

Utilità e limiti dei markers biologici nella diagnosi dei carcinomi della tiroide



Ann. Ital. Chir., 2006; 77: 209-214

Paolo Colombo, Fabiana Locatelli, Pietro Travaglini

Unità Operativa di Endocrinologia e Diabetologia, Istituto Clinico Humanitas, Rozzano (Mi)

Useful and limits of the biochemical markers for the diagnosis of thyroid carcinoma

A series of biochemical parameters are useful for the diagnosis and follow-up of differentiated thyroid carcinomas.

The measurement of serum thyroglobulin (Tg) is considered for the post-surgical/radioiodine follow-up of papillary/follicular carcinomas. Other than in basal conditions, the importance of Tg levels during TSH stimulation is underlined, either by discontinuation of L-T4 therapy or by recombinant human TSH test. The finding of undetectable Tg levels during TSH stimulation is highly correlated with clinical remission; otherwise, peak Tg levels > 1-2 ng/ml can be suggestive of recurrence/persistence of the disease. The accuracy of Tg measurements for the detection of metastases seems to be higher when compared to 131-I whole-body scan.

The evaluation of basal serum calcitonin levels is recommended for the screening of medullary thyroid carcinoma (MTC). High basal levels suggest the presence of a tumor but a calcitonin increase can be observed also in parafollicular C cell hyperplasia (CCH) and other extra-thyroidal conditions. The pentagastrin test can bypass this obstacle as the calcitonin response seems to be typical of pathological thyroid C cells. The cut-off value of calcitonin response between patients with MTC and CCH remains to be established; the latter condition, however, being considered by some authors as pre-cancerous. After thyroid surgery the measurement of calcitonin constitutes a valid tool for the detection of cure and/or recurrence of the disease.

The screening by means of RET oncogene analysis is also described for patients with MTC with Multiple Endocrine Neoplasia (MEN) type 2 syndrome.

KEY WORDS: Calcitonin, Follicular thyroid carcinoma, Human recombinant TSH, Medullary thyroid carcinoma, Papillary thyroid carcinoma, Pentagastrin, RET oncogene, Thyroglobulin

Una serie di parametri biochimici è oggi disponibile per la diagnosi e/o follow-up dei carcinomi tiroidei. Vengono discussi qui di seguito quelli che assumono attualmente rilevanza nella pratica clinica ed in particolare la tireoglobulina nei carcinomi differenziati della tiroide e la calcitonina, il CEA e l'analisi del gene RET nei carcinomi midollari della tiroide.

Tireoglobulina

La tireoglobulina (Tg) è una glicoproteina di alto peso molecolare prodotta esclusivamente dalle cellule follicolari

della tiroide e pertanto specifica di tale tessuto. La gran parte della molecola è ritenuta all'interno dei follicoli tiroidei e solo una piccola quota di pochi ng/ml viene immessa in circolo e può quindi essere misurata mediante dosaggi RIA ed IRMA in grado di rilevare anche concentrazioni molto basse. Il risultato di tale parametro può essere falsato dalla presenza di Ab anti-Tg (circa il 20% dei casi) che pertanto è utile determinare insieme alla tireoglobulina; con il dosaggio radioimmunologico l'interferenza produce risultati falsamente positivi, mentre nei dosaggi con metodi di separazione non specifici o nei sistemi immunoradiometrici non competitivi i valori di Tg possono essere falsamente negativi o comunque sottostimati ^{1, 2}.

Dal momento che la produzione di Tg è in relazione sia alla quantità di tessuto tiroideo sia all'azione di determinati stimoli su tali cellule, il dosaggio della Tg non è utile per distinguere il carcinoma tiroideo differenziato da altre patologie quali ad es. il gozzo semplice o nodulare ed il morbo di Graves-Basedow ³.

Per la corrispondenza: Dr. Paolo Colombo, Istituto Clinico Humanitas, U.O. di Endocrinologia e Diabetologia, Via Manzoni 56, 20089 Rozzano (Milano).

