

Nodules thyroïdiens à cytologie indéterminée Prise en charge et perspectives

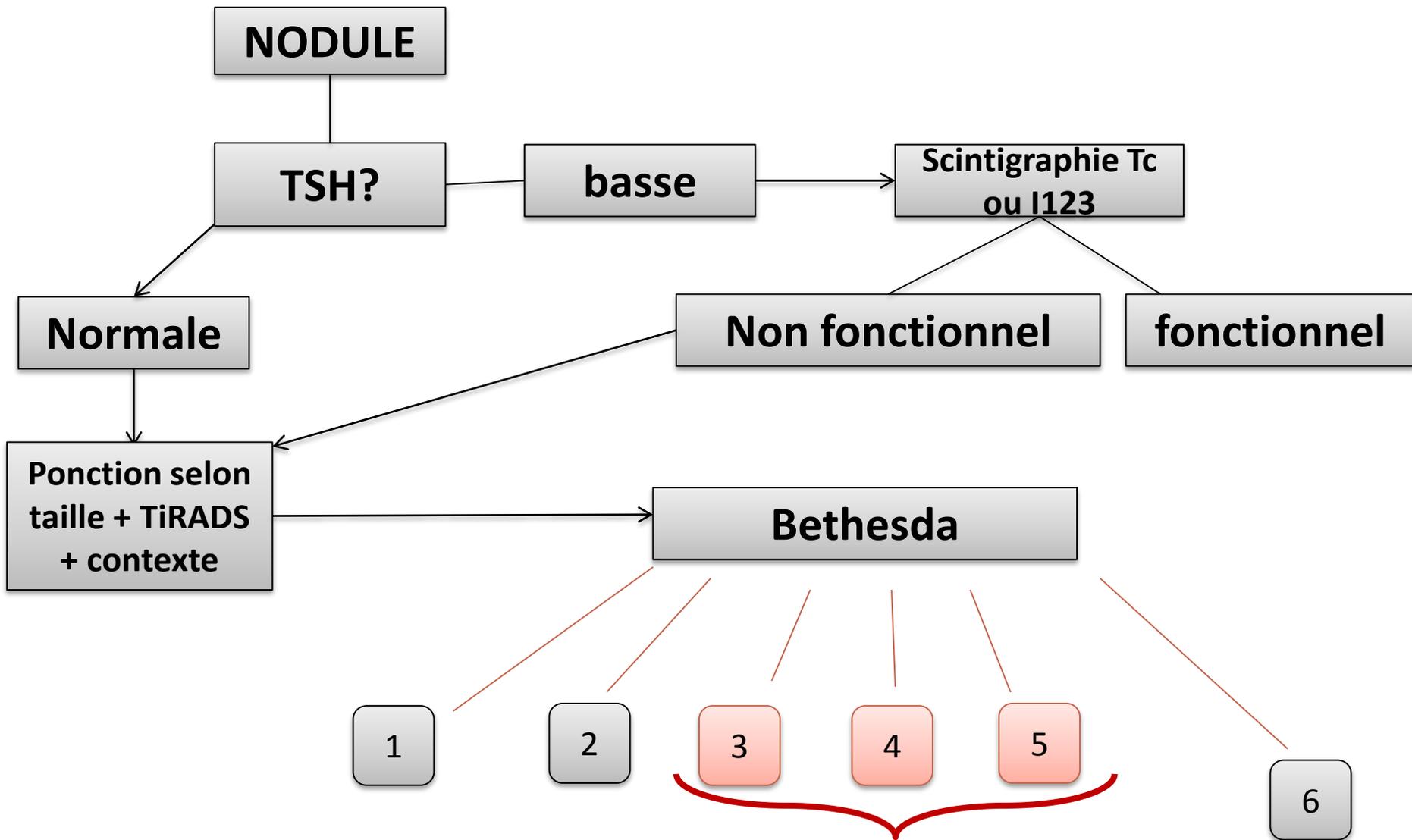
Cécile Ghander

Unité Thyroïde – Tumeurs Endocrines

**Institut d'Endocrinologie – Maladies Métaboliques et
Médecine Interne**

28/06/2014

	Terminologie	Risque de cancer	Conduite proposée
1	Non diagnostique	?	Refaire cytoponction (sous écho) Si 2 x non diagnostique = contrôle chirurgical
2	Bénin		Contrôle échographique 6 – 18 mois
3	Atypie de signification indéterminée ou lésion folliculaire de signification indéterminée	5-15%	2^{ième} ponction délai 3 à 6 mois Si ASI x 2 : contrôle chirurgical
4	Néoplasme folliculaire ou suspicion de néoplasme folliculaire/ néoplasme folliculaire à cellules oncocytaires	15-30%	Contrôle chirurgical
5	Suspect de malignité	60-75%	Contrôle chirurgical
6	Malin	97-99%	Contrôle chirurgical



**1) ECHO : SCORE DE RISQUE?
2) AUTRES OUTILS?**

- **Quels outils pour éviter les lobectomies diagnostiques?**

Autrement dit a-t-on des tests dont la valeur prédictive négative est suffisante pour éliminer un cancer?

- **Quels outils pour éviter les thyroïdectomies en deux temps?**

Autrement dit a-t-on un ou des tests suffisamment sensibles pour détecter tous les cancers?

Nodule à cytologie indéterminée : outils

3

4

5

Score TIRADS – Elastographie

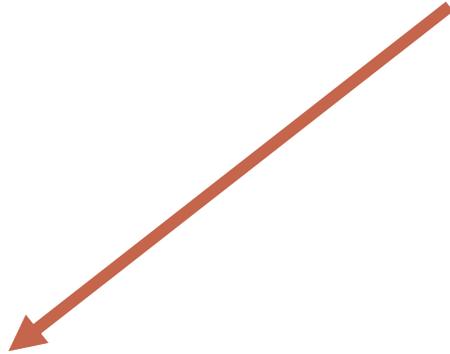
Immunocytologie ?

Microbiopsie ?

Biologie moléculaire ?

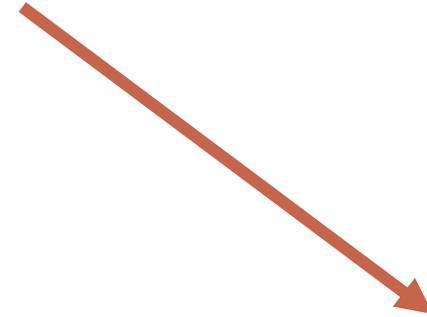
TEP FDG?

