante fattore di rischio per lo sviluppo del carcinoma della tiroide

di istotipo papillare, tanto che la progressiva irradiazione esterna del collo in età infantile è aspetto centrale da verificare nella raccolta anamnestica; è stata infatti osservata una maggiore incidenza di tale neoplasia in soggetti sottoposti in età pediatrica a radioterapia del collo o del mediastino superiore per iperplasia del timo, delle tonsille, delle adenoidi (21,22) o più recentemente per linfoma di Hodgkin (23).

L'età di irradiazione e la dose radiante sono fattori di particolare criticità, mentre il sesso sembra di minore importanza, pur essendo riportata una maggiore suscettibilità del sesso femminile rispetto a quello maschile. In particolare, il rischio di sviluppare un carcinoma tiroideo decresce con l'avanzare dell'età in cui è avvenuta l'irradiazione, con un periodo di latenza stimato in circa 10-20 anni (24).

In caso invece di esposizione diretta o indiretta (ingestione di alimenti contaminati) a isotopi radioattivi dello iodio a brevissima emivita (^{123}I), come si è verificato successivamente al disastro nucleare di Chernobyl nel 1986, la latenza risulta essere nettamente minore, tanto che il primo incremento dell'incidenza del carcinoma tiroideo in età pediatrica si è riscontrato dopo soli 4 anni, raggiungendo un incremento di almeno 5 volte rispetto alla popolazione generale (24); per quanto riguarda i bambini nati o concepiti nel periodo intorno all'incidente si è assistito a un incremento di circa 80 volte dell'incidenza di tumori benigni o maligni della tiroide (25).

Il rilievo anamnestico di familiarità per carcinoma midollare della tiroide (CMT) deve indurre a escludere quelle pur rare forme familiari, inquadrabili nell'ambito delle Neoplasie Endocrine Multiple (MEN) 2A, 2B o del Carcinoma Midollare Familiare isolato (FMTC).

Di minore impatto epidemiologico, ma di notevole rilevanza clinica, è il riscontro anamnestico di rare malattie familiari, quali la poliposi multipla del colon, la sindrome di Gardner, la malattia di Cowden e la sindrome di Carney, che possono essere associate a un'elevata prevalenza di noduli

tiroidei e di cancro della tiroide, specialmente di tipo papillare (26).

Il sesso e l'età di comparsa di un nodulo tiroideo possono anch'essi essere considerati fattori di rischio di malignità, essendo stata rilevata una maggiore incidenza nei maschi e in due fasce di età, quella giovanile e quella più avanzata (27,28); infatti la probabilità che un nodulo tiroideo sia maligno è maggiore quando questo viene riscontrato in un soggetto con età inferiore ai 25 anni (29) e ancor più nell'età infantile/adolescenziale, con un incremento di 3-4 volte rispetto alla popolazione adulta (30).

Ai fini di una corretta disamina diagnostica appare di significativa importanza seguire l'evoluzione clinica del nodulo nel tempo: a questo proposito deve essere considerata sospetta una crescita rapida nell'arco di settimane o mesi, in particolare se in corso di terapia con levotiroxina.

Poco influente è invece il fatto che il nodo si presenti come lesione unica o nel contesto di un gozzo multinodulare (27).

Deve essere valutata attentamente anche l'eventuale sintomatologia compressiva che può esprimersi con dispnea, disfagia e/o disfonia, quest'ultima particolarmente sospetta per malignità se associata a paresi omolaterale della corda vocale (24).

Per finire merita un cenno il rapporto fra il carcinoma tiroideo e le tireopatie autoimmuni.

La tiroidite di Hashimoto e i tumori tiroidei differenziati spesso coesistono, ma la relazione tra le due patologie non è chiara: da una recente review condotta su molteplici studi, peraltro in gran parte retrospettivi o case reports, si evince che il rischio di malignità nella tiroidite autoimmune non pare di per sé aumentato, ma la diagnosi di cancro può essere più difficoltosa, dato il frequente rilievo ecografico di "pseudo-noduli"

infiammatori; inoltre la presenza di anticorpi anti-tireoglobulina può interferire con il follow up post-ablazione (31,32,33,34). Alcuni studi hanno rilevato una prognosi migliore per i carcinomi tiroidei differenziati associati a tiroidite rispetto a quelli sviluppati in tiroide sane (35,36,37). Per quanto riguarda i noduli nel contesto del Morbo di Basedow, anche in questo caso i dati sono contrastanti e spesso non basati su studi ampi e randomizzati. Già in passato era stato riportato un lieve incremento di patologia maligna (38): questo dato è stato confermato da alcune analisi più recenti che hanno inoltre evidenziato un eccesso di mortalità nei pazienti con cancro tiroideo e Morbo di Basedow rispetto ai casi di tumore non associati a patologia basedowica (39,40,41).

Tuttavia, ad oggi, in assenza di dati maggiormente consistenti in tal senso, si può affermare che la presenza di autoimmunità non debba influenzare il management dei nodi tiroidei (31,42).

Per quel che concerne la palpazione del collo, essa può dare utili informazioni su numero, dimensioni e consistenza dei noduli, nonché sulle caratteristiche della ghiandola stessa. Di solito sono palpabili lesioni di dimensioni superiori a 1.5 cm, ma deve essere considerata una certa variabilità in funzione della sede del nodulo e dei caratteri anatomici del singolo paziente (43). L'esame obiettivo del collo deve sempre essere esteso alle stazioni linfonodali, in particolare a quelle latero-cervicali e sovraclaveari. Nell'insieme sono segni assai suggestivi di malignità la presenza di noduli di consistenza aumentata e profilo irregolare, fissi rispetto ai piani profondi, il riscontro di linfonodi palpabili e il rilievo di paralisi di una corda vocale. Nessuno di questi segni è tuttavia di per sé patognomonico, così come la loro assenza non esclude la malignità del nodulo (44).

Il dosaggio sierico del TSH e degli ormoni tiroidei non è di particolare

utilità ai fini della diagnostica differenziale del nodulo tiroideo. Tuttavia, valori di TSH ridotti o francamente soppressi possono indicare la presenza di noduli autonomi, solo eccezionalmente di natura maligna; va comunque sottolineato che nel contesto di un gozzo plurinodulare tossico possono presentarsi anche nodi freddi, questi ultimi a rischio di malignità (2).

La determinazione dei livelli della tireoglobulina circolante non deve essere effettuata nella diagnostica del nodulo tiroideo in quanto valori elevati possono essere riscontrati in ogni tipo di patologia tiroidea (particolarmente nel gozzo nodulare) sia benigna che maligna (45). Per contro, il ruolo della tireoglobulina si rivela fondamentale nel follow-up dei pazienti trattati per carcinoma tiroideo differenziato ed è stato proposto un suo dosaggio anche pre-intervento allo scopo di identificare eventuali falsi negativi causati dalla presenza di una forma di tireoglobulina con una ridotta immunoreattività o di anticorpi eterofili (46). Dopo terapia ablativa il valore di tireoglobulina deve infatti essere azzerato ed il riscontro di valori dosabili, anche in minime concentrazioni, è indice di recidiva o metastatizzazione (47).

Il dosaggio della calcitonina sierica è risultato altamente sensibile e specifico nel discriminare precocemente l'iperplasia delle cellule C e il carcinoma midollare (48), correlando anche con le dimensioni del tumore (49). Il suo dosaggio è pertanto imperativo in pazienti con una anamnesi positiva o un sospetto clinico o ancora familiarità per MEN 2 o FMTC (50); è stato inoltre proposto da più autori l'uso routinario nella diagnostica del nodulo tiroideo (48,51,52). Tale argomento è tuttavia ancora oggetto di dibattito in funzione dell'incremento dei costi e della presenza di condizioni patologiche e terapie farmacologiche in grado di determinare risultati falsamente positivi (53). Tra queste ultime vanno ricordate l'insufficienza renale (54), lo pseudoipoparatiroidismo (55) e l'uso di inibitori di pompa protonica (56), ma anche il consumo di alcol, il fumo e lo sviluppo di anticorpi eterofili, così come va segnalata la variabilità tra i

diversi kit di misurazione (57). Il dosaggio della calcitonina dopo somministrazione acuta di pentagastrina presenta maggiore accuratezza diagnostica e può essere impiegato nei casi dubbi (58); in assenza di tale farmaco è possibile effettuare lo stimolo mediante carico di calcio, con cut-off in via di definizione (59).

Diagnostica per immagini: ruolo dell'ecografia tiroidea

L'ecografia rappresenta l'esame cardine nella diagnostica e nel follow-up del nodulo tiroideo. E' stato infatti dimostrato come il suo impiego sia in grado di modificare il management clinico in circa il 60% dei pazienti, identificando nodi di diametro inferiore al centimetro, spesso non apprezzabili all'esame clinico (60). La metodica è in grado di fornire una stima accurata del numero, delle dimensioni e della natura solida o cistica dei noduli presenti, oltre che della presenza di alterazioni diffuse della struttura tiroidea, rivelandosi quindi particolarmente utile nel follow-up (61).

Sono stati identificati alcuni caratteri ecografici più sospetti per malignità, quali l'ipoecogenicità, l'irregolarità dei margini, l'assenza di un orletto periferico definito, la presenza di microcalcificazioni intranodulari e la vascolarizzazione intralesionale; in particolare la letteratura riporta una specificità compresa tra il 41 e il 92% per l'ipoecogenicità, tra il 48 e il 92% per i margini irregolari, tra il 44 e il 95% per le microcalcificazioni e intorno all'80% per la vascolarizzazione intralesionale (62); nessuno di questi parametri è quindi da solo pienamente predittivo di malignità e inoltre l'accuratezza diagnostica risulta parzialmente inficiata da una bassa sensibilità. Più recentemente è stato inoltre proposto come ulteriore criterio di sospetto l'aspetto rotondo o "più alto che largo", ovvero la presenza di un diametro anteroposteriore maggiore di quello trasverso (63). Va detto infine che neppure combinando fra loro i vari parametri è possibile ottenere

adeguate sensibilità e specificità ai fini della diagnostica differenziale fra nodulo benigno e maligno (64,65), anche se la presenza contemporanea di due caratteri di sospetto aumenta nettamente il rischio di malignità (65,66). L'utilizzo dell'ecografia con mezzo di contrasto non ha fornito a tutt'oggi significativi miglioramenti delle performance diagnostiche rispetto all'utilizzo del solo color o power doppler (67); la valutazione elastosonografica della consistenza dei noduli appare un ulteriore strumento potenzialmente utile nella diagnosi differenziale delle neoformazioni tiroidee (68,69).

Il ruolo principale dell'ecografia deve quindi essere quello di consentire una valutazione preliminare delle masse cervicali, siano esse noduli tiroidei o linfonodi latero-cervicali, in modo da permettere un'adeguata selezione delle lesioni da sottoporre a esame citoaspirato, che rappresenta attualmente la metodica diagnostica più sensibile, soprattutto quando condotta mediante guida ecografica.

La scintigrafia con radioisotopi del Tecnezio o dello Iodio è stata utilizzata per lungo tempo allo scopo di visualizzare la tiroide e calcolarne il volume, anche se attualmente è stata soppiantata dall'ecografia, di gran lunga più accurata (70). L'indicazione all'esecuzione di questo esame è ancora valida quando si voglia valutare l'attività funzionale di un nodulo, ovvero in presenza di valori di TSH ridotti o francamente soppressi. Il riscontro di una lesione ipercaptante con inibizione del rimanente parenchima tiroideo consente di identificare un nodulo autonomo e inibente, pressoché invariabilmente di natura benigna (1,27). Va precisato che il potere di risoluzione della metodica è piuttosto limitato e consente l'identificazione di lesioni >1 cm (71). Inoltre in regioni a carenza iodica la scintigrafia ha un ruolo nel management del gozzo plurinodulare anche in presenza di valori di TSH solo modicamente ridotti in quanto consente l'individuazione precoce di noduli in via di autonomizzazione e di noduli indeterminati o

francamente ipocaptanti; non va comunque dimenticato che tra questi ultimi noduli il rischio di malignità varia tra il 3 e il 15% e sono pertanto candidati all'esecuzione del citoaspirato (29,72). Notevole importanza ha la valutazione scintigrafica total body con 131-I nel follow-up di pazienti operati per carcinoma tiroideo differenziato allo scopo di identificare eventuali localizzazioni metastatiche linfonodali o a distanza, in particolare in caso di persistenza di anticorpi antitireoglobulina dosabili.

Nella diagnostica del nodo tiroideo le tecniche di imaging più complesse trovano indicazioni limitate: tomografia computerizzata (TC) e risonanza magnetica (RMN) non offrono apprezzabili vantaggi rispetto all'ecografia se non in casi particolari, quali lo studio di gozzi a prevalente sviluppo retrosternale (73) o la ricerca di metastasi non captanti (74). La tomografia ad emissione di positroni (PET) attualmente riveste un ruolo diagnostico e prognostico per le lesioni tumorali scarsamente differenziate non captanti lo 131-I, sia primitive sia secondarie (75).

La radiografia standard della trachea è un'indagine utile nella diagnostica di primo livello in pazienti portatori di gozzo voluminoso allo scopo di identificare l'eventuale impegno retrosternale o la compressione tracheale (76).

Esame citologico mediante biopsia con ago sottile (FNAB)

L'esame citoaspirato o FNAB rappresenta attualmente la metodica più sensibile per la tipizzazione diagnostica dei noduli tiroidei (14,72,77,78). Si tratta di un esame sostanzialmente privo di complicanze, di facile esecuzione e non eccessivamente costoso, ma non del tutto privo di limiti. Tra questi vanno ricordati sia la presenza di una quota, variabile tra il 25% e il 30%, di campioni inadeguati o indeterminati, sia la presenza di una,

seppur minima, percentuale di falsi negativi (tra l'1 e il 10%) (79).

Nei centri dotati di una buona esperienza, il citoaspirato consente di ridurre gli interventi di tiroidectomia “diagnostica” fino al 50% (80), contribuendo quindi a ridurre di circa il 25% il costo complessivo delle procedure mediche per questa patologia (1).

Il materiale prelevato è idoneo per un giudizio citologico nell'80% dei casi o anche più (81,82) se l'agobiopsia viene guidata dall'ecografia (83,84,85). L'idoneità del materiale citologico risulta fortemente dipendente dall'esperienza dell'operatore, dal numero di campionamenti eseguiti sullo stesso nodo, dalle caratteristiche cito-istologiche intrinseche del nodulo e infine dai criteri usati dal citopatologo per definire l'adeguatezza del prelievo. Anche se quest'ultimo aspetto è di difficile standardizzazione (86), si dovrebbe considerare adeguato uno striscio contenente almeno 6 clusters di cellule ben conservate, ognuno dei quali composto almeno da 10 cellule (87). In caso di esiguità del materiale ottenuto, e conseguente inidoneità a un giudizio diagnostico, l'agobiopsia può essere ripetuta.