Tuttavia, dopo l'intervento di tiroidectomia totale ed ablazione del residuo di tiroide con ^{131}I il dosaggio della Tg assume importanza come marcatore specifico e sensibile per il monitoraggio di tali pazienti essendo in diretta correlazione con la persistenza o meno di tessuto tiroideo/neoplasia e/o recidiva della neoplasia ⁴. Per ottimizzare il follow-up è però utile che il dosaggio di Tg sia sempre correlato a quello del TSH che è il principale stimolatore delle cellule tiroidee follicolari sia normali che neoplastiche. Per tale motivo il dosaggio di Tg in corso di terapia con L-tiroxina (L-T4) a dosi TSH-soppressive ha una validità minore in quanto può essere fuorviante in pazienti con persistenza o recidiva di neoplasia differenziata della tiroide rispetto a quello ottenuto in concomitanza di livelli elevati di TSH con stimolazione massimale della cellula tiroidea; tale situazione può essere ottenuta sia sospendendo per un certo periodo la terapia con L-T4 (in genere la L-T4 viene sospesa per 5 settimane e sostituita con T3 0.7 mcg/kg/die in dosi frazionate per 3 settimane; nelle ultime 2 settimane nessuna terapia) ed inducendo pertanto un ipotiroidismo sia mediante iniezione im di TSH umano ricombinante (rhTSH). Quest'ultimo protocollo è attualmente sempre più in uso e prevede la somministrazione di 0.9 mg im di rhTSH per due giorni consecutivi con valutazioni della Tg sia basali che in giorni successivi con picco in genere al terzo giorno dalla prima somministrazione.

I dati della letteratura documentano una uguale efficacia dei due metodi suddetti per stimolare la produzione di Tg al fine di determinare la persistenza o recidiva di carcinoma tiroideo differenziato della tiroide ⁵. In una grande casistica di pazienti Haugen et al ⁵ sono stati in grado di diagnosticare tutte le metastasi di carcinoma utilizzando un valore soglia di Tg di 2 mcg/L ottenuto sia dopo sospensione della terapia con L-T4 sia dopo TSH umano ricombinante. Pacini et al. ⁷, comparando i picchi di Tg ottenuti mediante sospensione di L-T4 e con rhTSH negli stessi pazienti non hanno riscontrato recidive di neoplasia in tutti i casi con valori < 1 mcg/L di Tg mentre un picco di Tg elevato ha identificato il 100% dei pazienti con metastasi locali o a distanza. In altri studi recenti picchi di Tg > 2 mcg/L dopo rhTSH sono stati ottenuti nel 91% dei pazienti con metastasi ⁶⁻¹².

Ogni paziente che presenti pertanto una Tg indosabile dopo essere stato sottoposto ad intervento di tiroidectomia totale ed ablazione per tumore tiroideo differenziato è da considerare in remissione clinica, premesso che gli Ab-Tg siano indosabili e che l'evidenza strumentale sia negativa. Al contrario, il paziente che in tale situazione presenti livelli dosabili di Tg o comunque sopra il proprio cut-off di laboratorio deve essere sottoposto ad un iter diagnostico più completo in quanto potenzialmente non guarito.

Dopo il trattamento chirurgico e radiometabolico iniziale i valori di Tg, che ha una lunga emivita di circa 65 h ¹³

possono rimanere dosabili ancora per settimane; è pertanto utile attendere almeno 2 mesi per una maggiore attendibilità del dato biochimico.

Sebbene in genere esista una buona correlazione tra il valore di Tg circolante e il risultato della scintigrafia total-body con ^{131}I per la determinazione delle neoplasie ¹⁴ vi sono casi in cui si osserva una dicotomia tra i risultati della Tg sierica ed il total-body scan (ad es. nell'epatopatia cronica o acuta i livelli di Tg possono essere aumentati per riduzione della clearance). Dai dati della letteratura un valore non dosabile o comunque < 2 mcg/L di Tg dopo stimolazione con TSH (ottenuto dopo somministrazione di rhTSH o sospensione di L-T4) è in genere sufficiente per escludere la presenza del tumore e l'esecuzione di una scintigrafia total-body aggiunge poca informazione nei pazienti considerati a basso rischio ^{7-11, 15}.