Biologie moléculaire et cytoponction : 2 approches



Recherche de mutations somatiques ponctuelles (ADN) :

- Braf
- Panel (BRAF, RAS, RET-PTC, PAX8-PPAR γ)
- Séquençage haut débit (Thyroseq[®]) : séquençage simultanée de plus de 60 gènes



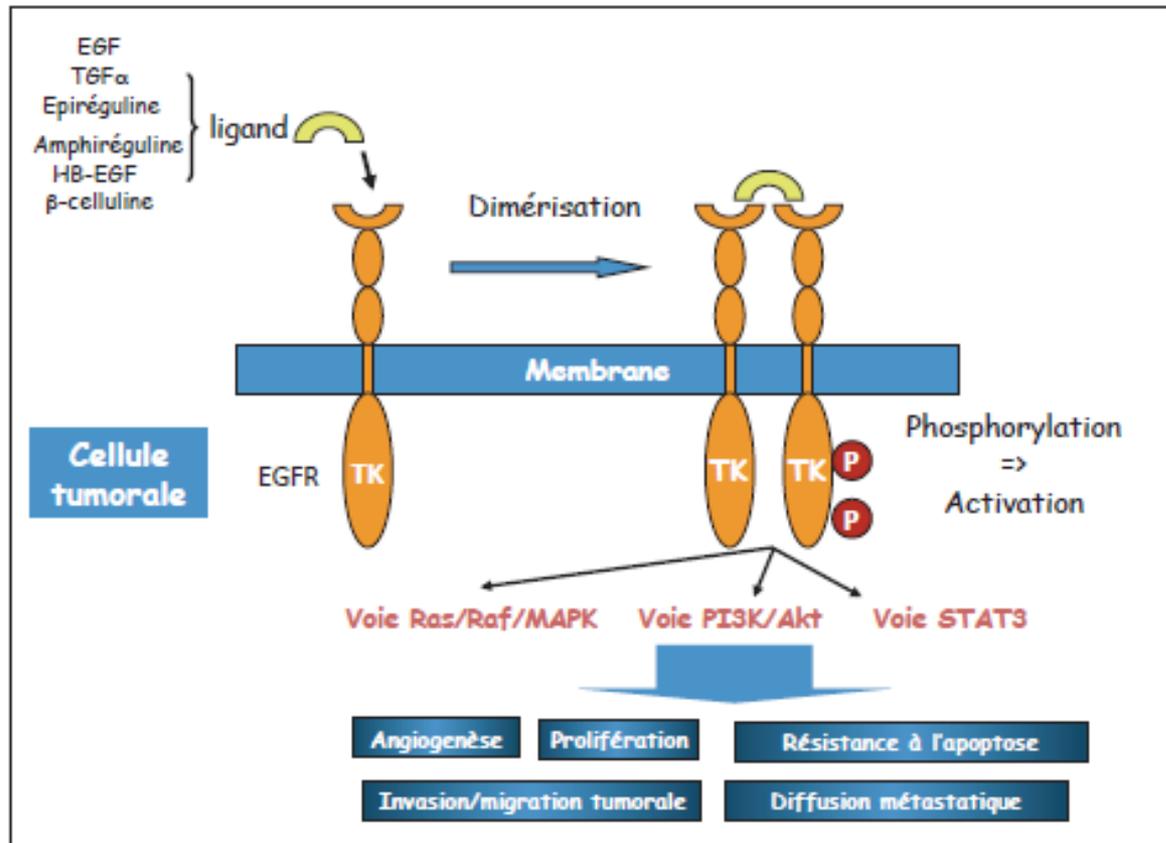
Profil d'expression génique : quantification des transcrits (ARNm)

- Puce transcriptomique mesurant l'expression de 167 gènes : 'Gene Expression Classifier' – Affirma[®]

Cytologie indéterminée et biologie moléculaire

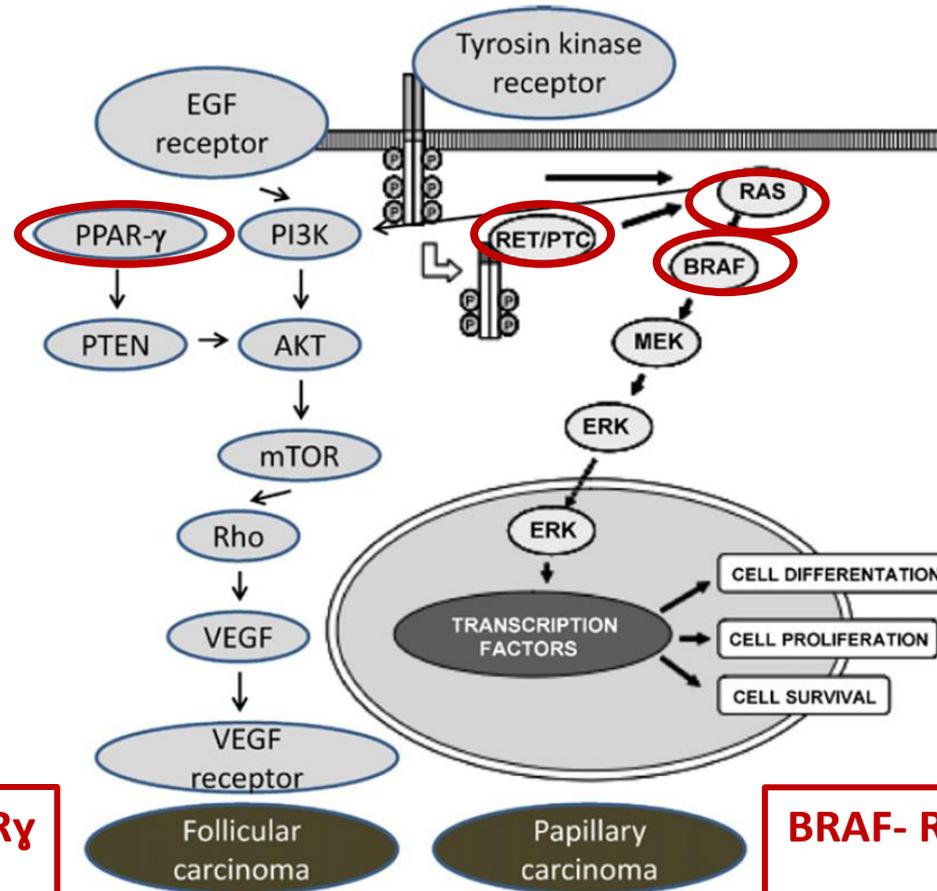
	Fluide	Principales références
Mutation BRAF	Liquide de ponction	Nikiforova et al Thyroid 2009 Marchetti et al Thyroid 2009 Kim et al JCEM 2010 Nam et al Thyroid 2010
Panel de mutation (BRAF-RAS-RET/PTC-PAX8/PPARY)	Liquide de ponction Lames séchées à l'air	Nikiforov et al, JCEM 2009 Moses et al W J Surg 2010 Ohuri et al, Cancer Cytopathol 2010 Cantara JCEM 2010 Ferraz et al 2011 Nikiforov et al, JCEM 2011, Yip 2012 Eszlinger et al Thyroid 2014 Nikiforova et al JCEM 2013
Puce à ADN (60 gènes/ Thyro-seq®) séquençage haut débit	Liquide de ponction / tissus thyroïdiens	Nikiforova et al JCEM2013
Profil d'expression (microarray/quantification du niveau de transcrits)	Liquide de ponction	Alexander et al NEJM2012
BRAF + profil d'expression génique	Liquide de ponction	Kloos et al JCEM 2013
miRNA	Liquide de ponction	Mazeh et al The Oncologist, 2012 Jacques et al JCEM 2013 Keutgen XM et al Clin Cancer Res 2012
ARNm TSH-R	Sang circulant	Hu et al, JCEM 2006 Milas et al, Ann Surg 2013