La diagnosi citologica risulta quindi articolata in classi; la classificazione attualmente adottata da AACE/AME/ETA è organizzata in 5 classi (TIR 1-5) e si basa sia sulle linee guida sul cancro tiroideo curate dalla British Thyroid Association (2002-2006), sia sui risultati della Consensus italiana SIAPEC-IAP del 2008 (88,89). Più in dettaglio, la classe TIR 1 corrisponde ad un esito citologico non diagnostico per inadeguatezza del materiale, per cui è indicata la ripetizione della biopsia, eccetto che nei casi di nodo cistico; la classe TIR 2 indica una lesione benigna; la classe TIR 3 comprende le lesioni follicolari di natura indeterminata, nell'80% circa di natura benigna, ma tipizzabili unicamente mediante esame istologico; la classe TIR 4 indica lesioni altamente sospette per malignità; la classe TIR 5 corrisponde a lesioni maligne, più frequentemente carcinomi tiroidei differenziati, ma anche tumori scarsamente differenziati o anaplastici, carcinomi midollari, linfomi o metastasi. Considerando solo i casi in cui

l'esame risulta adeguato, si può ulteriormente semplificare lo schema in 3 categorie, ovvero benigno, maligno e indeterminato (neoformazione follicolare).

Di fronte a una diagnosi di benignità (struma, cisti, tiroidite) la scelta terapeutica potrà essere effettuata integrando il giudizio citologico con il dato clinico, in funzione del quale potrà essere proposto un programma di follow-up o, alternativamente, un provvedimento terapeutico, medico o chirurgico (61).

In caso di diagnosi citologica di malignità la scelta elettiva è la chirurgia, con strategie diverse a seconda delle caratteristiche del tumore.

Per quanto riguarda le lesioni follicolari di natura indeterminata, ad oggi viene raccomandata l'exeresi nella maggioranza dei casi; se le caratteristiche cliniche, ecografiche e citologiche sono favorevoli, può essere indicato follow up nel tempo (88,89).

CAPITOLO 4

PRINCIPI FISICI DELLE'ECOTOMOGRAFIA TIROIDEA

Gli ultrasuoni sono delle onde sonore, simili a quelle del suono udibile, sono differenti da questo solo per la diversa frequenza ma con identici principi fisici. Il suono è costituito da onde di compressione e rarefazione del mezzo (es. aria o acqua) attraverso il quale le onde viaggiano. Mentre il suono udibile ha una frequenza compresa fra 20 e 20000 Hz, gli ultrasuoni impiegati a scopo diagnostico hanno frequenze generalmente comprese fra 1 e 15-20 Milioni di Hz (MHz).

Il suono udibile si diffonde abbastanza uniformemente in un ambiente anche in presenza di angoli o di ostacoli di varia natura aggirandoli (diffrazione del suono). Le onde sonore ad alta frequenza tendono a muoversi in modo nettamente più rettilineo comportandosi sempre più come una radiazione elettromagnetica e vengono riflessi come accade per i raggi (es. la luce). Data la loro bassa lunghezza d'onda vengono riflessi da oggetti anche molto piccoli e non si propagano facilmente in un gas come l'aria. La velocità di propagazione degli US in un determinato mezzo è costante ma varia a seconda del mezzo in cui si propagano. Gli US sono in generale generati da materiali con caratteristiche piezo-elettriche che hanno la caratteristica di vibrare quando viene applicata loro una corrente elettrica alternata e contemporaneamente di emettere una corrente elettrica quando vengono investiti da un onda ultrasonora (90). I cristalli piezo-elettrici funzionano quindi sia da emettitori sia da ricevitori di US. L'onda ultrasonora, una volta emessa, si propaga in modo lineare nel tessuto circostante ad una velocità che è determinata dal mezzo in cui il suono viene emesso. A partire dalla cute per arrivare alle strutture corporee più profonde, tutto il nostro corpo è costituito da successive microscopiche inomogeneità che determinano il fenomeno alla base della diagnostica US: la riflessione dell'onda ultrasonora verso la sonda che la ha generata.

L'onda ultrasonora, quindi, ogni volta che nel suo cammino raggiunge una differenza d'impedenza acustica del mezzo di propagazione (interfaccia) viene in parte riflessa verso la sonda e in parte prosegue il suo cammino verso la profondità. Differenti interfacce provocheranno differenti percentuali di riflessione/trasmisione dell'onda ultrasonora: l'osso o l'aria determineranno una riflessione pressoché completa dell'onda mentre i liquidi come il sangue o la bile vengono attraversati con minima riflessione.

Il segnale riflesso dalle differenti interfacce ritorna alla sonda che l'ha emesso ma il tempo fra l'emissione del segnale US ed il ritorno dello stesso sarà diverso a seconda della distanza fra la sonda e l'interfaccia tissutale che lo ha generato. Il computer situato all'interno dell'apparecchio ecografico calcolerà la distanza intercorsa fra segnale emesso e segnale riflesso per ogni singola interfaccia costruendo così un'immagine sullo schermo.

A questa informazione va aggiunto il parametro dell'intensità (90). Abbiamo già descritto come la riflessione sia differente a seconda della differenza di impedenza acustica fra le diverse strutture corporee incontrate dal fascio di US: maggiore sarà la differenza di impedenza maggiore sarà l'intensità del segnale di ritorno. Questo parametro determinerà sullo schermo un'immagine tanto più chiara (o iperecogena) tanto maggiore sarà l'intensità del segnale e tanto più scura (o ipoecogena) tanto minore sarà la sua intensità.

Un ulteriore parametro incide, tuttavia sulla intensità del segnale di ritorno: l'attenuazione. Come abbiamo detto per ogni interfaccia incontrata una parte del fascio US viene riflesso verso la sonda ed una parte prosegue verso la profondità, per questa ragione la quantità di US che proseguono il cammino verso la profondità va costantemente riducendosi man mano che

si incontrano successive interfacce. Questo fenomeno prende il nome di attenuazione. L'attenuazione del segnale US dipende dunque dal numero e dalla differente impedenza acustica delle diverse interfacce.

L'immagine che corrisponde a quanto è stato fin'ora esposto non assomiglia però a quanto siamo abituati a vedere su un moderno apparecchio: abbiamo infatti descritto un'immagine "monodimensionale" o A-mode come viene anche definita. Per passare da un'immagine monodimensionale ad una immagine ecografica bidimensionale o B-mode è necessario che il trasduttore dopo aver emesso e ricevuto il segnale US lo memorizzi ed emetta e riceva un secondo segnale investigando una porzione di segmento corporeo (o linea di vista) contiguo rispetto al precedente. Questa operazione viene ripetuta molteplici volte al secondo fino a formare una immagine ecografica panoramica costituita da numerose linee di vista adiacenti.

Gli US impiegati in diagnostica per immagini hanno un range generalmente compreso fra 1 e 15 MHz, questa variazione molto ampia delle frequenze utilizzabili comporta alcune ulteriori ed importanti implicazioni fisiche ma soprattutto diagnostiche nell'impiego degli US (91).

Più elevata è la frequenza impiegata più corta sarà la lunghezza d'onda del fascio di US. Questo comporta che quanto minore sarà la lunghezza d'onda (e maggiore la frequenza) tanto più piccolo sarà l'oggetto in grado di determinare una riflessione dell'onda US e viceversa.

Questo concetto apparentemente marginale è alla base della risoluzione spaziale degli US. Nella pratica sonde a più elevata frequenza permetteranno di identificare oggetti o dettagli anche di piccolissime dimensioni. Dall'altro lato minore è la frequenza e minore sarà l'attenuazione in profondità determinando la possibilità di studiare strutture anatomiche poste anche a molti centimetri dal piano cutaneo.

In pratica la scelta della frequenza da utilizzare è un costante compromesso fra risoluzione spaziale, che vorremmo sempre più elevata, e necessità di

studiare strutture anatomiche poste anche in profondità.

Le sonde ecografiche

Per permettere uno studio adeguato sia delle strutture superficiali, con frequenze elevate, sia delle strutture profonde, con basse frequenze, è necessario disporre di diversi trasduttori o “sonde” dotati di cristalli piezoelettrici in grado di emettere ultrasuoni alla frequenza più adeguata alle diverse necessità diagnostiche. Esistono, pertanto, sonde adeguate allo studio degli organi profondi con frequenze comprese fra 2 e 5 MHz e sonde dedicate allo studio delle strutture anatomiche più superficiali con frequenze comprese fra 7 e 15 MHz (90).

Indipendentemente dalla frequenza le sonde ecografiche si differenziano anche per la modalità di funzionamento. All’inizio della storia dell’ecografia la maggior parte delle sonde erano di tipo “meccanico” e cioè erano costruite con all’interno un piccolo motore elettrico che faceva muovere un unico grosso cristallo piezoelettrico con un movimento oscillante in modo tale da costruire un’immagine ecografica di tipo approssimativamente triangolare o a “ventaglio”. Oggi questo tipo di tecnologia gravata da frequenti possibilità di malfunzionamento e da un peso non indifferente è pressoché completamente sostituita dalle sonde di tipo elettronico. Nelle sonde elettroniche non esiste un solo cristallo ma bensì una serie o “array” molto numerosa (da 256 a diverse migliaia) di cristalli disposti uno vicino all’altro ed eccitati elettronicamente uno dopo l’altro in modo tale da produrre una immagine ecografica.

Esistono trasduttori con disposizione “Lineare” dei cristalli, indicate per lo studio di superfici corporee rettilinee in cui i cristalli, disposti su una superficie lineare, emettono un fascio di US paralleli e permettono di esplorare la superficie corporea posta al di sotto della sonda e trasduttori con disposizione dei cristalli di tipo curvilineo, “convex” o “sector” in cui i cristalli disposti su una superficie curva emettono un fascio di US

divergente permettendo di esplorare una porzione corporea di dimensioni maggiori rispetto alla base di appoggio della sonda. Le sonde lineari sono maggiormente indicate per lo studio del collo, delle strutture muscolo-tendinee e dei vasi periferici, le sonde convex sono maggiormente indicate per lo studio degli organi addominali. Esistono poi sonde “endocavitarie” tali sonde permettono di studiare organi posti in profondità nel corpo umano ma utilizzando frequenze elevate in modo tale da ottenere un miglior dettaglio anatomico. Tale apparente contraddizione è risolta, ove anatomicamente possibile, introducendo la sonda in una cavità naturale o appositamente creata (sonde laparoscopiche o intraoperatorie) in modo tale da avvicinare la sonda all’organo da esaminare.

L’effetto Doppler e il Color Doppler

La sonda ecografica emette un’onda ultrasonora dotata di una determinata frequenza. Incontrando un qualsiasi oggetto una porzione dell’onda emessa viene rifratta e ritorna verso la sonda che la analizza contribuendo alla formazione dell’immagine ecografica. Quando l’oggetto incontrato dall’onda ultrasonora è fermo la frequenza dell’onda emessa e quella dell’onda ricevuta saranno uguali ma se l’oggetto incontrato è in movimento l’onda di ritorno avrà una frequenza diversa dalla frequenza emessa dalla sonda. Se l’oggetto si muove verso la sonda la frequenza dell’onda US sarà maggiore di quella originale mentre se l’oggetto si allontana dalla sonda la sua frequenza sarà inferiore.

Un apparecchio ecografico, dotato di analizzatore Doppler, sarà in grado di darci informazioni precise riguardanti la direzione e la velocità dei globuli rossi che circolano all’interno dei vasi esplorati dalla sonda ecografica (90, 91). Il sangue in movimento verrà rappresentato sullo schermo dell’ecografo come un insieme di puntini colorati in rosso o in blu (color Doppler) che ci indicheranno la presenza del movimento, la direzione dello

stesso e, con una buona approssimazione, la velocità del sangue circolante nel tratto di vaso esaminato.

Volendo ottenere una maggior precisione nella valutazione della velocità del sangue sarà possibile rappresentare il flusso ematico anche mediante un'onda che riproduce, istante per istante, la velocità massima, media e minima dei globuli rossi. Tale rappresentazione, sicuramente più precisa, è tuttavia utilizzabile solo per analizzare una piccola area di un vaso in cui si sospetti la presenza di una stenosi o di un'altra alterazione vascolare.

Elastosonografia

L'elastografia, la scienza della creazione di immagini non invasive delle caratteristiche elastiche dei tessuti è in rapida evoluzione negli ultimi anni. Le proprietà meccaniche rilevate dalla palpazione e l'elastografia sono associate con le forze elastiche del tessuto che resistono ad un tipo di deformazione (cambiamento di forma) noto come "Shear Stress" o tensione tangenziale. Nessun metodo permette di valutare direttamente le proprietà elastiche di un tessuto. I sistemi elastografici utilizzano una modalità di imaging esistente, come l'ecografia e la RM, per:

- Osservare le deformazioni dei tessuti che si verificano in risposta ad una forza applicata.
- Convertire le informazioni risultanti in una forma adatta per la visualizzazione.

La velocità di propagazione (C_l) è legata alla densità del tessuto (ρ) e al modulo elastico dello stesso (K) " Nei tessuti, oltre all'onda longitudinale, si produce un'onda trasversale "Shear". La velocità (C_s) è determinata dalla densità del tessuto (ρ) e dal modulo elastico (G). Volendo fare un esempio più facilmente comprensibile è sufficiente pensare ad una goccia che cade in un liquido: l'impatto della goccia produrrà un'onda di compressione longitudinale verso il basso corrispondente al modulo

elastico longitudinale K e, contemporaneamente, delle onde circolari concentriche, che si allontanano dal punto di impatto, corrispondenti al modulo trasversale G . Mentre il modulo K (onda longitudinale – B-mode) varia di circa il 12% fra tessuto e tessuto il modulo trasversale G (Shear Wave – Elasto) varia di un fattore maggiore di 105. Questo determina un enorme potenziale di risoluzione di contrasto per differenti tessuti e lesioni che non può essere rilevato dalla sola ecografia in B-mode. È possibile dividere le differenti tecnologie in due principali categorie:

1) Tecnologie che impiegano una forza soggettiva e non quantificabile. Queste permettono una valutazione qualitativa e non quantitativa del modulo G .

2) Tecnologie in grado di valutare la forza impiegata per interrogare il tessuto che permettono una valutazione diretta e quantificabile del modulo G .

Lo Shear Stress (90) può essere rappresentato da una mappa di elasticità (elastogramma) e/o come una misura quantitativa, in due modi:

- . 1) Lo spostamento del tessuto e i valori di deformazione o “Strain” possono essere rilevati e visualizzati direttamente come una mappa di elasticità
- . 2) I dati possono essere usati per registrare la propagazione delle onde di shear stress, e sono utilizzati per calcolare
 - . a) la loro velocità (m/s o KPa) mediante visualizzazione diretta dei valori nell’ambito di un volume campione o ROI.
 - . b) Mappe bidimensionali degli stessi.

Se volessimo fare un esempio in un ambito ecografico meglio noto fra l’uno e l’altro dei due metodi corrono differenze simili a quanto avviene fra Color Doppler e Doppler spettrale in cui il primo dà una immagine generale di un evento emodinamico ma dobbiamo ricorrere al secondo quando vogliamo ottenere un valore quantitativo di velocità o resistenza di un flusso.

Le differenti tecnologie impiegate per produrre immagini elastografiche sono fra loro più complementari che concorrenti soprattutto perché ognuna è in grado di meglio valutare differenti proprietà elastiche dei tessuti (91).