In linea con ciò una serie di studi comprendenti nel complesso oltre 700 pazienti hanno dimostrato che circa il 36% dei pazienti con valore di Tg > 2 mcg/L dopo rhTSH è portatore di metastasi non visualizzate dal total-body scan con ^{131}I ^{7, 10, 12, 15}. Analogamente un recente lavoro di Pacini et al. ¹⁶ ha indicato l'associazione Tg con rhTSH (< 1 mcg/L) ed ecografia del collo fornire la migliore sensibilità nel follow-up a lungo termine dei pazienti con carcinoma tiroideo differenziato. Al momento pertanto i dati in letteratura dimostrano che il dosaggio di Tg stimolato dal TSH è sufficientemente sensibile per essere usato senza total-body scan almeno nel follow-up a lungo termine dei pazienti a basso rischio. Infine, dal momento che un valore indosabile (< 1 mcg/L) di Tg dopo rhTSH o sospensione di L-T4 è fortemente indicativo di una radicale asportazione/ablazione della neoplasia, vi è ora un generale consenso nel considerare in questi pazienti la determinazione basale annuale della Tg sierica in terapia con L-T4 a scopo TSH-soppressivo come sufficiente per il follow-up a lungo termine, tranne nei casi in cui vi sia un sospetto clinico della presenza del tumore o di una sdifferenziazione dello stesso.

Calcitonina e test con Pentagastrina

Nei pazienti con noduli tiroidei la valutazione dei livelli sierici di calcitonina, un ormone peptidico di 32 aminoacidi secreto dalle cellule parafollicolari C della tiroide ¹⁷, è stata suggerita per la diagnosi di carcinoma midollare della tiroide. Questo tumore, che costituisce il 5-10% di tutti i carcinomi tiroidei è costituito dalle cellule parafollicolari C e si caratterizza per l'elevata produzione di calcitonina. Esso è sporadico nell'80% dei casi e familiare nel restante 20%; in quest'ultima condizione è spesso (80-85% dei casi) componente della neoplasia endocrina multipla (MEN) di tipo II ^{18, 19}. Nel circolo ematico sono presenti varie forme di calcitonina. Un valido metodo immunoradiometrico per la

determinazione della calcitonina circolante matura si avvale di due anticorpi monoclonali diretti contro specifiche regioni della molecola. Con tale metodo i livelli ematici dell'ormone sono solitamente < 10 pg/ml nei soggetti normali ²⁰.

Nei pazienti con carcinoma midollare della tiroide i livelli circolanti basali di calcitonina sono elevati nella quasi totalità dei casi e spesso molto elevati e la loro determinazione si è dimostrata nettamente più sensibile rispetto alla citologia da agoaspirato nella diagnosi di tale tumore ²¹⁻²⁴. La concentrazione ematica dell'ormone è correlata anche con le dimensioni del carcinoma e con la presenza di secondarismi. Occasionalmente pazienti con presenza di microcarcinomi possono però presentare normali livelli di calcitonina.

Un incremento dei livelli basali di calcitonina può essere riscontrato anche nell'iperplasia delle cellule parafollicolari C della tiroide (da alcuni considerata una condizione pre-cancerosa) ²⁵, nei neonati, nella grave insufficienza renale, nelle tireopatie autoimmuni, nei tumori follicolari della tiroide e nel 15% dei pazienti con tumori neuroendocrini extra-tiroidei (pancreas, apparato respiratorio, ecc.). Modesti incrementi dell'ormone possono anche derivare da semplici artefatti di laboratorio.

Dall'analisi dei dati della letteratura non esiste a tutt'oggi un valore soglia di calcitonina basale atto a discriminare con certezza la patologia maligna da quella benigna e valori dell'ormone compresi tra 10 e 100 pg/ml costituiscono una zona grigia ^{21,26,27}.

Vari dati in letteratura indicano che la risposta della calcitonina alla somministrazione del peptide pentagastrina sembra essere tipica delle cellule parafollicolari C patologiche della tiroide e non di altre condizioni. Il test comprende la somministrazione di un bolo ev di pentagastrina alla dose di 0.5 mcg/kg con la determinazione dell'ormone in condizioni basali e in vari tempi entro 10 min dalla somministrazione del peptide. In circa l'80% dei soggetti normali la risposta dell'ormone è praticamente assente mentre in un ulteriore 15% dei casi si osserva in genere un incremento non superiore ai 30 pg/ml. Nei pazienti con iperplasia delle cellule C della tiroide e con carcinoma midollare della tiroide vi è invece una significativa risposta della calcitonina allo stimolo con pentagastrina, con picco spesso intorno ai 2-5 minuti dall'iniezione dello stimolo. Il picco ormonale è superiore ai 100 pg/ml in oltre il 60% dei carcinomi midollari di diametro di almeno 1 cm e praticamente nella totalità dei casi con picco superiore a 200 pg/ml; un picco di calcitonina compreso tra 30 e 100 pg/ml è più indicativo di una iperplasia delle cellule C o di carcinomi midollari di più modeste dimensioni ^{23, 27, 28}.