Mutation BRAF – Panel de mutations – Thyroseq : contexte



Cellule tumorale : activation des voies de signalisation en aval des récepteurs tyrosine kinase

Mutation BRAF – Panel de mutations – Thyroseq[®] : contexte



RAS – PAX8-PPAR γ
70-75% FTC

BRAF- RAS- RET/PTC- NTRK1
>70% PTC

Mutation BRAF – Panel de mutations

Panel BRAF-RAS- PAX8/PPAR -RET/PTC	Nikiforov 2009				Nikiforov 2011				Eszlinger 2014			
	51 cyto indéterminées 21 cancers (17 PTC / 4 FTC)				513 cyto indéterminées (110 PTC / 11FTC)				164 cyto indéterminées (32 FTC / 44 PTC)			
ASI (AUS FLUS)	Se 100 %	Spe 100%	VPP 100%	VPN 100 %	Se 63%	Spe 99%	VPP 88%	VPN 94%				
NF/SNF	75%	100%	100%	79%	57%	97%	87%	86%				
SM	60%	100%	100%	50%	68%	96%	95%	72%				
3+4+5	75%	100%	100%	86%	61%	97%	89%	89%	Se 75%	Spe 100 %	VPP 93 %	VPN 93%



**La sensibilité pour le diagnostic de cancer
thyroïdien n'est pas supérieure à la
cytoponction.**

Intérêt de la recherche d'un panel de mutations : forte VPP

		PROBABILITÉ DE CANCER		
		Analyse cytologique seule	Analyse cytologique + mutation identifiée	Analyse cytologique + aucune mutation identifiée
Nikiforov 2011 Panel BRAF, RAS, PAX 8/PPAR, RET PTC Prospectif, 1056 cytoponctions, 513 indéterminées.				
Catégorie 3 ASI / AUS-FLUS	n=247 (35 PTC, 0 FTC)	14%	88%	5,9%
Catégorie 4 NF ou SNF	n=214 (49 CPT, 6 FTC)	27%	87%	14%
Catégorie 5 SM	n=52 (26 CPT, 2 FTC)	54%	95%	28%

Nikiforova et al, Targeted Next-Generation Sequencing Panel for detection of mutations in Thyroid Cancer, JCEM 2013

Principe : 'Next Generation Sequencing' appliquée au ponction thyroïdienne: séquençage simultané de dizaine de milliers de gènes, sensibilité élevée en détection de mutation d'allèles : testing simultanée de multiples mutations.

Matériel et méthodes : 228 échantillons congelés, 51 cytoponctions thyroïdiennes

Thyroseq® : Plus de 80% des cancers thyroïdiens ont au moins une mutation ponctuelle ou un réarrangement chromosomique RET/PTC et PAX8/PPAR γ



Intérêt pronostique et thérapeutique, potentiel intérêt diagnostique dans les cytologies indéterminées.

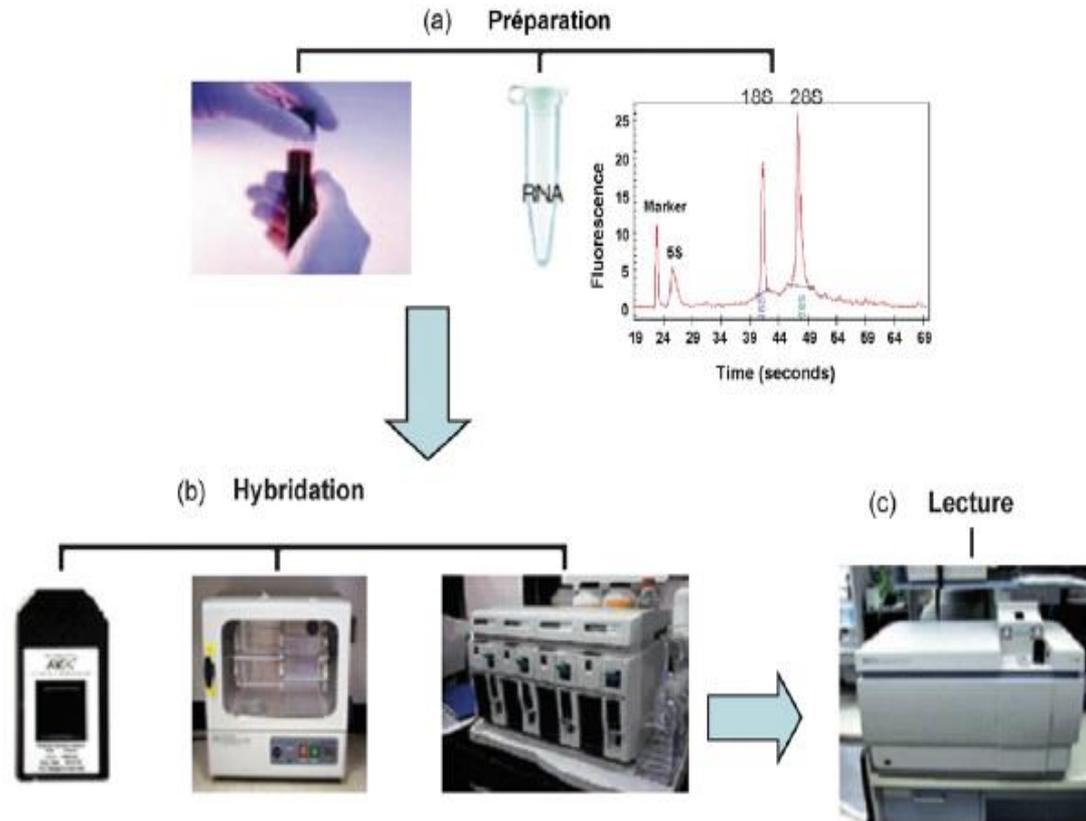
Table 1. Genes and Exons Included in ThyroSeq Panel