CAPITOLO 5

PARTE SPERIMENTALE

Premesse e scopo dello studio

L'American Cancer Society ha stimato 54.000 nuovi casi di cancro alla tiroide nel 2018. Nella maggior parte dei casi, il cancro alla tiroide si manifesta come un nodulo ghiandolare. Circa il 50% della popolazione presenta formazioni nodulari tiroidee, di cui solo il 5% risulta essere maligna (14). La biopsia per aspirazione con ago sottile (FNAB), con una sensibilità dell'89,16% e specificità del 98,77% (78), è considerata la tecnica gold standard per la diagnosi del carcinoma tiroideo (77, 78). Si tratta di un esame sostanzialmente privo di complicanze, di facile esecuzione e non eccessivamente costoso, ma non del tutto privo di limiti (79).

L'ecografia rappresenta l'esame cardine nella diagnostica e nel follow-up del nodulo tiroideo. E' stato infatti dimostrato come il suo impiego sia in grado di modificare il management clinico in circa il 60% dei pazienti, identificando nodi di diametro inferiore al centimetro, spesso non apprezzabili all'esame clinico (60). La metodica è in grado di fornire una stima accurata del numero, delle dimensioni e della natura solida o cistica dei noduli presenti, oltre che della presenza di alterazioni diffuse della struttura tiroidea, rivelandosi quindi particolarmente utile nella diagnosi differenziale delle neoformazioni tiroidee (61).

Attualmente, l'ecografia assume quindi un ruolo cardine nella patologia tiroidea, rappresentando uno strumento indispensabile per l'endocrinologo nell'attuazione delle strategie diagnostico-terapeutiche, consentendo una valutazione preliminare delle formazioni nodulari tiroidee in modo da permettere un'ideale selezione delle lesioni da sottoporre a esame

citoaspirato.

Nel campo ingegneristico, nell'ultimo decennio, molti ricercatori hanno esplorato da un punto di vista quantitativo le potenzialità dell'analisi della struttura degli ultrasuoni nella diagnosi differenziale delle neoformazioni tiroidee. In particolare, sono stati sviluppati sistemi di diagnostica assistita da computer (CAD) per differenziare i noduli tiroidei utilizzando diversi metodi di estrazione delle caratteristiche e modelli di classificazione, con risultati preliminari promettenti (92-93), effettuati tuttavia su campioni limitati.

Scopo del nostro studio, tuttora in corso, intrapreso nel 2014 in collaborazione con il Politecnico di Torino, è stato quello di sviluppare un software diagnostico ecografico tiroideo che permetta di effettuare una diagnosi di differenziazione, per quanto possibile oggettiva, tra le formazioni nodulari tiroidee benigne e quelle maligne.

Questo progetto fa parte di un main-project della cosiddetta "intelligenza artificiale" applicata alla diagnostica ecografica tiroidea. Il main-project è la costruzione di un'intelligenza artificiale, ossia di una macchina che affianca il medico ecografista in una diagnosi di differenziazione, per quanto possibile oggettiva, dei nodi benigni da quelli maligni. L'oggettivazione di questo percorso consiste nel rendere in grado la macchina di esprimere in termini numerici probabilistici quella che può essere l'ipotesi diagnostica, avendo imparato a riconoscere i caratteri ecografici del nodo che più frequentemente si associano a malignità.

Il nostro progetto dal punto di vista operativo consta di tre momenti:

a) Costruzione del modello operativo

Descrizione appropriata, completa e schematica dei segni ecografici riferiti alle varie tessiture nodulari tiroidee benigne e maligne.

b) Estrazione-comparazione

Analisi delle caratteristiche ecografiche del nodulo tiroideo estratte quantitativamente dall'immagine ecografica e successivo confronto con la classificazione fornita dal modello operativo, al fine di utilizzare i classificatori più funzionali al progetto di costruzione dell'algoritmo diagnostico.

c) Costruzione dell'algoritmo

Realizzazione delle procedure informatiche necessarie per classificare i vari segni ecografici e attribuirli "pesati" (sia in funzione di fattori intrinseci al segno stesso che fattori estrinseci), per compiere le operazioni di confronto fra esame estemporaneo e l'archivio della banca dati della macchina e le procedure informatiche per esprimere in termini probabilistici l'ipotesi diagnostica.

COSTRUZIONE DEL MODELLO OPERATIVO

Soggetti e metodi

Al momento attuale sono state selezionate per il nostro studio 400 formazioni nodulari tiroidee, reclutate durante la normale attività clinica ecografica e di agoaspirato effettuata c/o il dipartimento di Endocrinologia dell'ASO Città della Salute e della Scienza di Torino nel periodo compreso tra novembre 2014 e settembre 2017.

Al momento del reclutamento, 280 formazioni nodulari presentavano già un inquadramento dal punto di vista funzionale nell'ambito della patologia tiroidea (TSH, fT4) e una diagnosi citologica e/o istologica dirimente.

Le restanti 120 formazioni nodulari sono state sottoposte a valutazione funzionale (dosaggio di TSH, fT4), FNAB e successiva eventuale exeresi chirurgica.

Tutte le formazioni nodulari sono state sottoposte ad indagine ecografica con scansioni B-Mode longitudinali, vascolare con ecocolor-doppler, e sonoelastografica mediante elastosonografia qualitativa.

L'indagine ecografica è stata effettuata con un ecografo ad alta tecnologia (Ecografo Esaote My Lab) con sonda ad alta risoluzione (13 MHz), dotato di tutti gli algoritmi e software indispensabili per questo tipo di progetto.

Durante la prima fase del progetto sono state selezionate una serie di immagini morfologiche, vascolari, elastosonografiche relative a:

1. Patologia nodulare strumigena eutiroidea/ipotiroidea (350 casi)

2. Patologia nodulare neoplastica eutiroidea/ipotiroidea (carcinoma capillifero, follicolare, midollare, anaplastico: 50 casi)

Da ogni immagine morfologica, vascolare ed elastosonografica sono stati estratti i vari elementi di semeiotica che caratterizzano ogni tipologia di immagine, riferite ai vari tipi di malattia, istologicamente e/o citologicamente categorizzati.

Gli elementi di semiotica analizzati sono quelli ritenuti più significativi per sospetto di malignità secondo la nostra esperienza e secondo la letteratura (19,20): in particolare sono state seguite le indicazioni fornite dall'*American Association of Clinical Endocrinologists* (AAACE), dall'*Associazione Medici Endocrinologi* (AME), dall'*European Thyroid Association* (ETA) e dall'*American Thyroid Association* (ATA). Sono stati valutati: l'ecogenicità intranodulare e quella parenchimale tiroidea circostante, la struttura, i margini, la presenza di calcificazioni, la presenza di aree cistiche contestuali, la forma, la vascolarizzazione e l'elastosonografia. Inoltre ogni nodulo è stato sottoposto a valutazione dimensionale (diametro longitudinale e antero-posteriore).

Ogni elemento è stato scomposto in elementi secondari relativi ai vari aspetti morfologici che può presentare, ossia è stato ricategorizzato in rapporto a vari gradi o tipi di caratterizzazione tessutale (ad esempio, l'ecogenicità è classificata come normoecogena, ipoecogena, iperecogena, anecogena); ogni componente è stata ulteriormente ricategorizzata in sottotipi di caratterizzazione tissutale (lievemente ipocoecogena, mediamente ipoecogena, chiaramente ipoecogena).

Sono stati presi in considerazione pertanto i seguenti pattern ecostrutturali, vascolari ed elastosonografici (Fig.1):

-Ecogenicità tiroide, 18 categorie (ipoecogena, isoecogena, iperecogena, poco, medio, molto, di grado maggiore e minore)

- Ecogenicità nodulo, 19 categorie (cisti, ipoecogena, isoecogena, iperecogena, molto, medio, poco, di grado maggiore e minore, cisti con setti, con aggetti, senza setti né aggetti)
- Struttura nodulo, 12 categorie: (omogenea, disomogenea, molto , medio, poco, di grado maggiore e minore)
- Margini, 36 categorie (lineare, corrugato, spicolato, mammellonato, di grado lieve, medio, elevato, con halo sign completo, con halo sign incompleto, senza halo sign)
- Calcificazioni, 12 categorie (microcalcificazioni senza riverbero, micro con cono d'ombra, micro con comet tales, piccole calcificazioni, macrocalcificazioni, calcificazioni a guscio, poche, numerose)
- Cisti, 27 categorie (microcisti/spongiforme, piccole cisti, grandi cisti, con spots riverberanti, senza spots riverberanti, con aggregati fibrinici, poche, numerose)
- Forma, 3 categorie (più alta che larga, più larga che alta, sferico)
- Vascolarizzazione, 12 categorie (periferica, intranodale a canestro, intranodale anarchica, periferica ed intranodulare, debole, media, vivace)
- Elastosonografia, 5 categorie (elastico, intermedio prevalentemente elastico, intermedio prevalentemente rigido, rigido, a bande)

6. ECOGENICITA' SIMILE	a ipo	1->3	a,b	grado di ipo, iper, isocogenicit�	:	1 poco 2 medio 3 molto	a: grado minore h: grado maggiore
	b ipo	1->3	a,b				
	c iper	1->3	a,b				
1. ECOGENICITA'	a ipo	1->3	a,b	grado di ipo, iper, isocogenicit�	:	1 poco 2 medio 3 molto	a: grado minore h: grado maggiore
	b iper	1->3	a,b				
	c iso	1->2	o-setti				
	d cisti	1->2	f-oggetti g-senza setti n� oggetti				
2. STRUTTURA	a-omogenea	1->3	a,b	grado di omogeneit� e disomogeneit�	:	1 poco 2 medio 3 molto	a: di grado minore. h: di grado maggiore
	b-disomogenea	1->3	a,b				
3. MARGINI	a-lineare	1->3	g, h, i	margini 1 sfumato 2 completo 3 incompleto	:	g con halo sign sottile h con halo sign spesso i senza halo sign	
	b-corrugato	1->3	g, h, i				
	c-spicolato	1->3	g, h, i				
	d-irregolare	1->3	g, h, i				
4. CALCIFICAZIONI	a-micro senza riverbero	1->2		1 completo m incompleto	:	1 poche 2 tante	
	b-micro con coma ostrua	1->2					
	c-micro con comet tails	1->2					
	d-piccole calcific <3 mm	1->2					
	e-macro > 3 mm	1->2					
f-guscio	1, m						
5. PRESENZA DI CISTI	a- microcisti- spongioso	1->3	n, o,p	numero di cisti: 1 poche 2 medio 3 tante	:	n con spot riverberanti o senza spot riverberanti p con aggregati fibrinici	
	b-piccole cisti	1->3	n, o,p				
	c-grandi cisti	1->3	n, o,p				
6. FORMA	a- pi� larga che alta				:		
	b- pi� alta che larga						
	c- sferica						
7. VASCOLARIZZAZIONE	a-periferica	1->3		grado vascolarizzazione: 1 debole 2 media 3 vivace	:	a ruota di carro. B anarchica	
	b-intrasollare	1->3					
	c-puri ed intra	1->3	a, b				
8. ELASTOSONOGRAFIA	a-elastico			1 prevalentemente elastico 2 prevalentemente rigido	:		
	b-rigido						
	c- intermedio	1,2					
	d- a bande						

Fig.1 Database di classificazione dei pattern ecografici tiroidei

Risultati

Patologia nodulare benigna

BENIGNI																		
0a1a	0a2a	0b	0a1b	0a2b	0a3a	0c	0c2b											
92	92	51	45	44	24	1	1											
1a1a	1c	1b1a	1a2a	1a1b	1b2a	1a2b	1d2f	1b1b	1b3a	1d2g	1a3a	1b2b	1d2e	1b3b	1d1e			
82	81	62	26	25	23	15	10	9	4	4	3	2	2	1	1			
2b1a	2b2a	2a1a	2b1b	2a2a	2b2b	2a3a	2a1b	2a2b	2a3b	2b3a								
103	65	42	33	30	28	20	10	8	5	5								
3a2g	3a2i	3a3g	3a3h	3a2h	3a3i	3a1g	3a1h											
210	71	56	7	2	2	1	1											
4d1	4e1	4c2	4c1	4d2	4e2													
8	3	2	1	1	1													
5b1o	5a1o	5a3p	5a1p	5b2o	5a2p	5b1p	5b2p	5a2o	5a2n	5a3o	5b2n	5c1o	5c1p	5a3n	5b3p	5a1n	5c1n	5c2p
44	43	24	22	22	18	13	11	9	5	5	5	4	4	3	3	2	1	1
6a	6c																	
335	15																	
7c2a	7c1a	7a2	7a1	7c3a	7b3	7c2b												
166	66	53	44	7	1	1												
8a	8c1	8c2	8b	8d														
121	103	14	8	1														

Fig.2: pattern ecografici delle formazioni nodulari benigne.

Per quanto concerne i noduli benigni abbiamo riscontrato la presenza di ecogenità parenchimale intranodale debolmente ipoecogena di grado minore (1a1a) e isoecogena (1c) rispetto al parenchima tiroideo circostante rispettivamente in 82 (23.4%) e 81 (23.1%) dei casi; in 62 (17.7%) dei casi l'ecogenità del tessuto intranodulare appare debolmente incrementata (1b1a) rispetto al tessuto extranodulare circostante. I pattern meno frequenti sono costituiti da tessuto intralesionale chiaramente ipoecogeno (1a3a, 3 casi, 0.8%) e chiaramente iperecogeno (1b3b, 1 caso, 0.2%) rispetto al parenchima tiroideo circostante; in un solo caso (0.2%) è stata rilevata la presenza di una formazione anecogena con setti interni (1d1e). In accordo con la letteratura (63) e la pratica clinica, la maggioranza (64.5%) delle formazioni nodulari tiroidee di natura benigna presenta un'ecogenità sovrapponibile e/o minimamente discordante rispetto al tessuto tiroideo extranodulare; nodimeno, solo in

percentuale trascurabile (1%, 4 casi), è stato riscontrato un pattern di ecogenicità chiaramente discordante dal tessuto tiroideo circostante.

Relativamente all'ecogenicità del tessuto parenchimale extranodale, nel 79 % dei casi (227 osservazioni) il tessuto ghiandolare si presenta normale (0c) o con ecogenicità minimamente ridotta (0a1a, 0a1b) rispetto all'atteso; nel 19% delle osservazioni (68 casi) l'ecogenicità parenchimale è moderatamente (0a2b) o chiaramente ridotta (0a3a), in accordo con i dati relativi alla prevalenza della patologia tiroidea ad eziologia autoimmune nella popolazione europea (94). Trascurabili (0.5% dei casi, 2 osservazioni) sono i pattern di ecogenicità incrementata (0c, 0c2b).

In 115 (32.8%) dei casi la struttura ghiandolare è omogenea (2a1a, 2a1b, 2a2a, 2a2b, 2a3a, 2a3b), mentre nei rimanenti 235 (67.2%) casi la struttura è stata classificata come disomogenea, seppure circa i 2/3 (116 osservazioni) di questi presentino una struttura minimamente disomogenea (2b1a, 2b1b).

Per quanto concerne i margini, nella totalità delle osservazioni si presentano lineari, di cui 283 (80%) risultano ben delimitati da halo sign sottile (3a2g) o spesso (3a2h), come atteso. Solo in una percentuale minima di casi (3.7%) i margini sono sfumati (3a1g, 3a1h), incompleti (3a2h) o non presentano orletto periferico (3a3i). Non si sono rilevati segni ecografici considerati suggestivi di malignità della lesione, come i margini corrugati (3b), spicolati (3c) o mammellonati (3d).