Nella nostra casistica 42 pazienti hanno eseguito il test con pentagastrina in base al riscontro di valori basali elevati dell'ormone (> 10 pg/ml). In 34 pazienti i valori basali di calcitonina si sono confermati elevati con una risposta significativa al test (picco > 30 ng/L). Di questi 15 pazienti sono stati operati e la diagnosi è stata di

carcinoma midollare della tiroide in 9 casi e CCH in 6 casi. In un paziente si è riscontrata la concomitanza di ambedue le patologie. Nei pazienti con carcinoma midollare della tiroide i valori basali sono risultati compresi in un range di 15-351 pg/ml ed il picco di risposta in un range di 364-7945 pg/ml mentre nei pazienti con CCH i valori basali sono risultati compresi in un range di 11-24 pg/ml ed il picco in un range di 85-309 pg/ml.

Dopo l'intervento chirurgico di tiroidectomia il dosaggio di calcitonina sierica costituisce un utile dato per valutare la radicalità o meno dell'intervento e per la diagnosi delle eventuali recidive. Il valore di calcitonina più attendibile è quello ottenuto almeno 2-3 mesi dopo l'intervento, meglio se associato a test con pentagastrina. Livelli di calcitonina indosabili (<3 pg/ml) e non stimolati dalla somministrazione di pentagastrina sono indice di radicalità dell'intervento chirurgico ed il test dovrebbe essere ripetuto ad intervalli di tempo data la possibilità, pur rara, di recidive a distanza ²⁹. La dimostrazione che la calcitonina può essere prodotta oltre che dalle cellule parafollicolari C della tiroide anche da altri organi (encefalo, tratto gastroenterico, vescica, timo, polmone) può spiegare perchè in alcuni casi i livelli dell'ormone rimangano dosabili dopo l'intervento di tiroidectomia in assenza di persistenza della malattia.

Antigene Carcinoembrionario (CEA)

Sebbene prodotto dalle cellule parafollicolari C della tiroide neoplastiche il dosaggio di CEA non risulta correlato alla secrezione di calcitonina nei pazienti con carcinoma midollare della tiroide. Tuttavia la determinazione di tale parametro può essere utile nel follow-up post-chirurgico in quanto livelli ematici molto alti o in incremento progressivo sono suggestivi di una progressione della malattia.

Oncogene RET

La Neoplasia Endocrina Multipla di tipo 2 (MEN 2) è una patologia autosomica dominante con una prevalenza di 1-10 casi per 100.000 nella popolazione generale ed il carcinoma midollare della tiroide ne è la patologia più comune.

Studi di linkage hanno inizialmente localizzato le anomalie genetiche nella MEN 2A, MEN 2B e nel carcinoma midollare della tiroide familiare a livello della regione pericentromerica del cromosoma 10; successivamente il gene anomalo responsabile è stato identificato nel proto-oncogene RET, situato nel braccio lungo del cromosoma 10 (10q12), che codifica per un recettore di membrana con attività tirosino-chinasica. Esso è espresso in varie cellule di origine neuroectodermica tra cui le cellule parafollicolari C della tiroide e la midollare del surrene, mentre non è riscontrato nelle cellule follicola-

ri normali della tiroide. La caratteristica più importante di tale proteina è la presenza di una serie di cisteine nel dominio extracellulare nei pressi della regione trans-membrana che si pensa siano coinvolte in un'azione tonica inibitoria sull'attività di RET nelle cellule normali. Il gene RET presenta inoltre una regione distale simil-caderinica sempre nel dominio extracellulare ed un dominio intracellulare con attività tirosinocinasi.