Chromosomes	Genes
chr1	NRAS exons 2, 3
chr3	CTNNB1 exon 3
chr3	PIK3CA exons 9, 20
chr7	BRAF exon 15
chr10	RET exons 10, 11, 12, 13, 15, 16
chr10	PTEN exons 5, 6, 7, 8
chr11	HRAS exons 2, 3
chr12	KRAS exons 2, 3
chr14	TSHR exon 10
chr14	AKT1 exon 3
chr17	TP53 exons 5, 6, 7, 8, 9
chr20	GNAS exons 8, 9

Biologie moléculaire : Profil d'expression génique

	Fluide	Principales références
Mutation BRAF	Liquide de ponction	Nikiforova et al Thyroid 2009 Marchetti et al Thyroid 2009 Kim et al JCEM 2010 Nam et al Thyroid 2010
Panel de mutation (BRAF-RAS-RET/PTC-PAX8/PPARY)	Liquide de ponction Lames séchées à l'air	Nikiforov et al, JCEM 2009 Moses et al W J Surg 2010 Ohori et al, Cancer Cytopathol 2010 Cantara JCEM 2010 Ferraz et al 2011 Nikiforov et al, JCEM 2011, Yip 2012 Eszlinger et al Thyroid 2014 Nikiforova et al JCEM 2013
Puce à ADN (60 gènes/ Thyro-seq®) séquençage haut débit	Liquide de ponction / tissus thyroïdiens	Nikiforova et al JCEM2013
Profil d'expression (microarray/quantification du niveau de transcrits)	Liquide de ponction	Alexander et al NEJM2012
BRAF + profil d'expression	Liquide de ponction	Kloos et al JCEM 2013
miRNA	Liquide de ponction	Mazeh et al The Oncologist, 2012 Jacques et al JCEM 2013 Keutgen XM et al Clin Cancer Res 2012 Yip Current opinion in oncology 2014
ARNm TSH-R	Sang circulant	Hu et al, JCEM 2006 Milas et al, Ann Surg 2010

Nodule thyroïdien à cytologie indéterminée : Profil d'expression



Analyse de l'expression des gènes (ARNm) : première validation par Chudova et al 2010, analyse de 241 186 transcrits dans 315 nodules : profil d'expression bénin / profil d'expression suspect

Nodule thyroïdien indéterminé : Profil d'expression

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

Preoperative Diagnosis of Benign Thyroid Nodules with Indeterminate Cytology

Erik K. Alexander, M.D., Giulia C. Kennedy, Ph.D., Zubair W. Baloch, M.D., Ph.D., Edmund S. Cibas, M.D., Darya Chudova, Ph.D., James Diggans, Ph.D., Lyssa Friedman, R.N., M.P.A., Richard T. Kloos, M.D., Virginia A. LiVolsi, M.D., Susan J. Mandel, M.D., M.P.H., Stephen S. Raab, M.D., Juan Rosai, M.D., David L. Steward, M.D., P. Sean Walsh, M.P.H., Jonathan I. Wilde, Ph.D., Martha A. Zeiger, M.D., Richard B. Lanman, M.D., and Bryan R. Haugen, M.D.

ABSTRACT

BACKGROUND

Approximately 15 to 30% of thyroid nodules evaluated by means of fine-needle aspiration are not clearly benign or malignant. Patients with cytologically indeterminate nodules are often referred for diagnostic surgery, though most of these nodules prove to be benign. A novel diagnostic test that measures the expression of 167 genes has shown promise in improving preoperative risk assessment.

METHODS

We performed a 19-month, prospective, multicenter validation study involving 49 clinical sites, 3789 patients, and 4812 fine-needle aspirates from thyroid nodules 1 cm or larger that required evaluation. We obtained 577 cytologically indeterminate aspirates, 413 of which had corresponding histopathological specimens from excised lesions. Results of a central, blinded histopathological review served as the reference standard. After inclusion criteria were met, a gene-expression classifier was used to test 265 indeterminate nodules in this analysis, and its performance was assessed.

RESULTS

Of the 265 indeterminate nodules, 85 were malignant. The gene-expression classifier correctly identified 78 of the 85 nodules as suspicious (92% sensitivity; 95% confidence interval [CI], 84 to 97), with a specificity of 52% (95% CI, 44 to 59). The negative predictive values for "atypia (or follicular lesion) of undetermined clinical significance," "follicular neoplasm or lesion suspicious for follicular neoplasm," or "suspicious cytologic findings" were 95%, 94%, and 89%, respectively. Analysis of 7 aspirates with false negative results revealed that 6 had a paucity of thyroid follicular cells, suggesting insufficient sampling of the nodule.

CONCLUSIONS

These data suggest consideration of a more conservative approach for most patients with thyroid nodules that are cytologically indeterminate on fine-needle aspiration and benign according to gene-expression classifier results. (Funded by Veracyte.)

From the Departments of Medicine (E.K.A.) and Pathology (E.S.C.), Brigham and Women's Hospital and Harvard Medical School, Boston; Veracyte, South San Francisco, CA (G.C.K., D.C., J.D., L.F., P.S.W., J.J.W., R.B.L.); the Departments of Pathology (Z.W.B., V.A.L.) and Medicine (S.J.M.), Perelman School of Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia; the Department of Medicine, Ohio State University College of Medicine, Columbus (R.T.K.); the Department of Pathology, University of Washington School of Medicine, Seattle (S.S.R.); Centro Diagnostico Italiano, Milan (J.R.); the Department of Surgery, University of Cincinnati College of Medicine, Cincinnati (D.L.S.); the Department of Surgery, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore (M.A.Z.); and the Department of Medicine, University of Colorado School of Medicine, Aurora (B.R.H.). Address reprint requests to Dr. Alexander at the Thyroid Unit, Division of Endocrinology, Metabolism and Diabetes, Brigham and Women's Hospital, 75 Francis St., Rm. PBB-84, Boston, MA 02115, or at ekalexander@partners.org; or to Dr. Kennedy at Veracyte, Inc., 7000 Shoreline Ct., Suite 250, South San Francisco, CA 94080, or at giulia@veracyte.com.