Solo in 16 (4.7%) noduli sono state osservate calcificazioni, costituite da piccole calcificazioni (4d1, 4d2), macrocalcificazioni (4e1, 4e2), microcalcificazioni con comet tails (4c1, 4c2). Non sono state rilevate microcalcificazioni (4a, 4b), caratteristica tipica delle lesioni sospette.

La presenza di formazioni cistiche intranodali è stata osservata in 239 (68%) dei casi; la maggioranza (52.7%) dei noduli benigni presentava microcisti o un pattern ecostrutturale di tipo spongiforme (5a), in accordo con i dati della letteratura (62-64), in particolare costituite da for-

mazioni microcistiche semplici senza spots riverberanti o aggregati fibrinici (5a1a). Nei rimanenti 35.3% e 12% dei casi le formazioni nodulari presentavano rispettivamente piccole cisti (5b) grandi (>1 cm) cisti (5c). La forma delle lesioni nodulari osservate è stata, nella quasi totalità (96%) dei casi, più larga che alta, ossia caratterizzata da un diametro longitudinale prevalente rispetto all'antero-posteriore, in accordo con i dati della letteratura (64). Il rimanente 4% dei casi presentava forma sferica. Non si sono osservati noduli con diametro antero-posteriore maggiore rispetto al longitudinale (taller than wide), caratteristica ecografica predittiva con elevati valori di sensibilità (84%) e specificità (82%) di malignità della lesione (63).

La vascolarizzazione dei noduli è risultata, nella quasi totalità (99%) dei casi, periferica (7a, 97 osservazioni) e peri-intranodulare (239 osservazioni), con spots vascolari in quest'ultimo caso disposti a canestro o a ruota di carro (7c2). Si è riscontrato solo 1 caso di vascolarizzazione intranodulare (7b3), tuttavia con distribuzione dei flussi omogenea.

Nel 97% delle lesioni benigne osservate l'indagine elastofonografica ha evidenziato una struttura parenchimale elastica (8a) o con elasticità intermedia (8c) nel 97% delle osservazioni, come atteso. Nel rimanente 3 % dei casi il pattern sonoelastografico è risultato rigido (8b).

Patologia nodulare maligna

MALIGNI															
0b	0a2a	0a1b	0a2b	0a1a	0a3a										
13	12	10	8	5	2										
1a3a	1a2b	1a2a	1a3b	1a1a	1a1b	1b1a	1b3a								
27	8	5	4	3	1	1	1								
2b2a	2b2b	2b3a	2b1a	2b3b	2b1b										
19	13	8	6	3	1										
3c1h	3c1l	3b1h	3d1l	3d1h	3b1l	3d3h	3a1g	3a1h	3a2l	3b1g	3b2h	3b3g	3b3h	3d1g	3d2l
11	10	6	5	4	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
4d2	4e1	4e2	4d1	4a2	4b1										
13	9	9	6	2	1										
5b1n	5b1p	5b1o	5b2n	5b2o											
2	2	1	1	1											
6a	6b	6c													
40	9	1													
7c2b	7c1b	7c3b	7b2	7a1	7b1	7b3	7c1a	7c3a							
21	7	7	5	2	2	2	1	1							
8b	8c1	8c2	8a												
22	10	6	1												

Fig.2: pattern ecografici delle formazioni nodulari maligne.

Per quanto concerne le 50 formazioni nodulari maligne, l'ecogenicità parenchimale intranodale è nettamente ipoecogena (1a3a, 1a3b) rispetto al parenchima tiroideo circostante rispettivamente in 44 (82 %) casi; l'ecogenicità del tessuto intranodulare appare debolmente ridotta (1a1a, 1a1b) o incrementata (1b1a) rispetto al tessuto extranodulare circostante rispettivamente nel 7% e 1% dei casi. In accordo con i dati provenienti dalla letteratura (60-64), la maggioranza delle formazioni nodulari tiroidee di natura maligna presenta un'ecogenità ridotta di grado moderato o elevato rispetto al tessuto tiroideo circostante.

Relativamente all'ecogenicità del tessuto parenchimale extranodale, a differenza di quanto evidenziato per le lesioni nodulari benigne, solo nel 26 % dei casi (13 osservazioni) il tessuto ghiandolare presenta ecogenicità conservata (0c). L'ecogenicità parenchimale è nella maggioranza dei casi (70%) moderatamente (0a1a, 0a1b, 15 osservazioni) o chiaramente ridotta (0a2a, 0a2b, 20 osservazioni), suggerendo una possibile associazione tra patologia neoplastica tiroidea e tireopatia infiammatoria

diffusa ad eziologia autoimmune (94).

A differenza di quanto osservato nelle lesioni nodulari benigne, non è stato riscontrato nessun nodulo con ecostruttura omogenea (2a); tutti i nodi osservati presentavano un'ecostruttura disomogena, in particolare sono stati osservati gradi di disomogeneità moderata (2b2a, 2b2b) ed elevata (2b3a, 2b3b) rispettivamente nel 64% e nel 22% dei casi. Nei rimanenti 7 (2%) casi la struttura è stata classificata come lievemente disomogenea.

Per quanto riguarda i margini, come atteso, le formazioni maligne presentano solo in una percentuale minima di casi (6%) una morfologia regolare (3a). La maggioranza (42%, 21 osservazioni) presenta margini spicolati (3c) seguita, in entrambi i casi con percentuali del 26%, da margini con morfologia corrugata (3b) e mammellontata (3d). Inoltre, la quasi totalità dei margini (92% dei casi) si presenta sfumata, non delimitata da halo sign o con halo sign ispessito.

Nell'80% (40 osservazioni) dei casi si sono osservate calcificazioni; nel 46% (19 osservazioni) e nel 44% (18 osservazioni) queste erano costituite rispettivamente da macrocalcificazioni (4e1, 4e2) e piccole calcificazioni di diametro <3 mm (4d1, 4d2). Microcalcificazioni (4a, 4b) si sono osservate nel restante 10% dei casi. Anche per quanto concerne questo parametro, è risultato essere presente in maniera significativa nei noduli maligni e assente nelle lesioni tiroidee benigne, in accordo con i dati presenti in letteratura (62).

La presenza di formazioni cistiche intranodali è stata osservata solo in 7 noduli (14% dei casi). Le formazioni osservate erano costituite principalmente da piccole cisti con spot riverberanti (5b1n, 5b2n) o con aggregati fibrinici (5b1o, 5b2o). Non è stato rilevato alcun caso di pattern microcistico e/o spongioso, tipico delle formazioni nodulari benigne.

In maniera simile a quanto osservato nelle lesioni benigne, seppure con percentuali inferiori, la forma delle lesioni nodulari osservate è stata nel-

la maggioranza dei casi (80%) più larga che alta (6a). Nel rimanente 18% dei casi (9 osservazioni) si sono osservati noduli con diametro antero-posteriore maggiore rispetto al longitudinale (taller than wide), caratteristica ecografica predittiva con elevati valori di sensibilità (84%) e specificità (82%) di malignità della lesione (63).

A differenza di quanto osservato nelle lesioni benigne, la vascolarizzazione dei noduli è risultata, nella quasi totalità (96%) dei casi, intranodale (7b2,7b3) e peri-intranodulare (7c1b, 7c2b, 7c3b), con spots vascolari in quest'ultimo caso disposti in maniera anarchica all'interno del parenchima nodulare. Solo in 2 casi la vascolarizzazione è risultata perinodulare (2 osservazioni, 4% dei casi).

Nel 75% dei noduli maligni l'indagine elastofonografica ha evidenziato un pattern sonoelastografico rigido (8b) o caratterizzato da prevalentemente rigidità tissutale (8c2), come atteso. Nel rimanente 25% dei casi il pattern sonoelastografico è risultato intermedio con prevalenza di aree elastiche (8c1, 24% dei casi) o francamente elastico (8a, 1% dei casi).

ESTRAZIONE-COMPARAZIONE

In questa fase del progetto, avvenuta in collaborazione con il Politecnico di Torino, le immagini ecografiche morfologiche, vascolari ed elastosonografiche relative alle 400 lesioni nodulari reclutate e sottoposte a classificazione durante la prima fase dello studio, sono state analizzate da un punto di vista quantitativo attraverso il posizionamento di ROI (region of interest) all'interno della lesione nodulare e nel tessuto tiroideo circostante con analisi della trama tissutale.

Successivamente, è stato effettuato un confronto tra le caratteristiche del nodulo tiroideo estratte automaticamente dall'immagine e la classificazione ottenuta nella prima fase dello studio, al fine di individuare i descrittori maggiormente funzionali allo sviluppo di algoritmi diagnostici.

Soggetti e metodi

Il campione in analisi consisteva di 350 immagini ecografiche relative a formazioni nodulari tiroidee, costituite da 300 lesioni benigne (Thy2 e/o struma) e 50 lesioni maligne (Thy4, Thy5 e/o carcinoma papillare/follicolare).

Sono state escluse 50 immagini relative a nodulazioni benigne in quanto non funzionali al progetto e non sono state analizzate, per problematiche legate alla mancanza di ROI e descrittori di analisi tissutale adeguati, tutte immagini relative alla vascolarizzazione nodulare. Le immagini elastosonografiche non sono state prese in considerazione, in quanto sotto-

poste nella prima fase dello studio, unicamente ad analisi qualitativa.

Per ciascun nodo è stata analizzata l'immagine in longitudinale del nodulo in modalità B ad ultrasuoni, ottenuta con dispositivo a ultrasuoni MyLab Twice con un trasduttore lineare (codice LA533) con una larghezza di banda da 7,5 a 15 MHz.

Una regione di interesse (ROI) è stata posizionata sul nodulo tiroideo per ogni immagine da parte del medico ecografista utilizzando un'interfaccia utente grafica implementata in MATLAB. Con il termine “region of interest”, ROI, intendiamo una zona dell'immagine dalla quale si intende estrarre informazioni. Una ROI può essere estratta automaticamente o manualmente e può avere diverse forme (quadrata, rettangolare, ...). Negli studi quantitativi sui noduli tiroidei, data la difficoltà di identificare i margini del nodulo automaticamente, la ROI viene generalmente indicata manualmente da un operatore e viene posta in corrispondenza del nodulo tiroideo. Nel nostro studio, è stata data particolare attenzione al posizionamento della ROI per evitare di includere gli artefatti dei marker presenti sull'immagine. Gli eventuali artefatti rimanenti sono stati rimossi automaticamente cercando il modello all'interno del ROI e i pixel rimossi sono stati ripristinati approssimando il livello di grigio di ciascun pixel con il livello di grigio medio dei 3 pixel vicini .

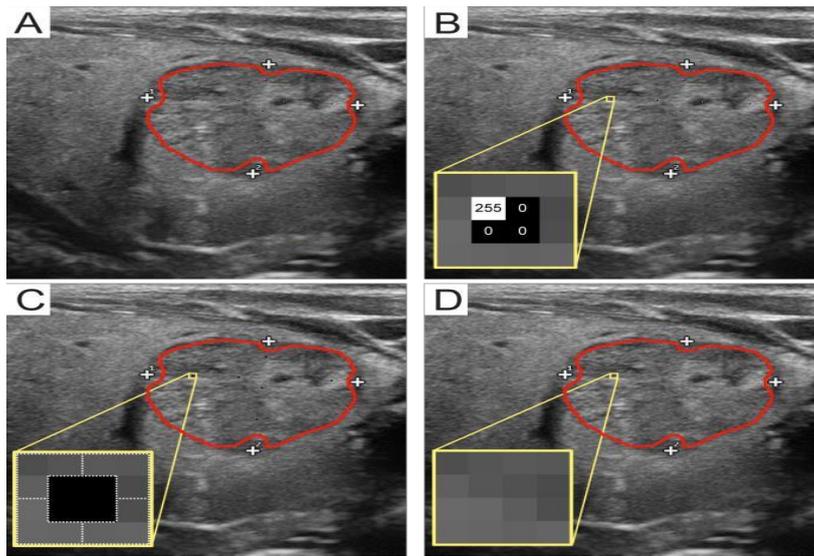


Fig. 4: risultati del restauro dell'immagine: (A) ROI (linea rossa) posizionata all'interno del nodulo tiroideo; (B) individuazione di eventuali artefatti; (C) rimozione di artefatti; (D) ogni pixel rimosso è stato ripristinato facendo la media dei livelli di grigio dei tre pixel vicini validi.

Ogni ROI è stata quindi sottoposta ad analisi tissutale, ovvero a tecniche di “Image Processing” che servono a valutare la tessitura di un'immagine o di regioni di immagine. In generale con l'analisi di tessitura si intende l'utilizzo di operatori matematici per descrivere e quantificare la presenza di pattern nella disposizione geometrica dei livelli di grigio (valore dei pixel) di un'immagine. Ci sono diversi metodi di analisi di tessitura: i più semplici sono i metodi statistici. Questi sono basati sull'istogramma dei valori di grigio dell'immagine dalla quale si estraggono descrittori come la media e la varianza (figura 5).

Altri metodi, utilizzati in particolare nella terza fase del nostro studio, estraggono descrittori riguardo la posizione relativa tra pixel con lo stesso livello di grigio fornendo informazioni su levigatezza, grossolanità e regolarità dell'immagine, come i descrittori di Haralick e di Galloway (figura 6). Un tipico sistema di classificazione di immagini mediche pre-

vede l'utilizzo di tecniche di analisi tissutale per estrarre dall'immagine caratteristiche potenzialmente discriminanti per la classificazione.

In particolare, in questa fase dello studio, sono stati utilizzati i metodi statici semplici catalogando l'ecogenicità del tessuto tiroideo perinodulare ed intranodulare attraverso l'analisi della media dei valori di pixel del parenchima in osservazione; la struttura del nodulo è stata valutata come la deviazione standard dei pixel del nodulo e la forma come l'eccentricità della nodulazione attraverso la misura del rapporto tra asse maggiore e asse minore.

Non sono state prese in considerazione i margini, le calcificazioni e la presenza di formazioni cistiche, in quanto al momento, siamo sprovvisti di adeguate ROI di detection e sono ancora in fase di sviluppo relative tecniche di "imaging processing".

Con tale metodo sono state estratte 25 caratteristiche di texture dalle ROI dell'immagine, suddivise come segue: 7 descrittori relativi all'ecogenicità della tiroide (molto ipoecogena, medio ipo, poco ipo, iso, poco iper, medio iper, molto iper); 9 descrittori relativi all'ecogenicità del nodulo (cisti anecogena, cisti ecogena, solida molto ipoecogena, medio ipo, poco ipo, iso, poco iper, medio iper, molto iper); 6 descrittori della struttura del nodulo (molto omogenea, medio omo, poco omo, poco disomogenea, medio disomogenea, molto disomogenea) 3 descrittori relativi alla forma (più alta che larga, più larga che alta, sferico).