La caratterizzazione del gene RET nei pazienti con MEN 2A ha localizzato la gran maggioranza (oltre il 97%) di mutazioni (missense, delezioni, inserzioni) principalmente nella zona delle cisteine del dominio extracellulare iuxtamembrana, la più frequente delle quali coinvolge la cisteina 634. Anche i pazienti con carcinoma midollare della tiroide di tipo familiare mostrano molte delle mutazioni cisteiniche identificate nella MEN 2A pur mostrando in circa il 60% dei casi mutazioni non cisteiniche; unica eccezione la mutazione della cisteina 634 che è invece tipica della MEN 2A. Al contrario i pazienti con MEN 2B non mostrano le mutazioni cisteiniche suddette ed in circa il 95% dei casi si riscontra una mutazione puntiforme che coinvolge la trasformazione della Metionina in Treonina in posizione 918 nella zona intramembrana.

Lo screening genetico per la MEN 2A, la MEN 2B ed il carcinoma midollare familiare della tiroide si avvale del metodo di amplificazione polimerasica (PCR: Polymerase Chain Reaction) seguita dall'analisi di sequenza diretta del gene RET. Sulla base del fatto che un'alta proporzione di casi con carcinoma midollare della tiroide è di tipo familiare e che fino al 6% dei casi di carcinoma midollare apparentemente sporadico alberga una mutazione del gene RET, è ragionevole proporre lo screening genetico in tutti i pazienti con diagnosi di carcinoma midollare della tiroide. Successivamente, in caso di screening positivo, l'analisi va estesa a tutti i familiari di primo grado^{30, 31}.

Vi è una certa controversia sull'iter da seguire una volta identificata la mutazione.

Alcuni autori, in base ad una penetranza incompleta della malattia sul piano clinico (ad es. il 40% dei portatori di mutazione genetica non ha evidenza clinica di malattia prima dei 70 anni di età) suggeriscono che lo screening genetico debba servire per identificare quei pazienti che necessitano di un determinato follow-up annuale (test con pentagastrina, catecolamine urinarie, calcemia) in base al quale decidere poi l'intervento di tiroidectomia.

Tuttavia vi è oggi sempre più un generale consenso nel proporre invece nella MEN 2A il trattamento chirurgico di tiroidectomia totale esclusivamente sulla base del risultato del test genetico. E' infatti un concetto maggiormente condiviso che la vera penetranza del carcinoma midollare della tiroide nella MEN 2A sia vicina al 100%; inoltre contribuiscono a tale approccio l'alto grado di sensibilità e specificità del metodo PCR, la difficoltà nell'eseguire un follow-up diagnostico a lungo ter-

mine, l'eventualità di falsi positivi mediante test con pentagastrina e l'alta probabilità che tutte le cellule parafollicolari C della tiroide vengano rimosse precocemente prima dello sviluppo della malattia a fronte di una bassa incidenza di effetti collaterali della chirurgia in mani esperte e della semplicità del trattamento sostitutivo con L-tiroxina.

Le linee-guida attuali dividono il carcinoma midollare ereditario in tre differenti categorie. Nella categoria 1 il rischio è molto alto e comprende i soggetti con MEN 2B ed in particolare una mutazione dei codoni 918, 883 e 922 siti nella parte intracitoplasmatica del gene RET; in questi casi la tiroidectomia totale con dissezione linfonodale dovrebbe essere effettuata nei primi 6 mesi di vita e secondo qualche autore preferibilmente entro il primo mese. Al momento l'esperienza è limitata e non può essere garantita la guarigione.

La categoria 2 è ad alto rischio e comprende i casi con mutazione RET negli esoni 10 e 11 in cui la tiroidectomia dovrebbe essere effettuata entro il 5° anno di età. Infine la categoria 3 è a rischio intermedio, comprendendo famiglie con mutazione negli esoni 13, 14 o 15 in cui la patologia delle cellule C può avvenire in età più tarda, in genere tra i 30 e i 50 anni. È questa la categoria in cui non vi è unanime consenso su quando e se effettuare l'intervento di tiroidectomia. Alcuni autori propongono la tiroidectomia all'età di 5 anni, altri a 10 anni e per altri un test con pentagastrina dovrebbe essere eseguito ogni due anni a partire dall'età di 10 anni in base al quale decidere poi l'intervento chirurgico³⁰.