This article was published on June 25, 2012, at NEJM.org.

N Engl J Med 2012;367:705-15.

DOI: 10.1056/NEJMoa1203208

Copyright © 2012 Massachusetts Medical Society.

- Étude prospective, multicentrique
- 3789 patients / 4812 cytoponctions
- 577 cytologies indéterminées
- 413 histologies définitives
- Relecture centralisée : 265 cytologie indéterminée → « gene-expression classifier » = microarray = profil d'expression génique, 167 gènes testés

Nodule thyroïdien indéterminé : Profil d'expression

Bethesda Category	No. (% of Total)	Sensitivity, %	Specificity, %	False-Negative Rate, %	NPV
AUS/FLUS	129 (48.7)	90	53	9.7	95
Suspicious for FN	81 (30.6)	90	49	10	94
Suspicious for malignancy	55 (20.8)	94	52	5.9	85
Total	265	92	52	8.2	93



**Forte valeur prédictive négative
cytoponction AUS ou NF + profil d'expression bénin =
reconsidérer prise en charge**

Biologie moléculaire : résumé

	Fluide	Résumé
Mutation BRAF	Liquide de ponction	Forte valeur prédictive positive. Amélioration de la performance diagnostique de la cytoponction. Intérêt pronostique pré-opératoire pour BRAF V600E
Panel de mutation (BRAF-RAS-RET/PTC-PAX8/PPARY)	Liquide de ponction Lames séchées à l'air	Forte valeur prédictive positive. Amélioration de la performance diagnostique de la cytoponction. Intérêt préopératoire pour diminuer les thyroïdectomies en deux temps.
Puce à ADN (60 gènes/ Thyro-seq®) séquençage haut débit	Liquide de ponction / tissus thyroïdiens	Forte performance diagnostique.
Profil d'expression (microarray/quantification du niveau de transcrits) Affirma®	Liquide de ponction	Forte valeur prédictive négative, en particulier dans sous groupe AUS-FLUS et NF (95 et 94%) «notion de profil bénin »
BRAF + profil d'expression	Liquide de ponction	Pas de gain diagnostique
miRNA	Liquide de ponction	Panel à définir Etudes prospectives et techniques standardisées nécessaires.
ARNm TSH-R	Sang circulant	VPP élevée (96%) dans les néoplasmes folliculaires ou indéterminés, sensibilité 61% (nodule >1cm)



Nodule à cytologie indéterminée : conclusion biologie moléculaire

3

4

5

Score TIRADS – Elastographie

Immunocytologie ?

Microbiopsie ?

Biologie moléculaire :

Panel : si positif : probabilité de cancer élevée

Affirma[®] : si négatif : probabilité de cancer faible

TEP FDG?

Nodules à cytologie indéterminée : apport du TEP FDG

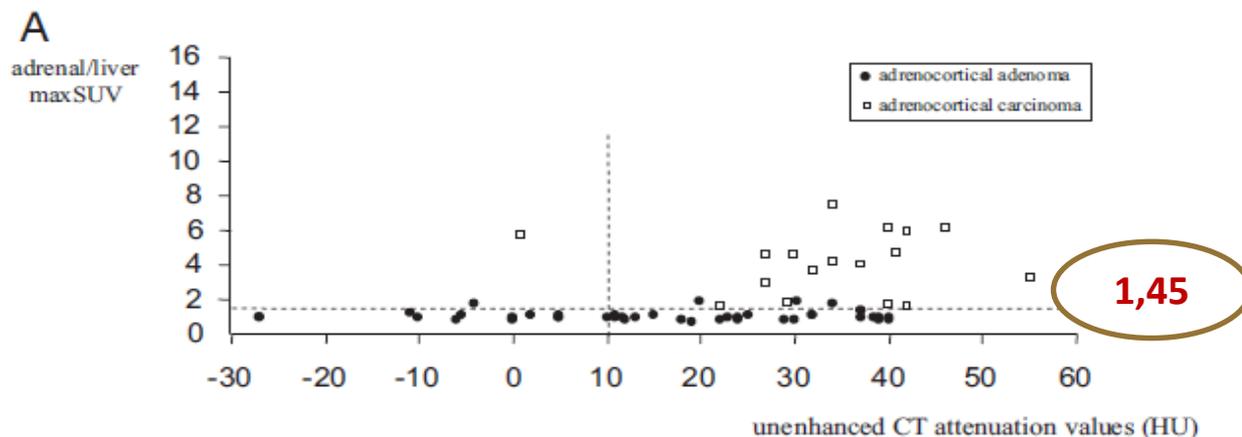
Table 3 Test characteristics of positron emission tomography in thyroid nodules with atypia of undetermined significance or follicular lesions of undetermined significance, follicular neoplasms, and fine-needle aspirations suspicious for a follicular neoplasm.

Ref.	No. of patients	Sex (M/F)	Age (range)	FNA	Histology (no. of nodules)		Size (cm)	SUV, median (range)			Visual assessment (no. of nodules)				Sensitivity/specificity/PPV/NPV (%)
					Malignant	Benign		P	Positive		Negative				
									Malignant	Benign	TP	FP	TN	FN	
de Geus-Oei et al. (2006)	42	2/40	24-77	42 FNAs	2 PTCs 3 FTCs	36	-	3.8 (0.9-20.4)	-	-	6	13	23	0	100/64/32/100
Kresnik et al. (2003)	35	7/28	25-84	35 FNAs	1 PTC and FTC 5 PTCs 3 FTCs	25	0.7-6	2.9 (2.2-9.3)	1.9 (0.9-9.4)	0.0130	10	9	16	0	100/64/53/100
Deandreis et al. (2012)	55														
(2008)															
Kim et al. (2007)	36														
Sebastianes et al. (2007)	42														
Traugott et al. (2010)	51	10/41	22-69	51 AUS and FNAs	2 FTCs 1 WDC 5 FVPTCs	41	0.5-5	-	-	-	8	14	23	6	57/62/36/79
Total	276	42/234	18-84	151 FNAs 6 AUS 120 AUS and FNAs	6 PTCs 2 FTCs 1 HCC	196					71	93	99	14	84/52/43/88

**Pak et al, Revue, Use of PET in thyroid cancer, endocrine-related cancer, 2013 : n = 277 Sensibilité catégories 3 +4 : 84%, VPN de 80 à 100%.
Sous groupe ASI non analysable, sous groupe NF/SNF (n= 128), sensibilité de 57 à 100%.**

TEP-FDG et nodules à cytologie indéterminée : pas de preuve À évaluer par sous-catégorie de Bethesda

→ Ratio de SUV à définir plutôt que seuil, nodules > 1,5 – 2 cm, exclure thyroïdite et néoplasme à cellules oncocytaires.