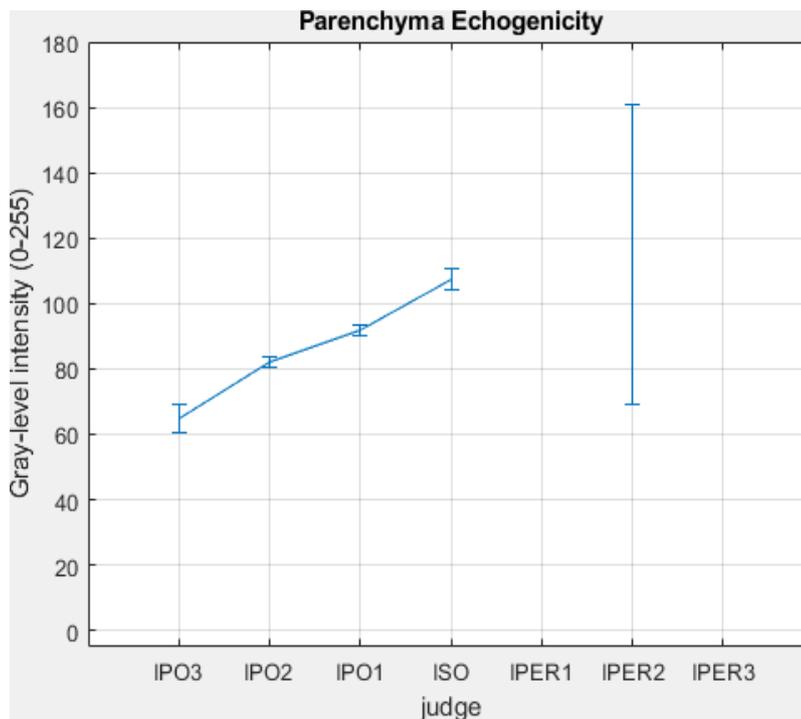
Le caratteristiche tissutali estratte e categorizzate con questo modello sono state successivamente confrontate con quelle analizzate nella prima fase del progetto al fine di verificare la concordanza tra la tecnica di analisi qualitativa e quella quantitativa dell'immagine ecografica e di individuare i descrittori maggiormente funzionali per la costruzione dell'algoritmo diagnostico.

Risultati

Ecogenicità del tessuto tiroideo perinodulare

I diversi gradi di ecogenicità del tessuto tiroideo perinodulare analizzato quantitativamente, attraverso la misura della media e dell'intervallo di confidenza del valore medio dei pixel dell'immagine, sono risultati concordanti con quelli categorizzati durante la prima fase dello studio. Questa concordanza risulta maggiormente evidente per il tessuto ipoecogeno (molto ipoecogeno, 26 immagini; medio ipoecogeno, 156 immagini; poco ipoecogeno, 152 immagini) ed isoecogeno (64 immagini).

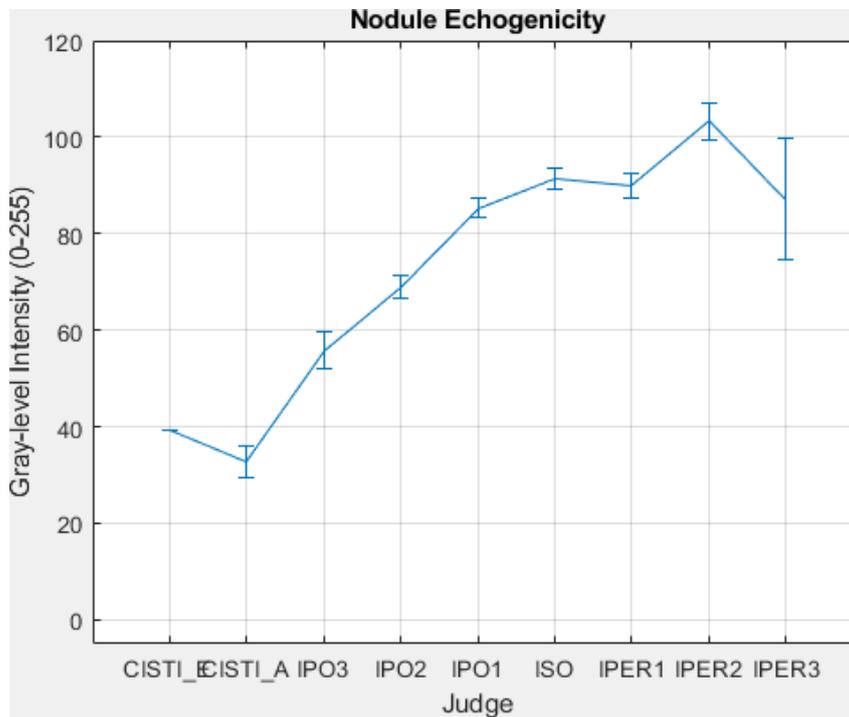
Scarsa concordanza si osserva invece per il tessuto perinodulare caratterizzato da echi aumentati, verosimilmente legato al numero ridotto di immagini ecografiche in esame (media iperecogenicità, 2 immagini, elevata iperecogenicità, 0 immagini).



Ecogenicità del tessuto intransulare

Osservando l'istogramma relativo ai differenti livelli di ecogenicità intransulare confrontati con metodo qualitativo e quantitativo, si apprezza una buona concordanza dei due metodi in esame nella discriminazione delle lesioni cistiche (cisti ecogena, 1 immagine; cisti anecogena 16 immagini) e solide (333 immagini). Inoltre, si osserva una buona capacità di differenziazione delle lesioni nodulari caratterizzate da ecogenità ridotta (molto ipoecogena, medio ipoecogena, poco ipoecogena, 302 immagini) che, tuttavia, tende progressivamente a ridursi con l'aumentare dell'ecogenicità dell'immagine. In particolare, l'analisi tissutale ha dimostrato scarsa capacità di differenziazione tra le lesioni isoecogene (81 immagini), debolmente iperecogene (72 immagini) e molto iperecogene (6 immagini), in cui il livello di intensità di grigi ri-

sulta parzialmente sovrapponibile.

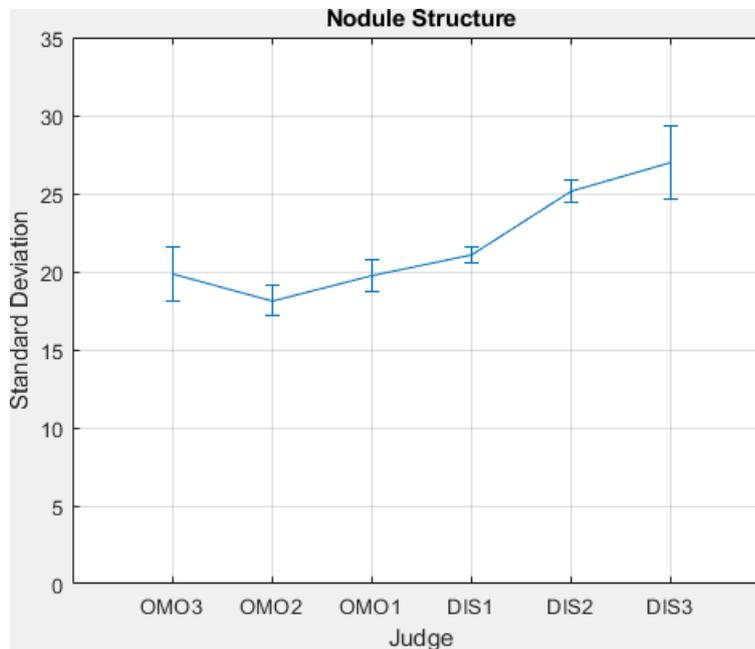


Ecostruttura del nodulo

L'istogramma relativo ai differenti gradi di omogeneità e disomogeneità tissutale, calcolati attraverso la media e l'intervallo di confidenza della deviazione standard dei pixel all'interno del nodulo tiroideo per ognuna delle categorie analizzate, ha messo in evidenza una ridotta performance dell'analisi quantitativa nella discriminazione delle differenti ecostrutture nodulari osservate. Questo deficit di differenziazione tissutale appare più marcato per le categorie relative alla omogeneità, dove i casi di omogeneità lieve (28 immagini) e marcata (52 immagini) risultano sovrapponibili.

Una migliore, seppure non significativa, capacità di differenziazione si

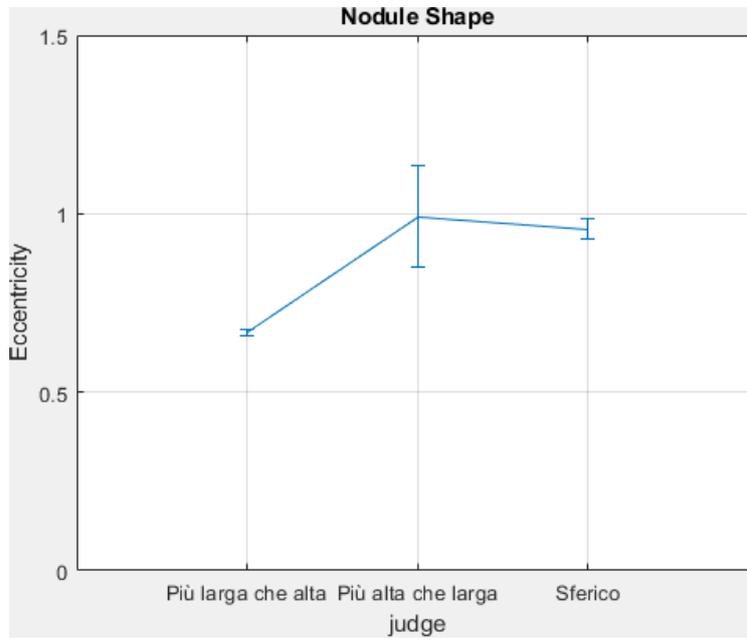
apprezza invece per le lesioni caratterizzate da disomogeneità strutturale (poco disomogenea, 144 casi; medio disomogenea, 125 casi, molto disomogenea, 16 casi).



Forma del nodulo

Relativamente all'analisi della forma del nodulo, la tecnica ha dimostrato buoni risultati nella differenziazione tra le lesioni nodulari più larghe che alte, ossia caratterizzate da un diametro longitudinale maggiore rispetto a quello antero-posteriore (325 immagini) e quelle più alte che larghe, ossia con un diametro antero-posteriore maggiore rispetto a quello longitudinale (9 immagini).

Anche per quel che riguarda la valutazione della forma del nodulo, tuttavia, l'analisi tissutale ha evidenziato alcuni limiti; in particolare si evidenzia un deficit di discriminazione tra le lesioni nodulari più alte che larghe (9 immagini) e quelle sferiche (16 immagini).



COSTRUZIONE DELL'ALGORITMO

La terza fase del progetto, proseguita sempre in collaborazione con il Politecnico di Torino, è stato costruito e testato un algoritmo diagnostico volto a discriminare le lesioni tiroidee benigne da quelle maligne attraverso un lavoro di analisi delle immagini nodulari precedentemente classificate e analizzate, mediante l'utilizzo delle componenti principali (PCA) e delle reti neurali (ANN).

Soggetti e metodi

Sono state escluse in questa fase dello studio le immagini ecografiche vascolari ed elastosonografiche relative ai 400 noduli tiroidei, in quanto non funzionali ad un'analisi quantitativa e 90 immagini ecografiche B-Mode relative a lesioni tiroidee benigne più rappresentative o con settaggio non adeguato.

Il campione finale in analisi consisteva di 260 formazioni nodulari tiroidee, costituite da 210 lesioni benigne (Thy2 e/o struma) e 50 lesioni maligne (Thy4, Thy5 e/o carcinoma papillare/follicolare).

Per ciascun nodo è stata analizzata la regione di interesse (ROI), utilizzando quelle già posizionate nella fase di studio precedente.

Per quel che riguarda l'analisi di tessitura sono stati utilizzati, oltre ai metodi statistici semplici come la media e la varianza (figura 5), anche ulteriori metodi più complessi relativi alla levigatezza, grossolanità e regolarità dell'immagine, come i descrittori di Haralick e di Galloway (figura 6).

In particolare, nel nostro studio sono state estratte 45 caratteristiche di texture dalle ROI dell'immagine, suddivise come segue: 5 descrittori statistici del primo ordine (concettualmente collegati all'ecogenicità del tes-

suto), 20 caratteristiche di Haralick e 20 caratteristiche di Galloway (legate ai diversi gradi di omogeneità e disomogeneità ecostrutturale della lesione). La matrice della feature totale consisteva di 260 righe (osservazioni) e 45 colonne (caratteristiche). Ogni colonna è stata quindi normalizzata per avere media zero e unità di varianza.

FIRST ORDER TEXTURE DESCRIPTORS EXTRACTED	
Descriptors	Mathematical definition
Mean (m)	$m = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N I(x_i, y_i)$
Variance (σ^2)	$\sigma^2 = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (I(x_i, y_i) - m)^2$
Skewness (S_k)	$S_k = \frac{1}{N} \frac{\sum_{i=1}^N (I(x_i, y_i) - m)^3}{(\sigma^2)^{3/2}}$
Kurtosis (K)	$K_t = \frac{1}{N} \frac{\sum_{i=1}^N (I(x_i, y_i) - m)^4}{(\sigma^2)^2}$
Entropy (E)	$E = - \sum_{j=1}^{N_{bins}} p_j \log_2 p_j$

Figura 5: metodo statistico di primo ordine utilizzato per l'analisi tissutale relativa all'ecogenicità delle lesioni nodulari.

HARALICK FEATURES EXTRACTED	
Descriptors	Mathematical definition
Angular Second Moment (h_1)	$h_1 = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \{c(i, j)\}^2$
Contrast (h_2)	$h_2 = \sum_{n=0}^{N-1} n^2 \left\{ \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N c(i, j) \right\}$
Correlation (h_3)	$h_3 = \frac{\sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N (ij) c(i, j) - \mu_x \mu_y}{\sigma_x \sigma_y}$
Entropy (h_4)	$h_4 = - \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N c(i, j) \log(c(i, j))$
Inverse Difference Moment (h_5)	$h_5 = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \frac{1}{1 + (i-j)^2} c(i, j)$

Figura 6: descrittori di Haralick e di Galloway utilizzati per l'analisi tissutale relativa all'ecostruttura delle lesioni nodulari.

Il successivo step di analisi tissutale prevede l'utilizzo delle componenti principali (PCA) e delle reti neurali (ANN). Con PCA si intende il metodo statistico per estrarre pattern rilevanti all'interno di un insieme di dati. Spesso alcune caratteristiche sono correlate tra di loro o irrilevanti ai fini della classificazione. La PCA dato un insieme di dati, riesce a trasforma-

re le caratteristiche iniziali in nuove caratteristiche che siano più efficienti ai fini della classificazione. Nel caso dei noduli tiroidei, si estraggono N descrittori di tessitura da ogni immagine sia benigna che maligna. Alcuni di questi N descrittori possono essere correlati tra di loro, intendendo che forniscono la stessa informazione sull'aspetto del nodulo nell'immagine. Dunque, la PCA in questo contesto trasforma gli N descrittori a M nuovi descrittori che riescono a sintetizzare tutta l'informazione contenuta nei descrittori originali ma riducendone il numero ($M < N$). Questa tecnica migliora la classificazione data la riduzione di complessità del problema e l'eliminazione di dati superflui; pertanto la PCA mappa linearmente un insieme di funzionalità in un nuovo insieme di variabili chiamate componenti principali (PC) che sono linearmente non correlate e sono state selezionate un numero di PC che ha spiegato almeno il 99% della varianza totale dei dati.