Riassunto

La misurazione della tireoglobulina sierica è fondamentale nella valutazione post-chirurgica/post-terapia radiometabolica dei carcinomi papillari e follicolari della tiroide sia in condizioni basali sia durante stimolazione massimale con TSH, quest'ultima ottenuta mediante sospensione della terapia con L-tiroxina o somministrazione di TSH umano ricombinante. In condizioni di stimolazione con TSH livelli di tireoglobulina indosabili sono fortemente correlati con la guarigione della malattia; valori di tireoglobulina > 1-2 ng/ml possono invece suggerire la persistenza/recidiva della neoplasia e con migliore accuratezza della scintigrafia totale corporea con 131-I.

La valutazione della calcitonina sierica è invece fortemente raccomandata per lo screening del carcinoma midollare della tiroide. Livelli elevati dell'ormone sono caratteristici di tale neoplasia ma si riscontrano anche nell'iperplasia delle cellule parafollicolari C della tiroide ed in altre patologie extra-tiroidee. Una risposta presente della calcitonina al test con pentagastrina è tuttavia tipica di una patologia tiroidea anche se la soglia di differenziazione tra il carcinoma midollare e l'iperplasia del-

le cellule C non è ben stabilita; va però considerato che alcuni autori considerano l'iperplasia delle cellule C una condizione pre-cancerosa. La calcitonina è anche un ottimo indice per stabilire la radicalità o meno dell'intervento di tiroidectomia.

La valutazione dell'oncogene RET è infine da considerare per i carcinomi midollari della tiroide associati a neoplasia endocrina multipla (MEN 2).