Groussin et al JCEM2009
Exemple des incidentalomes surrénaliens
« indéterminés ».

Nodule à cytologie indéterminée : conclusion TEP FDG

3

4

5

Score TIRADS – Elastographie

Immunocytologie ?

Microbiopsie ?

Biologie moléculaire :

Panel : si positif : probabilité de cancer élevée

Affirma[®] : si négatif : probabilité de cancer faible

TEP FDG :

Bonne VPN, en particulier catégorie 4 (hormis néoplasme à cellules oncocytaires)

Biologie moléculaire VS TEP FDG dans les cytologies indéterminées

Vriens et al, JCEM 2014, Cost effectiveness of FDG-PET/CT for cytologically indeterminate thyroid nodules : a decision analytic approach.

Objectif : Évaluation du coût-efficacité du TEP FDG pendant 5 ans consécutifs, chez des patients avec cytologie indéterminée, comparé à la chirurgie et à la biologie moléculaire (GEC).

Méthode : $iNMB = \lambda \cdot (E_2 - E_1) - (C_2 - C_1)$

 **Résultat** « Comparé à la chirurgie diagnostique systématique, le TEP FDG est l'approche la moins chère, et est aussi efficace que le profil d'expression génique ».

Nodule à cytologie indéterminée : conclusion TEP FDG

3

4

5

Score TIRADS – Elastographie

Immunocytologie

Microbiopsie

Biologie moléculaire

TEP FDG

Autre? Échographie de contraste?

Principe :

- Etude de la vascularisation et de la prise de contraste dynamique de lésions tissulaires.
- Examen de première intention dans l'exploration des incidentalomes hépatiques, avec une performance diagnostique proche de 100% pour la caractérisation des métastases.
- Injection de bolus de microbulles par voie intra-veineuse, augmente l'intensité du signal ultrasonore, améliore le codage du signal doppler.
- De plus en plus étendu à d'autres organes en particulier en oncologie (rein, sein, utérus, ovaire, pancréas).
- Peu de donnée sur son utilité en imagerie thyroïdienne.

Échographie de contraste

Zhang et al, Thyroid 2010 : 104 nodules opérés, (pas de cyto!), échographie de contraste pour tous les nodules > 0,5 cm, prospectif, double relecture.

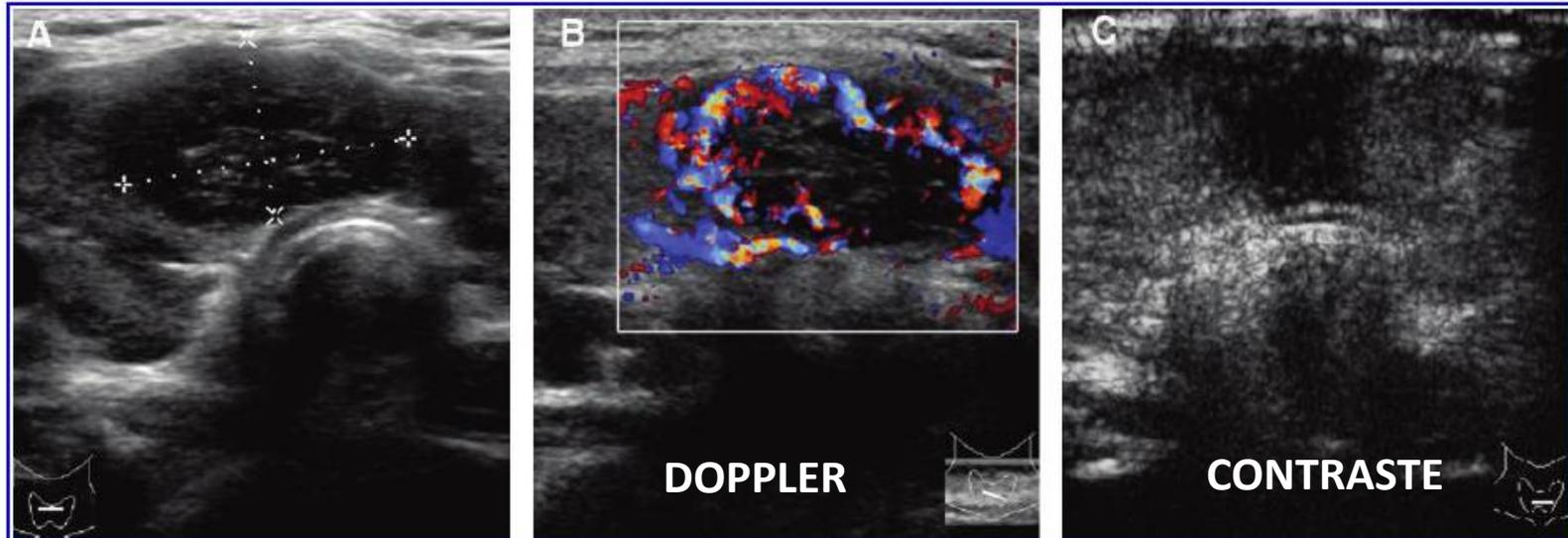
Zhang et al Thyroid 2010	Prise de contraste en anneau	Réhaussement hétérogène	Réhaussement homogène	Pas de réhaussement
Bénin (n=53)	44/51	4/44	4/44	1/44
Malin (n=51)	3/51	45/51	3/51	0/51