Le reti neurali (ANN) sono invece tecniche di classificazione che prendono ispirazione dalla biologia del cervello umano. L'unità base di una rete neurale sono i neuroni, che si occupano dell'elaborazione del dato e sono organizzati in strati. Il primo strato di una rete neurale si occupa di ricevere i dati in ingresso (ad esempio i descrittori di tessitura), gli strati successivi elaborano i dati tramite operazioni matematiche, l'ultimo strato provvede a fornire il risultato della classificazione (ad esempio 0 se benigno e 1 se maligno). Ad esempio, nel nostro studio, in una prima fase chiamata addestramento o "learning phase", alla rete neurale vengono fornite immagini già classificate (training set) e la rete ottimizza la configurazione di parametri interni in modo da distinguere noduli benigni da maligni. In una seconda fase detta test, vengono fornite alla rete nuove immagini provenienti da entrambe le classi per misurare la sua performance. Più immagini vengono fornite nella fase di addestramento e più la rete riesce a distinguere le due classi. Le reti neurali hanno dimostrato

di avere una capacità superiore rispetto al resto delle tecniche di classificazione nell'identificare relazioni molto complesse rilevanti ai fini della differenziazione delle classi. Tuttavia, le prestazioni della classificazione dipendono in larga misura dalla scelta dei parametri del modello. In questo studio, il livello di input conteneva 12 neuroni (numero di variabili di input) e il livello di output di un neurone (0 per la previsione benigna e 1 per la previsione maligna). Sono state testate 5000 architetture ANN casuali con 3 diverse funzioni di attivazione (lineare, sigmoideo, tangente iperbolico). È stato utilizzato l'algoritmo Levenberg - Marquardt incluso nella cassetta degli attrezzi della rete neurale MATLAB. La convalida dell'holdout è stata utilizzata per scegliere il miglior modello ANN: il set di dati è suddiviso casualmente in set di allenamento (60%), set di sviluppo (20%) e set di test (20%). Ogni configurazione casuale viene quindi addestrata sul set di allenamento e testata sul set di sviluppo. Per selezionare il miglior modello ANN, abbiamo prima scartato ogni ANN producendo una differenza tra l'addestramento e l'accuratezza della convalida superiore al 2% per evitare reti che soffrono di sovradattamento. Quindi, abbiamo selezionato la ANN con la media più alta tra addestramento e precisione di sviluppo. Infine, il classificatore è stato testato sul set di test per stimare le sue prestazioni su dati non visibili.

Risultati

Abbiamo considerato i primi dodici componenti principali, al fine di catturare almeno il 99% dell'intera varianza dei dati. I PC che mostravano una maggiore correlazione con la verità di base risultavano essere il primo PC (0,25), il secondo (0,25) e il sesto (-0,36).

Il 1° PC è principalmente correlata al descrittore di Haralick [h 5 a 0° (0,90), 45° (0,96), 90° (0,96) e 135° (0,96)], ossia all'omogeneità dell'immagine valutata attraverso la misurazione dell'entropia dei pixel.

Il 2° PC è correlato con il descrittore Galloway [g 4 a 0° (0,93), 45° (0,96), 90° (0,96) e 135° (0,96)], che corrisponde alla "run length non-uniformity", la granulosità o asimmetria dell'immagine.

Il 6° PC ha mostrato una correlazione con il descrittore del primo ordine m (0,55) e K_t (-0,65): la media e la "kurtosis" dell'immagine, che corrispondono alla distribuzione simmetrica dei pixel all'interno dell'immagine.

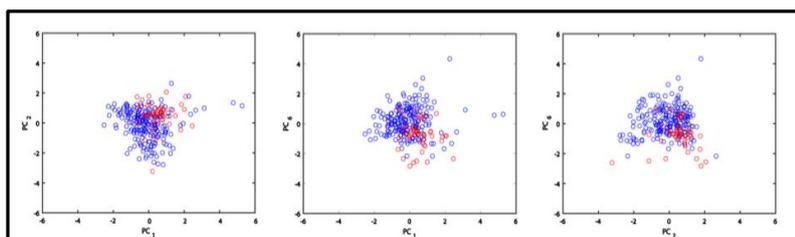


Figura 7: grafici a dispersione di dati lungo le direzioni dei componenti principali (PC). A sinistra: confronto tra il 1° e il 2° PC; al centro: confronto tra il 6° e il 1° PC; a destra: confronto tra il 6° e il 2° PC. I circoli blu e rossi rappresentano rispettivamente le lesioni nodulari benigne e maligne.

Dai grafici a dispersione lungo le componenti principali maggiormente correlati alla verità di base (primo, secondo, sesto), si osserva che, sebbene le formazioni nodulari maligne siano distribuite maggiormente in un quadrante, i due cluster non sono separabili tra loro con buona accuratezza.

Accuratezza della classificazione, sensibilità e specificità sono stati adottati per valutare le performances di classificazione. La Tabella 8 mostra l'architettura e le funzioni di attivazione del modello ANN selezionato. Il nostro metodo ha ottenuto una precisione di classificazione del 90,38% sul set di test; solo 3 noduli benigni su 42 sono stati predetti come maligni (falsi positivi) e 2 noduli maligni su 10 sono stati predetti come benigni (veri negativi), mostrando quindi una sensibilità e una specificità rispettivamente dell'83,33% e del 92,86%.

<i>ANN MODEL ARCHITECTURE AND ACTIVATION FUNCTIONS</i>	
<i>ANN Design</i>	<i>Properties</i>
Number of input variables	12 (PCs)
Number of hidden layers	7
Network configuration	[11,6,8,4,13,11,7]
Activation functions	[htan,htan,lin,htan,lin.htan,sig,htan]

htan = hyperbolic tangent, lin = linear, sig = sigmoid.

Figura 8: modello di ANN utilizzato per il nostro studio nell'analisi quantitativa delle lesioni tiroidee.

Discussione

L'American Cancer Society ha stimato 54.000 nuovi casi di cancro alla tiroide nel 2018 (14). In quest'ottica, l'ecografia della ghiandola tiroidea, esame cardine nella diagnosi delle neoformazioni nodulari tiroidee, sta diventando sempre più uno strumento fondamentale per l'endocrinologo nelle strategie diagnostiche e nella corretta gestione clinico-terapeutica dei noduli tiroidei.

Uno dei principali problemi che si trova ad affrontare un'ecografista della patologia tiroidea è quello di riuscire a trasformare un'impressione soggettiva in un qualche valore oggettivo in modo da poter essere meglio compreso da chi recepisce il messaggio ecografico.

Il nostro progetto, che fa parte di un main-project della cosiddetta "intelligenza artificiale" applicata alla diagnostica ecografica tiroidea, ha affrontato questo problema attraverso la costruzione di un modello e di un algoritmo diagnostico che permetta di differenziare in modo oggettivo la struttura dei tessuti nodulari tiroidei benigni da quelli maligni.

Nella prima fase del progetto, è stata effettuata una completa e schematica descrizione dei segni ecografici riferiti alle varie tessiture nodulari tiroidee benigne e maligne. I segni analizzati sono quelli ritenuti più significativi secondo la letteratura e la pratica clinica. Non sono state presi in considerazione alcuni caratteri come le adenopatie satelliti e segni di invasione di organi adiacenti, in quanto la diagnosi, scontata, non rientra nell'obiettivo dello studio ossia una diagnosi di identificazione precoce.

In accordo con i dati provenienti dalla letteratura (19,20) e dalla pratica clinica, nella maggioranza (64.5%) dei casi le formazioni nodulari tiroidee di natura benigna presenta un'ecogenità sovrapponibile e/o mi-

nimamente discordante rispetto al tessuto tiroideo extranodulare; nodimeno, solo in percentuale trascurabile (1%), è stato riscontrato un pattern di ecogenicità chiaramente discordante dal tessuto tiroideo circostante.

Per quanto concerne le 50 formazioni nodulari maligne studiate, l'ecogenicità parenchimale intranodale è risultata nettamente ipoecogena rispetto al parenchima tiroideo circostante nell' 82 % dei casi, in accordo con la letteratura (60) che identifica l'ipoecogenicità come la principale feature ecografica di sospetto, in particolare quando risulta nettamente ridotta rispetto al parenchima tiroideo circostante e al tessuto dei muscoli peritiroidei.

Risulta interessante notare come nel gruppo delle lesioni benigne, l'ecogenicità del tessuto perinodulare risulti ridotta in forma moderata/netta nel 19% dei casi, concordemente ai dati relativi alla prevalenza della patologia tiroidea ad eziologia autoimmune nella popolazione generale; tale percentuale aumenta al 70% per quel che concerne le formazioni nodulari maligne, suggerendo una possibile associazione tra patologia neoplastica tiroidea e tiroidite infiammatoria diffusa ad eziologia autoimmune (94).

Come atteso, il grado di omogeneità strutturale è risultato ridotto nella totalità dei noduli maligni, con struttura costituita da aree iporiflettenti a differente intensità di segnale nell'88% dei casi. La presenza di fini echi addensati iso e debolmente ipoecogeni rispetto al tessuto perinodulare, distribuiti in maniera regolare, caratteristica tipica delle neoformazioni benigne, è stata riscontrata solo in un terzo delle 300 nodulazioni strumigene osservate (32.8%); nel rimanente 67.2% dei casi la struttura disomogenea è legata, nelle lesioni strumigene, alla presenza di aree cistiche contestuali, in particolare ad aree a contenuto liquido anecogeno, delle dimensioni < 5mm, separate tra loro da sottili setti fibrosi che si intersecano nel tessuto solido adiacente e conferiscono al parenchima il

tipico aspetto “spogiforme” o “spongioso”. Questa morfologia nodulare è predittiva delle neoformazioni benigne con una specificità del 99.7% (60-64).

La presenza di margini regolari, caratteristica peculiare dei noduli benigni con una specificità in media del 76% nelle varie casistiche (61), sono stati riscontrati rispettivamente nel 100% e nel 7% delle formazioni nodulari benigne e maligne studiate. Margini irregolari, spicolati, corrugati o mammellonati, indicativi di una verosimile infiltrazione del nodulo neoplastico in alcuni punti del parenchima circostante, indicative di una formazione maligna con una sensibilità del 66% (61,62) si sono riscontrati come atteso nel 92% dei nodi maligni. La presenza di un sottile halo sign periferico, un’anello sonoluceto corrispondente ai vasi sanguigni periferici compressi dalla crescita della neoformazione nodulare, pattern morfologico predittivo delle lesioni benigne con una specificità del 79% (60-64), è stato riscontrato nell’80% dei noduli benigni studiati e in 8% dei maligni. In accordo con il dato patogenetico di una lesione infiltrante i tessuti circostanti, nel 92% delle lesioni nodulari maligne osservate presenta halo sign ispessito, incompleto o sfumato.

Le microcalcificazioni, piccoli spots iperecogeni, del diametro <1 mm, prive di rinforzo acustico posteriore, sono una caratteristica ecografica predittiva di malignità della lesione con una specificità compresa tra il 69% e il 96% nei vari studi (60-64). Nel nostro studio, solo il 10% delle lesioni maligne osservate presentavano microcalcificazioni, verosimilmente legata alla difficoltà di identificazione di tali lesioni agli US (60). Invero, tale feature non si è evidenziata nelle formazioni nodulari benigne, dove solo in 16 casi si sono osservate lesioni di natura calcifica, costituite tuttavia da macrocalcificazioni o microcalcificazioni con comet tails, feature di frequente riscontro nei noduli benigni ad involuzione distrofica (61).

La presenza di aree cistiche contestuali, generalmente a contenuto ematico o colloidale, identifica le formazioni nodulari miste o complesse, pattern tipico delle nodulazioni benigne; tuttavia in letteratura sono stati descritti casi di carcinoma che si presentavano con questa morfologia (65). In accordo con tali evidenze, la maggioranza dei nodi di struma osservati (68% dei casi) presentava aree cistiche o microcistiche semplici, mentre solo nel 7% dei noduli maligni presentava aree cistiche e non si sono evidenziati pattern microcistici e/o spongiosi.

Noduli caratterizzati da un diametro antero-posteriore maggiore rispetto al longitudinale (taller than wide), caratteristica ecografica predittiva con elevati valori di sensibilità (84%) e specificità (82%) di malignità della lesione (63) sono stati osservati solo nel gruppo delle neoformazioni nodulari maligne, come atteso.

L'utilizzo dell'ecocolor-doppler e dell'elastosonografia permettono di aumentare le potenzialità diagnostiche dell'ecografia, aggiungendo dati qualitativi e quantitativi a quelli morfologici, utili al fine di individuare noduli sospetti (68). In accordo con i dati dalla letteratura (68,69), che indicano come pattern tipico della patologia strumigena una vascolarizzazione perilesionale regolare o intralesionale con vasi sottili, regolari, a disposizione radiale (pattern a „ruota di carro“ o a „canesto“), e della patologia maligna una vascolarizzazione intranodulare costituita da vasi numerosi, grossolani, a disposizione anarchica, segno di spiccata angiogenesi tumorale, la quasi totalità dei noduli benigni e maligni osservati presentava rispettivamente una vascolarizzazione periferica e/o peri-intranodulare a canestro (96%) e intranodulare anarchica (99%).

Per quel che concerne la valutazione elastosonografica, sempre più studi conferiscono a questa metodica una utilità nella diagnostica differenziale del nodulo tiroideo (68). Noduli scarsamente deformabili,

suggeriti di lesione carcinomatosa, sono stati evidenziati nel 75% delle nodulazioni maligne; altresì, il 99% dei noduli benigni si presentava elastico o con un pattern prevalentemente elastico.

Bisogna tuttavia ricordare che la tecnica utilizzata nel nostro studio, l'elastografia strain (SE), presenta limiti legati al fatto che fornisce informazioni di tipo qualitativo; inoltre acquisizione ed interpretazione dell'immagine sono operatore-dipendenti (69). Tali limiti potranno probabilmente in futuro essere in parte superati dall'utilizzo di una nuova tecnica sonoelastografica, la Shear Wave, che fornisce informazioni di tipo quantitativo o semi-quantitativo (69).

Nella disamina delle caratteristiche ultrasonografiche di sospetto di malignità, risulta importante enfatizzare che ogni singola feature ecografica, pur presentando elevata specificità, singolarmente non risulta pienamente predittiva di malignità e inoltre l'accuratezza diagnostica risulta parzialmente inficiata da una bassa sensibilità (43). Recentemente numerosi studi hanno cercato di valutare il ruolo di specifici aspetti ecografici di sospetto quando contemporaneamente presenti; la coesistenza nello stesso nodulo di margini grossolani e irregolari, vascolarizzazione intralesionale vivace e anarchica e la presenza di microcalcificazioni comportano un elevato valore predittivo di malignità (63), ma questo aumento di specificità avviene a discapito della sensibilità.

Scopo della seconda parte del progetto è stato quello di esplorare quantitativamente le potenzialità dell'analisi della struttura degli ultrasuoni nella diagnosi differenziale della patologia nodulare tiroidea, effettuato su un campione relativamente ampio di casi, seppure sbilanciato.

Nel nostro lavoro di analisi, sono state al momento escluse le immagini ecografiche vascolari ed elastosonografiche relative ai 400 noduli tiroidei, in quanto non funzionali ad un'analisi quantitativa e 90 immagini

ecografiche B-Mode relative a lesioni tiroidee benigne più rappresentative o con settaggio non adeguato.