p<0,001

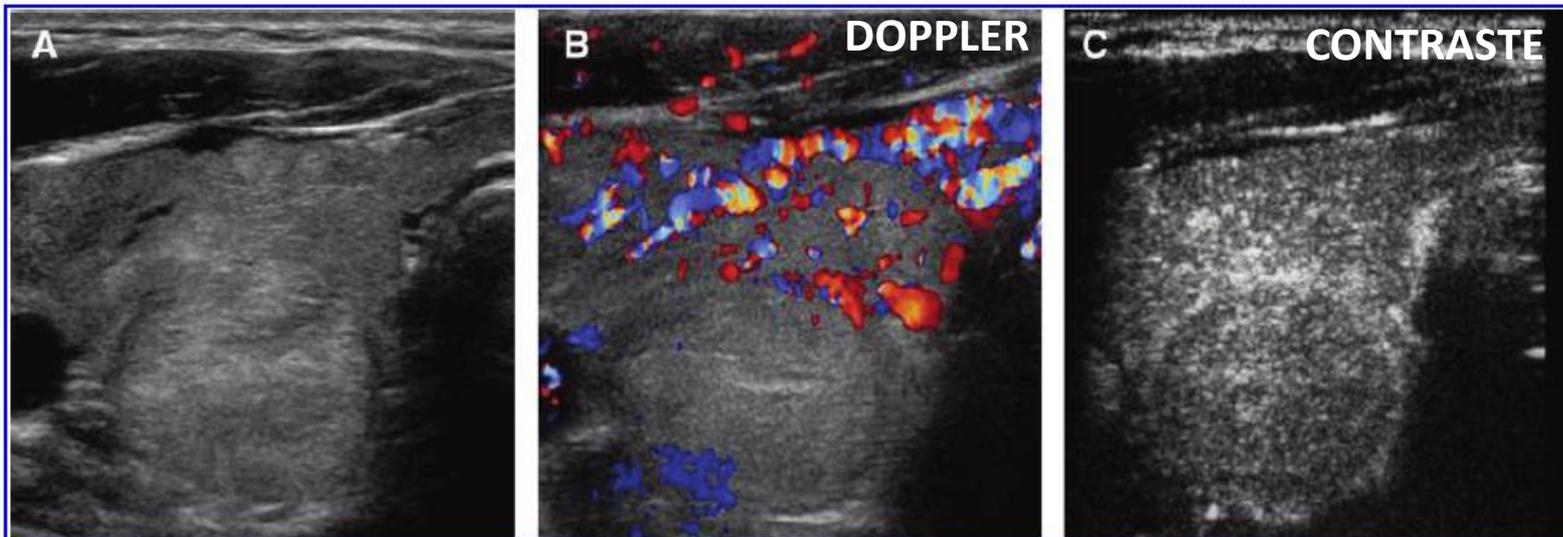
- **Sensibilité pour détecter un nodule malin: 88,2%, spécificité 94%, VPP 93,6%, VPN 84,2%, précision diagnostique 88,5%**
- **Même interprétation des radiologues pour 100 nodules/104**

Échographie de contraste

Carcinome papillaire : rehaussement hétérogène : absence de rehaussement au centre



Nodule thyroïdien bénin : rehaussement en anneau



Échographie de contraste

- Jiang J, et al, Journal of Ultrasound in medicine, 2014 Correlation between maximum intensity and microvessel density for differentiation of malignant from benign thyroid nodules on contrast-enhanced sonography.
- **122 patients, critères = intensité du réhaussement: rehaussement faible dans les nodules malins, fort dans les nodules bénin, sensibilité 97%, spécificité 95%**
- Deng Jin et al, Plos one, 2014, Comparison of diagnostic Efficacy of Contrast-Enhanced Ultrasound, Acoustic Radiation Force Impulse Imaging and their combined use in differentiating focal solid thyroid nodules.
- **146 patients, 175 nodules (119 bénins / 56 malins) : pas de gain de sensibilité entre les 3 techniques, mais sensibilité de 96,4 % en combinant les 3 modalités.**

methods	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Accuracy (%)	PPV (%)	NPV (%)
Conventional US	71.4	81.5	78.3*+	64.5	85.8
CEUS	82.1	84.9	84.0	71.9	91.0
ARFI	80.4	84.0	82.9	70.3	90.0
Combination of US & CEUS	87.5	91.5	90.3#	83.4	94.0
Combination of US & CEUS	85.7	89.9	89.1#	81.3	93.1
<u>Combination of three modalities</u>	96.4	96.6	96.6	93.1	98.3

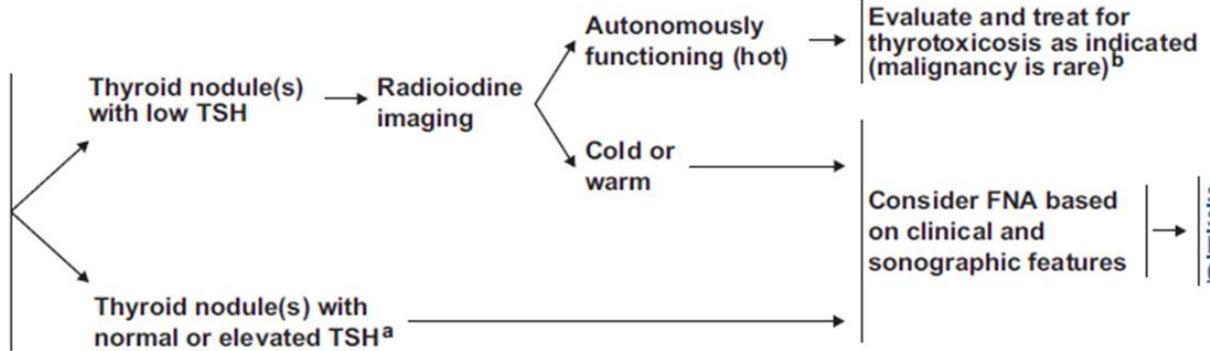


L'échographie de contraste n'a pas été évaluée dans les nodules à cytologie indéterminée, mais pourrait être une perspective intéressante dans la progression diagnostique pré-chirurgicale

NCCN Guidelines Version 2.2013 Thyroid Carcinoma – Nodule Evaluation

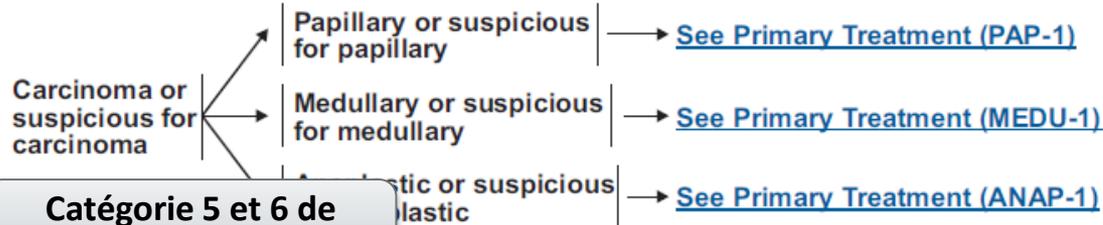
For thyroid nodule known or suspected on exam or incidental imaging finding:

- Measure thyroid stimulating hormone (TSH)
- Ultrasound of thyroid and central neck
- Ultrasound of lateral neck (category 2B)



FNA RESULTS

TREATMENT



Catégorie 5 et 6 de Bethesda

Follicular or Hürthle cell neoplasm^{9,h}

Catégorie 4 de Bethesda

Follicular lesion of undetermined significance^{h,i}

Catégorie 3 de Bethesda

Diagnostic categories for FNA results reflect NCI state of the science conference, available from <http://www.cytojournal.com/content/5/1/6>. Cytology reports should be interpreted in light of terminology used by local cytopathologists.

Consider molecular diagnostics

Molecular diagnostics indicate benign lesion^h

Molecular diagnostics not done, not informative, not indicative of a benign lesion, or suggestive of malignancy

Observe or Consider lobectomy for definitive diagnosis/treatment

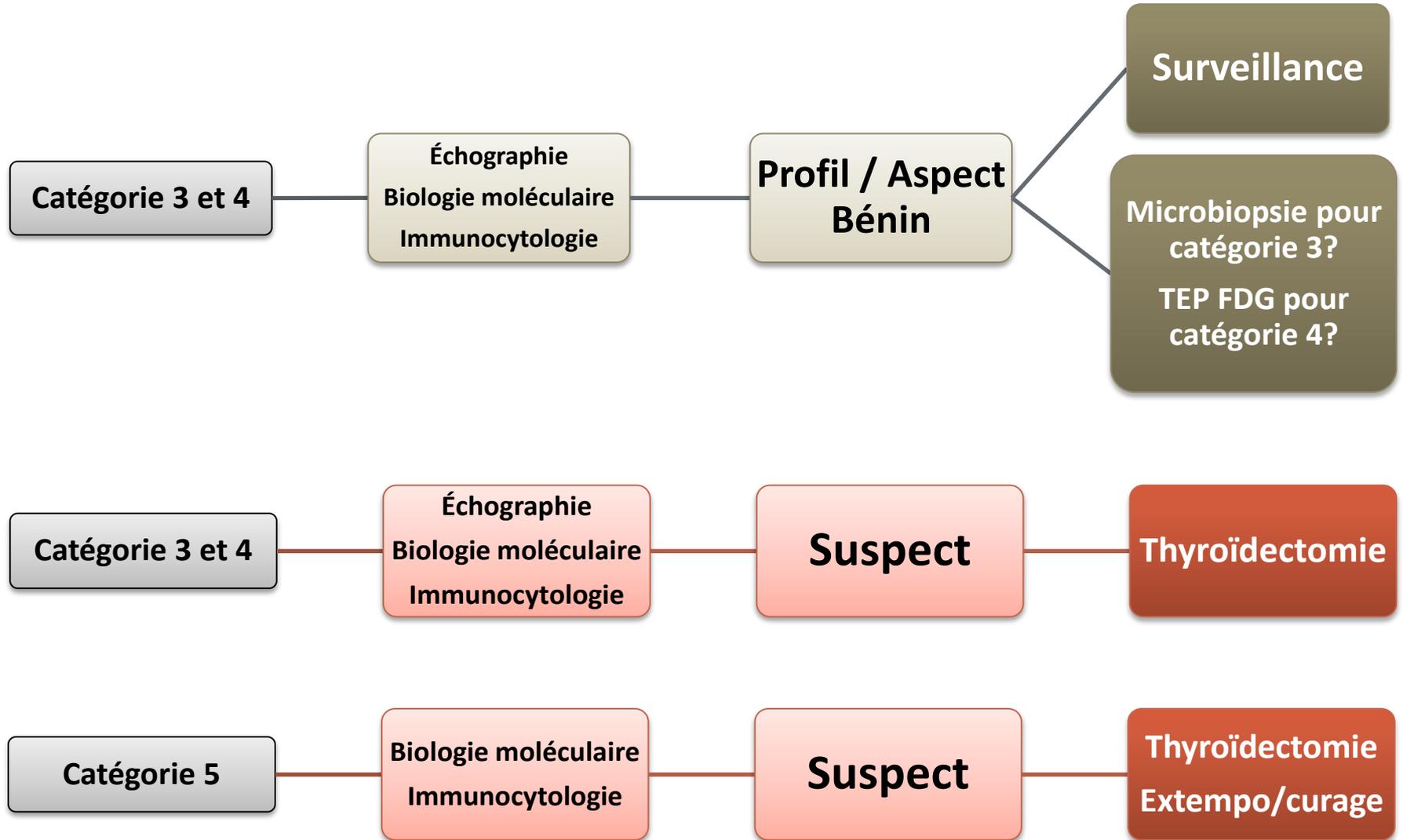
[See Primary Treatment for Papillary \(PAP-1\) Follicular \(FOLL-1\) or Hürthle \(HÜRT-1\)](#)

Repeat FNA or consider surgery^h based on clinical grounds concerning growth or suspicious sonographic findings^{c,k}

Consider molecular diagnostics (see pathway above for Follicular or Hürthle cell neoplasm)

Observe

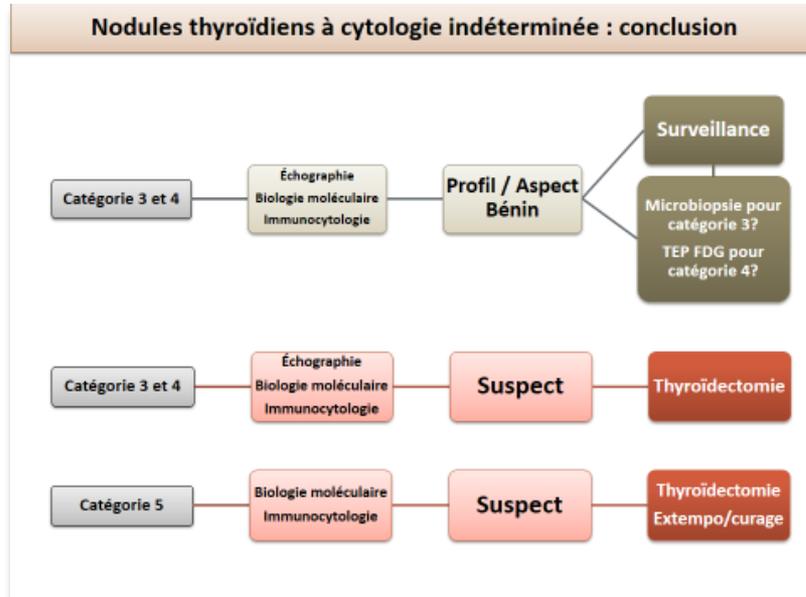
Nodules thyroïdiens à cytologie indéterminée : conclusion



laurence.leenhardt@psl.aphp.fr

cecile.ghander@psl.aphp.fr

camille.buffet@psl.aphp.fr



Protocole SWEETMAC

Nodules > 15 mm

**Étude d'un panel de mutations +
élastographie**

Protocole CITHY

**Profil d'expression génique
(diaghonit)**