Non sono state analizzati i margini, le calcificazioni e la presenza di cisti per la mancanza di algoritmi diagnostici specifici e di ROI adeguate, focalizzando lo studio sull'analisi dell'ecogenicità e dell'ecostruttura nodulare tiroidea, in accordo con quel che accade nella comune pratica clinica dove, nella valutazione dell'aspetto ecografico di una lesione tiroidea, l'ecografista osserva in prima analisi l'ecogenicità, l'omogeneità e la solidità dell'immagine (95) correlandole ad un sospetto di malignità.

Il confronto tra le caratteristiche ecografiche del nodulo tiroideo estratte automaticamente dall'immagine e quelle sottoposte a classificazione nella prima fase del progetto ha evidenziato una buona concordanza tra i due metodi della disamina dell'ecogenicità del parenchima perinodulare e dell'ecogenità del tessuto intranodulare. Tuttavia, insidie interpretative permangono nella differenziazione di alcune caratteristiche relative all'ecogenicità intralesionale e, soprattutto, per quel che concerne l'analisi ecostrutturale dei noduli in esame.

Relativamente ai risultati osservati nell'analisi dell'ecogenicità, si apprezza un deficit del sistema quantitativo nella discriminazione delle lesioni isoecogene e delle lesioni con differenti gradi di iperecogenicità. Se tale deficit da un lato è imputabile al campione limitato di casi in esame, dall'altro risulta evidente come, in ottica di un perfezionamento della tecnica nell'individuazione di descrittori dell'immagine, si renda necessaria una semplificazione del modello operativo, eliminando categorie confondenti o scarsamente predittive di malignità della lesione, come l'iperecogenità della lesione, o accorpandole ad altre con caratteristiche analoghe.

La valutazione ecostrutturale del nodulo ha mostrato deficit interpretativi e di discriminazione importanti. Tale deficit può essere imputabile a una difficoltà, da parte dell'operatore, nella valutazione globale e nella cate-

gorizzazione della struttura del tessuto intranodulare, a volte costituito da aree con differenti gradi di omogeneità e disomogeneità strutturale. Nonostante, il deficit è imputabile alla mancanza di features in grado di individuare caratteristiche relative all'ecostruttura del nodulo tiroideo, come la presenza di calcificazioni e cisti. Pertanto, al momento, in ottica dello sviluppo di un classificatore adeguato, è auspicabile utilizzare solo due categorie, omogeneo e disomogeneo, nell'analisi della struttura nodulare. Alcuni limiti della metodica sono emersi anche per quel che riguarda la forma del nodo, imputabili all'utilizzo di immagini B mode ad ultrasuoni e nel dataset chiaramente sbilanciato. Tali limiti possono essere parzialmente superati eliminando alcune categorie prese in esame, come la sfericità del nodulo, peraltro scarsamente predittiva di malignità della lesione, e nell'utilizzo di tecniche di acquisizione dell'immagine tiroidea maggiormente performanti, come le sonde 3D.

Risulta inoltre evidente come, nell'analisi quantitativa delle lesioni studiate, al fine di trovare classificatori adeguati nell'ottica di un progressivo miglioramento del modello, si renda indispensabile inserire caratteristiche altamente predittive di malignità della lesione, come i margini e le calcificazioni, al momento attuale escluse per la mancanza di specifiche ROI e di algoritmi di detection.

Va inoltre ricordato che tutte le variabili finora analizzate (omogeneità, ecogenicità, struttura), sono scarsamente correlate con la malignità, in particolare se considerate singolarmente.

Nella terza fase dello studio le caratteristiche morfologiche (ecogenicità, omogeneità e struttura) delle formazioni nodulari tiroidee sono state sottoposte ad analisi della componente principale (PCA) dei descrittori di primo ordine (Haralick e Galloway) il cui risultato, ottenuto attraverso immagini ad ultrasuoni B-mode, è stato usato per differenziare i noduli

tiroidei benigni e maligni attraverso la successiva applicazione di una rete neurale artificiale (ANN). Per quanto a nostra conoscenza, non esiste uno studio in letteratura che esplori le potenzialità di un approccio ibrido PCA-ANN nella diagnosi differenziale del carcinoma tiroideo.

Nell'ultimo decennio, molti ricercatori hanno sviluppato sistemi di diagnostica assistita da computer (CAD) per differenziare i noduli tiroidei utilizzando diversi metodi di estrazione delle caratteristiche e modelli di classificazione. Ardakani (93) ha proposto un sistema CAD che utilizza una combinazione di diverse caratteristiche strutturali (dimensione frattale, pattern binario locale, descrittore dello spettro di Fourier e texture dell'energia delle leggi) come input per un classificatore SVM (Support Vector Machine). Con tale approccio, ha elaborato un modello dotato di una precisione del 100% nel differenziare i noduli maligni e benigni. Tuttavia, l'intero set di dati consisteva in soli 10 pazienti benigni e 10 maligni, eccessivamente ridotto. In precedenti altri studi (94), gli autori hanno ottenuto un'accuratezza del 100% utilizzando l'analisi discriminante non lineare e le caratteristiche della trama wavelet nella classificazione di 60 pazienti con noduli sottoposti a valutazione citologica attraverso biopsia con ago sottile (FNAB), ma nessuna analisi istologica è stata condotta per confermare la malignità delle lesione nodulari tiroidee studiate. Song et al. (96) nel loro lavoro hanno testato diversi modelli di classificatore di modello usando solo le caratteristiche di Haralick. Il modello di regressione logistica ha mostrato le migliori prestazioni ottenendo una sensibilità del 75,6% su un set di validazione esterno di 41 pazienti.

In letteratura, le reti neurali artificiali (ANNs) hanno mostrato un grande potenziale nella valutazione della patologia neoplastica tiroidea. Lo studio di Yu (97) ha estratto un totale di 65 feature di trama dall'immagine del nodo e utilizzato ANN per classificare 50 noduli tiroidei ottenendo una precisione del 90%. In successivi studi (98) sono state utilizzate

ANN per classificare le principali caratteristiche ecografiche di sospetto neoplastico tramite il metodo di selezione delle caratteristiche di Relief e classificate con una RNA. Hanno raggiunto l'accuratezza, la sensibilità e la specificità rispettivamente di 86,72, 78,89 e 94,55%. Anche approcci di apprendimento profondi per estrarre funzionalità come le reti neurali convoluzionali hanno mostrato risultati eccellenti (99). Tuttavia, questi strumenti necessitano di un set di dati molto grande per essere adeguatamente addestrati.

In questo studio, sono state adottate PCA come metodo non supervisionato di combinazione delle caratteristiche ecografiche per migliorare la potenza discriminante. PCA combinava le caratteristiche di primo ordine nel 6 ° PC, i cui principali contributi erano dati dalla media (legata all'ecogenicità) e dalla curtosi (legata all'omogeneità). Abbiamo dimostrato che anche le caratteristiche di ordine superiore (Inverse Difference Moment e Run-length non-uniformity che concettualmente sono legate all'aspetto di grossolanità dell'immagine) forniscono un ulteriore e più importante potere discriminante (Figura 3).

Le prestazioni ottenute dal classificatore ANN confermano che questi modelli possono identificare relazioni non lineari complesse tra variabili che sono essenziali per la diagnostica differenziale della patologia nodulare tiroidea.

In conclusione, il nostro progetto, suddiviso in una fase di scomposizione dei segni ecografici e successiva analisi con metodo ibrido PCA-ANN, ha ottenuto al momento risultati incoraggianti,

raggiungendo percentuali di accuratezza, sensibilità e specificità molto simili allo stato dell'arte. È tuttavia difficile confrontare questo metodo con gli approcci precedenti poiché, da un lato, per la maggior parte di essi, il set di dati non è disponibile al pubblico e quindi è molto difficile addestrare il sistema in modo corretto (97), dall'altro, i precedenti studi sono stati eseguiti su un campione limitato di casi (97-99).

L'unica limitazione significativa di questo studio è il dataset sbilanciato, che potrebbe causare bias dei risultati, dal momento che il sistema risulta maggiormente affidabile nel riconoscimento delle lesioni nodulari tiroidee benigne rispetto a quelle maligne.

Sulla base dei risultati ottenuti dalle limitazioni emerse fino a ora possiamo concludere che il nostro modello, pur avendo ottenuto una sensibilità dell'83% e di specificità del 92%, è suscettibile a ulteriori variazioni e miglioramenti.

Auspichiamo pertanto di proseguire il nostro studio incrementando il dataset, in particolare riducendone lo sbilanciamento attraverso l'inserimento di nuovi casi relativi alla patologia nodulare maligna. Risulta inoltre necessario eseguire una semplificazione della scomposizione dei segni ecografici nel lavoro di costruzione del modello, che possono talvolta comportare bias interpretative. Infine, aumentare la precisione del modello introducendo gradualmente nell'analisi PCA-ANN nuove features, come i margini, le calcificazioni, la presenza di cisti e la vascolarizzazione nodulare, attraverso l'utilizzo di nuovi e ulteriori algoritmi diagnostici e ROI di detection.

CAPITOLO 6

BIBLIOGRAFIA

1. **Mazzaferri EL.** *Management of a solitary thyroid nodule.* New Eng J Med. 1993; 328: 553–559.
2. **Belfiore A, La Rosa GL, La Porta GA et al.** *Cancer risk in patients with cold thyroid nodules: relevance of iodine intake, sex, age, and multinodularity.* Am J Med. 1992; 93: 363–369.
3. **Hegedüs L.** *Clinical practice. The thyroid nodule.* New Eng J Med. 2004; 351: 1764–1771.
4. **Ezzat S, Sarti DA, Cain DR, Braunstein GD.** *Thyroid incidentalomas. Prevalence by palpation and ultrasonography.* Arch Int Med. 1994; 154: 1838–1840.
5. **Aschebrook-Kilfoy B, Ward MH, Sabra MM, Devesa SS.** *Thyroid cancer incidence patterns in the United States by histologic type, 1992-2006.* Thyroid: official journal of the ATA. 2011; 21: 125–134.
6. **Pinchera A, Rago T, Vitti P.** *Fisiopatologia della carenza iodica.* Ann. Ist. Sup. San. 1998; 34: 301-305.
7. **Dumont JF, Lamy F, Roger P, Maenhaut C.** *Physiological and pathological regulation of thyroid cell proliferation and differentiation by thyrotropin and other factors.* Physiol Rev. 1992; 72: 667-697.
8. **Studer V, Studer H.** *Pathogenesis of nontoxic diffuse and nodular goiter.* In: Werner and Ingbar's The Thyroid. Lippincott Company, Philadelphia. 1991; p.1107-1113.
9. **Beck-Peccoz P, Spada A, Fugazzola L, Faglia G.** *Malattie della tiroide.* In: Faglia G, Beck-Peccoz P: Malattie del Sistema Endocrino e del Metabolismo. Milano: Mc Graw-Hill. 2006; p. 89-135.
10. **Van Sande J, Parma J, Tonacchera M, et al.** *Somatic and germline mutations of the TSH receptor gene in thyroid diseases.* J Clin Endocrinol Metab. 1995; 80: 2577.
11. **Xing M.** *Molecular pathogenesis and mechanism of thyroid cancer.* Nat Rev Cancer. 2013; 13: 184-199.

12. **Wu HH, Jones JN, Osman J.** *Fine-needle aspiration cytology of the thyroid: ten years experience in a community teaching hospital.* Diagn Cytopathol. 2006; 34: 93-96.
13. **DeMay RM.** *Thyroid.* In: The Art and Science of Cytopathology. Vol II: Aspiration Cytology. Chicago, IL: ASCP Press, 1996: 703-778.
14. **Yang J, Schnadig V, Logrono R, Wasserman PG.** *Fine needle aspiration of thyroid nodules: a study of 4703 patients with histologic and clinical correlations.* Cancer. 2007; 111: 306-315.
15. **Caruso D, Mazzaferri EL.** *Fine needle aspiration biopsy in the management of thyroid nodules.* Endocrinol. 1991; 1: 194-202.
16. **Hamburger JI, Hamburger SW.** *Fine needle biopsy of thyroid nodules: avoiding the pitfalls.* N Y State J Med. 1986; 86: 241-249.
17. **Baskin HJ.** *Ultrasound of thyroid nodules.* In: Baskin HJ, ed. Thyroid Ultrasound and Ultrasound-Guided FNA Biopsy. Boston, MA: Kluwer Academic Publishers. 2000: 71-86.
18. **Solbiati L, Osti V, Cova L, Tonolini M.** *Ultrasound of thyroid, parathyroid glands and neck lymph nodes.* Eur Radiol. 2001; 11: 2411-2424.
19. **Gharib H, Papini E, Paschke R et al.** *AACE/AME/ETA Task Force on Thyroid Nodules. American Association of Clinical Endocrinologists, Associazione Medici Endocrinologi, and European Thyroid Association medical guidelines for clinical practice for the diagnosis and management of thyroid nodules.* Endocr Pract. 2010; 16(1 Suppl).
20. **Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, et al.** *Revised American Thyroid Association management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer.* Thyroid. 2009; 19: 1167-1214.
21. **Ron E, Modan B, Preston D et al.** *Thyroid neoplasia following low-dose radiation in childhood.* Radiat Res. 1989; 120: 516-531.
22. **Shore RE, Hildreth N, Dvoretzky P et al.** *Thyroid cancer among persons given X-ray treatment in infancy for an enlarged thymus gland.* Am J Epidemiol. 1993; 137: 1068-1080.
23. **Hancock SL, Cox RS, McDougall IR.** *Thyroid diseases after treatment of Hodgkin's disease.* New Eng J Med. 1991; 325: 599-605.

- 24. Schlumberger M, Pacini F.** *Thyroid Tumors.* (Editions Nucleon, 2003).
- 25. Tronko MD, Bogdanova TI, Komissarenko I V et al.** *Thyroid carcinoma in children and adolescents in Ukraine after the Chernobyl nuclear accident: statistical data and clinico-morphologic characteristics.* *Cancer.* 1999; 86: 149–156.
- 26. Loh KC.** *Familial nonmedullary thyroid carcinoma: a meta-review of case series.* *Thyroid: official journal of the ATA.* 1997; 7: 107–113.
- 27. Ross DS.** *Diagnostic approach to and treatment of thyroid nodules.* UptoDate. (2008).
- 28. Sheffield EA.** *Armed forces institute of pathology, atlas of tumor pathology: 3rd Series. Tumors of the thyroid gland.* J. Rosai, M. L. Carcangiu and R. A. DeLellis. Armed Forces Institute of Pathology, Washington, DC, 1992. *The Journal of Pathology* 1993; 171: 247–248.
- 29. Belfiore A, Giuffrida D, La Rosa GL et al.** *High frequency of cancer in cold thyroid nodules occurring at young age.* *Acta Endocrinol.* 1989; 121: 197–202.
- 30. Corrias A, Einaudi S, Chiorboli E et al.** *Accuracy of fine needle aspiration biopsy of thyroid nodules in detecting malignancy in childhood: comparison with conventional clinical, laboratory, and imaging approaches.* *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86: 4644–4648.
- 31. Feldt-Rasmussen U, Rasmussen AK.** *Autoimmunity in differentiated thyroid cancer: significance and related clinical problems.* *Hormones.* 2010; 9: 109-117.
- 32. Singh B, Shaha AR, Trivedi H, Carvey JF, Poluri A, Shah JP.** *Coexistent Hashimoto's thyroiditis with papillary thyroid carcinoma: impact on presentation, management, and outcome.* *Surgery.* 1999; 126: 1070-1077.
- 33. Boi F, Lai ML, Marziani B, Minerba L, Faa G, Mariotti S.** *High prevalence of suspicious cytology in thyroid nodules associated with positive thyroid autoantibodies.* *Eur J Endocrinol.* 2005; 153: 637-642.
- 34. Boi F, Minerba L, Lai ML, Marziani B, Figus B, Spanu F, Borghero A, Mariotti S.** *Both thyroid autoimmunity and increased serum TSH are independent risk factors for malignancy in patients with thyroid nodules.* *J Endocrinol Invest.* 2013; 36: 313-320.

- 35. Souza SL, Montalli da Assumpcao LV, Ward LS.** *Impact of previous thyroid autoimmune diseases on prognosis of patients with well-differentiated thyroid cancer.* *Thyroid.* 2003; 13:491-495.
- 36. Gupta S, Patel A., Folstad A, et al.** *Infiltration of differentiated thyroid carcinoma by proliferating lymphocytes is associated with improved disease-free survival for children and young adults.* *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86: 1346-1354.
- 37. Lun Y, Wu X, Xia Q, Han Y, Zhang X, Liu Z, Wang F, Duan Z, Xin S, Zhang J.** *Hashimoto's thyroiditis as a risk factor of papillary thyroid cancer may improve cancer prognosis.* *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2013; 148: 396-402.
- 38. Pacini F, Elisei R, Di Coscio GC et al.** *Thyroid carcinoma in thyrotoxic patients treated by surgery.* *J Endocrinol Invest* 1988; 11: 107–112.
- 39. Belfiore A, Russo D, Vigneri R, Filetti R.** *Graves' disease, thyroid nodules and thyroid cancer,* *Clin Endocrinol.* 2001; 55: 711-718.
- 40. Pellegriti G, Mannarino C, Russo M, Terranova R, Marturano I, Vigneri R, Belfiore A.** *Increased mortality in patients with differentiated thyroid cancer associated with Graves' disease.* *J Clin Endocrinol Metab.* 2013; 98: 1014-1021.
- 41. Chen YK, Lin CL, Chang YJ, Cheng FT, Peng CL, Sung FC, Cheng YH, Kao CH.** *Cancer risk in patients with Graves' disease: a nationwide cohort study.* *Thyroid.* 2013; 23: 879-884.
- 42. Yano Y, Shibuya H, Kitagawa W et al.** *Recent outcome of Graves' disease patients with papillary thyroid cancer.* *Eur J Endocrinol/ European Federation of Endocrine Societies.* 2007; 157: 325–329.
- 43. Marqusee E, Benson CB, Frates MC et al.** *Usefulness of ultrasonography in the management of nodular thyroid disease.* *Ann Int Med.* 2000; 133: 696–700.
- 44. Papini E.** *The dilemma of non-palpable thyroid nodules.* *J Endocrinol Invest.*2003; 26: 3–4.
- 45. Date J, Feldt-Rasmussen U, Blichert-Toft M et al.** *Long-term observation of serum thyroglobulin after resection of nontoxic goiter and relation to ultrasonographically demonstrated relapse.* *World J Surg.* 1996; 20: 351–6; discussion 357.

- 46. Giovanella L, Ceriani L, Ghelfo A et al.** *Preoperative undetectable serum thyroglobulin in differentiated thyroid carcinoma: incidence, causes and management strategy.* Clin Endocrinol. 2007; 67: 547–551.
- 47. Pacini F, Pinchera A, Giani C et al.** *Serum thyroglobulin in thyroid carcinoma and other thyroid disorders.* J Clin Invest. 1980; 3: 283–292.
- 48. Elisei R, Bottici V, Luchetti F et al.** *Impact of routine measurement of serum calcitonin on the diagnosis and outcome of medullary thyroid cancer: experience in 10,864 patients with nodular thyroid disorders.* J Clin Endocrinol Metab. 2004; 89: 163–168.
- 49. Cohen R, Campos JM, Salaün C et al.** *Preoperative calcitonin levels are predictive of tumor size and postoperative calcitonin normalization in medullary thyroid carcinoma. Groupe d'Etudes des Tumeurs a Calcitonine (GETC).* J Clin Endocrinol Metab. 2000; 85: 919–922.
- 50. Brandi ML, Gagel RF, Angeli A et al.** *Guidelines for diagnosis and therapy of MEN type 1 and type 2.* J Clin Endocrinol Metab. 2001; 86: 5658–5671.
- 51. Niccoli P, Wion-Barbot N, Caron P et al.** *Interest of routine measurement of serum calcitonin: study in a large series of thyroidectomized patients. The French Medullary Study Group.* J Clin Endocrinol Metab. 1997; 82: 338–341.
- 52. Vierhapper H, Raber W, Bieglmayer C et al.** *Routine measurement of plasma calcitonin in nodular thyroid diseases.* J Clin Endocrinol Metab. 1997; 82: 1589–1593.
- 53. Cheung K, Roman SA, Wang TS et al.** *Calcitonin measurement in the evaluation of thyroid nodules in the United States: a cost-effectiveness and decision analysis.* J Clin Endocrinol Metab. 2008; 93: 2173–2180.
- 54. Kotzmann H, Schmidt A, Scheuba C et al.** *Basal calcitonin levels and the response to pentagastrin stimulation in patients after kidney transplantation or on chronic hemodialysis as indicators of medullary carcinoma.* Thyroid : official journal of the ATA. 1999; 9: 943–947.
- 55. Vlaeminck-Guillem V, D'Herbomez M, Pigny P et al.** *Pseudohypoparathyroidism I° and hypercalcitoninemia..* J Clin Endocrinol Metab. 2001; 86: 3091–3096.
- 56. Erdoğan MF, Güllü S, Başkal N et al.** *Omeprazole: calcitonin*

stimulation test for the diagnosis follow-up and family screening in medullary thyroid carcinoma. J Clin Endocrinol Metab. 1997; 82: 897–899.

57. D’Herbomez M, Caron P, Bauters C et al. *Reference range of serum calcitonin levels in humans: influence of calcitonin assays, sex, age, and cigarette smoking.* Eur J Endocrinol / European Federation of Endocrine Societies 2007; 157: 749–755.

58. Costante G, Meringolo D, Durante C et al. *Predictive value of serum calcitonin levels for preoperative diagnosis of medullary thyroid carcinoma in a cohort of 5817 consecutive patients with thyroid nodules.* J Clin Endocrinol Metab. 2007; 92: 450–455.

59. Doyle P, Düren C, Nerlich K et al. *Potency and tolerance of calcitonin stimulation with high-dose calcium versus pentagastrin in normal adults.* J Clin Endocrinol Metab. 2009; 94: 2970–2974.

60. Hagag P, Strauss S, Weiss M. *Role of ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy in evaluation of nonpalpable thyroid nodules.* Thyroid: official journal of the ATA. 1998; 8: 989–995.

61. Hegedüs L, Bonnema SJ, Bennedbaek FN. *Management of simple nodular goiter: current status and future perspectives.* Endocr Rev. 2003; 24: 102–132.

62. Moon W-J, Jung SL, Lee JH et al. *Benign and malignant thyroid nodules: US differentiation in a multicenter retrospective study.* Radiology 2008; 247: 762–770.

63. Kim E-K, Park CS, Chung WY et al. *New sonographic criteria for recommending fine-needle aspiration biopsy of nonpalpable solid nodules of the thyroid.* AJR. American journal of roentgenology 2002; 178: 687–691.

64. Hegedüs L. *Thyroid ultrasound.* Endocrinol Metab Clin North America. 2001; 30: 339–60, viii–ix.

65. Papini E, Guglielmi R, Bianchini A et al. *Risk of malignancy in nonpalpable thyroid nodules: predictive value of ultrasound and color-Doppler features.* J Clin Endocrinol Metab. 2002; 87: 1941–1946.

66. Horvath E, Majlis S, Rossi R et al. *An ultrasonogram reporting system for thyroid nodules stratifying cancer risk for clinical management.* J Clin Endocrinol Metab. 2009; 94: 1748–1751.

67. Cosgrove D. *Future prospects for SonoVue and CPS.* Eur Radiol. 2004; 14 Suppl 8: P116–124.

68. Asteria C, Giovanardi A, Pizzocaro A et al. *US-elastography in the differential diagnosis of benign and malignant thyroid nodules.* Thyroid : official journal of the ATA. 2008; 18: 523–531.

69. Rago T, Santini F, Scutari M et al. *Elastography: new developments in ultrasound for predicting malignancy in thyroid nodules.* J Clin Endocrinol Metab. 2007; 92: 2917–2922.

70. Wesche MF, Tiel-van Buul MM, Smits NJ, Wiersinga WM. *Ultrasonographic versus scintigraphic measurement of thyroid volume in patients referred for 131I therapy.* Nucl Med Communic.1998; 19: 341–346.

71. Meller J, Becker W. *The continuing importance of thyroid scintigraphy in the era of high-resolution ultrasound.* Eur J Nucl Med Molec Imag. 2002; 29 Suppl 2: S425–438.

72. Bonnema SJ, Bennedbaek FN, Wiersinga WM, Hegedüs L. *Management of the nontoxic multinodular goitre: a European questionnaire study.* Clin Endocrinol. 2000; 53: 5–12.

73. Belardinelli L, Gualdi G, Ceroni L et al. *Comparison between computed tomography and magnetic resonance data and pathologic findings in substernal goiters.* Intern Surg. 80: 65–69.

74. Razek AAKA, Sadek AG, Kombar OR et al. *Role of apparent diffusion coefficient values in differentiation between malignant and benign solitary thyroid nodules.* AJNR. American journal of neuroradiology 2008; 29: 563–568.

75. Kim MH, O JH, Ko SH, et al. *Role of FDG-PET and CT in the early detection of persistent/recurrent thyroid carcinoma in intermediate-to-high risk patients following initial radioactive iodine ablation therapy.* Thyroid. 2012; 22: 157-164.

76. Gittoes NJ, Miller MR, Daykin J et al. *Upper airways obstruction in 153 consecutive patients presenting with thyroid enlargement.* BMJ (Clinical research ed.) 1996; 312: 484.

77. Pisani T, Bonomi M, Nagar C, Angelini M, Bezzi M, Vecchione A. *Fine needle aspiration and core needle biopsy techniques in the diagnosis of nodular thyroid pathologies.* Anticancer Res. 2000; 20:3843-3847.

- 78. Hamberger B, Gharib H, Melton LJ 3rd, Goellner JR, Zimsmeister AR.** *Fine needle aspiration biopsy in the management of thyroid nodules: impact on thyroid practice and cost of care.* Am J Med. 1982; 73: 381-384.
- 79. Wang CC, Friedman L, Kennedy GC, et al.** *A large multicenter correlation study of thyroid nodule citopathology and histopathology.* Thyroid 2011; 21:243-251.
- 80. Korun N, Aşci C, Yilmazlar T et al.** *Total thyroidectomy or lobectomy in benign nodular disease of the thyroid: changing trends in surgery.* Intern Surg. 82: 417–419.
- 81. Gharib H, Goellner JR.** *Fine-needle aspiration biopsy of the thyroid: an appraisal.* Ann Int Med. 1993; 118: 282–289.
- 82. Burch HB.** *Evaluation and management of the solid thyroid nodule.* Endocrinol Metab Clin North America. 1995; 24: 663–710.
- 83. Danese D, Sciacchitano S, Farsetti A et al.** *Diagnostic accuracy of conventional versus sonography-guided fine-needle aspiration biopsy of thyroid nodules.* Thyroid : official journal of the ATA. 1998; 8: 15–21.
- 84. Gharib H, Goellner JR, Zinsmeister AR et al.** *Fine-needle aspiration biopsy of the thyroid. The problem of suspicious cytologic findings.* Ann Int Med. 1984; 101: 25–28.
- 85. Deandrea M, Mormile A, Veglio M et al.** *Fine-needle aspiration biopsy of the thyroid: comparison between thyroid palpation and ultrasonography.* Endocrine Pract: official journal of the ACE and AACE. 2002; 8: 282–286.
- 86. Redman R, Zalaznick H, Mazzaferri EL, Massoll NA.** *The impact of assessing specimen adequacy and number of needle passes for fine-needle aspiration biopsy of thyroid nodules.* Thyroid: official journal of the ATA. 2006; 16: 55–60.
- 87. Goellner JR, Gharib H, Grant CS, Johnson DA.** *Fine needle aspiration cytology of the thyroid, 1980 to 1986.* Acta Cytol. 1987; 31: 587–590.
- 88. British Thyroid Association.** *Guidelines for the management of thyroid cancer in adults.* London: Royal College of Physician of London and the British Thyroid Association. 2002

- 89. European Federation of Cytology Societies, Fadda G.** *SIAPEC consensus review*. 2007-2009.
- 90. Calliada F,** *Principi fisici degli ultrasuoni*, SIUMB, 2010.
- 91. Baskin H Jack, Duick D, Levine R,** *Thyroid Ultrasound and ultrasound guided FNA*, Springer, 2008.
- 92. U. R. Acharya, O. Faust, S. V. Sree, F. Molinari, and J. S. Suri,** *ThyroScreen system: High resolution ultrasound thyroid image characterization into benign and malignant classes using novel combination of texture and discrete wavelet transform*, *Comput. Methods Programs Biomed.*, vol. 107, no. 2, pp. 233–241, 2012.
- 93. A. A. Ardakani, A. Gharbali, and A. Mohammadi,** *Application of texture analysis method for classification of benign and malignant thyroid nodules in ultrasound images*, *Iran. J. Cancer Prev.*, vol. 8, no. 2, pp. 116–124, 2015.
- 94. Takashima S, Matsunka F, Nagareda T.** *Thyroid nodules associated with Hashimoto thyroiditis: assessment with US*. *Radiology* 185 (1): 125-130.
- 95. K. Gul et al.,** *Ultrasonographic evaluation of thyroid nodules: Comparison of ultrasonographic, cytological, and histopathological findings*, *Endocrine*, vol. 36, no. 3, pp. 464–472, Dec. 2009.
- 96. G. Song, F. Xue, and C. Zhang,** *A model using texture features to differentiate the nature of thyroid nodules on sonography*, *J. Ultrasound Med.*, vol. 34, no. 10, pp. 1753–1760, Oct. 2015.
- 97. Q. Yu, T. Jiang, A. Zhou, L. Zhang, C. Zhang, and P. Xu,** *Computer-aided diagnosis of malignant or benign thyroid nodes based on ultrasound images* *Eur. Arch. Oto-Rhino-Laryngology*, vol. 274, no. 7, pp. 2891–2897, 2017.
- 98. J. Xia et al.** *Ultrasound-based differentiation of malignant and benign thyroid Nodules: An extreme learning machine approach*, *Comput. Methods Programs Biomed.*, vol. 147, pp. 37–49, 2017.
- 99. J. Chi, E. Walia, P. Babyn, J. Wang, G. Groot, and M. Eramian,** *Thyroid Nodule Classification in Ultrasound Images by Fine-Tuning Deep Convolutional Neural Network*, *J. Digit. Imaging*, vol. 30, no. 4, pp. 477–486, 2017.