Bibliografia

- 1) Mariotti S, Cupini C, Giani C, Lari R, Rolleri E, Falco A, Marchisio M, Pinchera A: *Evaluation of a solid-phase immunoradiometric assay (IRMA) for serum thyroglobulin: effect of anti-thyroglobulin autoantibody*. Clin Chim Acta, 1982; 123: 347-55.
- 2) Spencer CA, Takeuchi M, Kazarosyan M, Wang CC, Guttler RB, Singer PA, FATEMI S, Lopresti JS, Nicoloff JT: *Serum thyroglobulin autoantibodies: prevalence, influence on serum thyroglobulin measurement, and prognostic significance in patients with differentiated thyroid carcinoma*. J Clin Endocrinol Metab, 1998; 83: 1121-1127.
- 3) Pacini F, Pinchera A: *Serum and tissue thyroglobulin measurement: clinical application in thyroid disease*. Biochimie, 1999; 81: 463-67.
- 4) Schlumberger M, Baudin E: *Serum thyroglobulin determination in the follow-up of patients with differentiated thyroid carcinoma*. Eur J Endocrinol, 1998; 138: 249-52.
- 5) Haugen BR, Pacini F, Reinert C, Schlumberger M, Ladenson PW, Sherman SI, Cooper DS, Graham KE, Braverman LE, Skarulis MC, Davies TF, Degroot LJ, Mazzaferri EL, Daniels GH, Ross DS, Luster M, Samuels MH, Becker DV, Maxon III HR, Cavalieri RR, Spencer CA, McEllin K, Weintraub BD, Ridgway EC: *A comparison of recombinant human thyrotropin and thyroid hormone withdrawal for the detection of thyroid remnant or cancer*. J Clin Endocrinol Metab, 1999; 84: 3877-885.
- 6) Robbins RJ, Tuttle RM, Sharaf RN, Larson SM, Robbins HK, Ghossein RA, Smith A, Drucker WD: *Preparation by recombinant human thyrotropin or thyroid hormone withdrawal are comparable for the detection of residual differentiated thyroid carcinoma*. J Clin Endocrinol Metab, 2001; 86: 619-25.
- 7) Pacini F, Molinaro E, Lippi F, Castagna MG, Agate L, Ceccarelli C, TaDDEI D, ELISEI R, Capezone M, Pinchera A: *Prediction of disease status by recombinant human TSH-stimulated serum Tg in the post-surgical follow-up of differentiated thyroid carcinoma*. J Clin Endocrinol Metab, 2001; 86: 5686-690.
- 8) Robbins RJ, Chon Jt, Fleisher M, Larson S, Tuttle RM: *Is the serum thyroglobulin response to recombinant human TSH sufficient, by itself, to monitor for residual thyroid carcinoma?* J Clin Endocrinol Metab, 2002; 87: 3242-247.
- 9) David A, Blotta A, Bondanelli, Rossi R, Roti E, Braverman Le, Busutti L, Degli Uberti EC: *Serum thyroglobulin concentrations and (131)I whole-body scan results in patients with differentiated thyroid carcinoma after administration of recombinant human thyroid-stimulating hormone*. J Nucl Med, 2001; 42: 1470-475.
- 10) Vitale G, Lupoli Ga, Ciccarelli A, Fonderico F, Klain M, Squame G, Salvatore M, Lupoli G: *The use of recombinant human TSH in the follow-up of differentiated thyroid cancer: experience from a large patient cohort in a single centre*. Clin Endocrinol (Oxf), 2002; 56: 247-52.
- 11) Wartofsky L: *Management of low-risk well-differentiated thyroid cancer based only upon thyroglobulin measurement after recombinant human thyrotropin*. The rhTSH-Stimulated Thyroglobulin Study Group. Thyroid, 2002; 12: 121-34.
- 12) Mazzaferri EL, Robbins RJ, Spencer CA, Braverman LE, Pacini F, Wartofsky L, Haugen BR, Sherman SI, Cooper DS, Braunstein GD, Lee S, Davies TF, Arafah BM, LADENSON PW, Pinchera A: *A consensus report of the role of serum thyroglobulin as a monitoring methods for low-risk patients with papillary thyroid carcinoma*. J Clin Endocrinol Metab, 2003; 88: 1433-441.
- 13) Hocevar M, Auersperg M, Stanovnik L: *The dynamics of serum thyroglobulin elimination from the body after thyroid surgery*. Eur J Surg Oncol, 1997; 23(3): 208-10.
- 14) Torrens JI, Burch HB: *Serum thyroglobulin measurement. Utility in clinical practice*. Endocrinol Metab Clin North Am, 2001; 30: 429-67.
- 15) Haugen BR, Ridgway EC, McLaughlin BA, McDermott MT: *Clinical comparison of whole-body radioiodine scan and serum thyroglobulin after stimulation with recombinant human thyrotropin*. Thyroid, 2002; 12: 37-43.
- 16) Pacini F, Molinaro E, Castagna Mg, Agate L, Elisei R, Ceccarelli C, Lippi F, Taddei D, Grasso L, Pinchera A: *Recombinant human thyrotropin-stimulated serum thyroglobulin combined with neck ultrasonography has the highest sensitivity in monitoring differentiated thyroid carcinoma*. J Clin Endocrinol Metab, 2003; 88 3668-673.
- 17) Raue F, Zink A, Scherubl H: *Regulation of calcitonin secretion and calcitonin gene expression*. In: *Recent Results in Cancer Research*. Berlin: Springer, 1992; 1-18.
- 18) Eng C: *The RET protooncogene in multiple endocrine neoplasia Type 2 and Hirschsprung disease*. N Eng J Med, 1996; 335: 943-51.
- 19) Giuffrida D, Gharib H: *Current diagnosis and management of medullary thyroid carcinoma*. Ann Oncol, 1998; 9: 695-701.
- 20) Demers LM, Spencer CA: *Laboratory medicine practice guidelines. Laboratory support for the diagnosis and monitoring of thyroid disease*. Thyroid, 2003; 13: 4-126.
- 21) Ozgen AG, Hamulu F, Bayraktar F, Yilmaz C, Tuzun M, Yetkin E, Tuncyurek M, Kabalak T: *Evaluation of routine basal serum calcitonin measurement for early diagnosis of medullary thyroid carcinoma in seven hundred seventy-three patients with nodular goiter*. Thyroid 1999; 9: 579-82.
- 22) Hahm JR, Lee MS, Min YK, Lee MK, Kim KW, Nam SJ, Yang JH, Chung JH: *Routine measurement of serum calcitonin is useful for early detection of medullary thyroid carcinoma in patients with nodular thyroid disease*. Thyroid 2001; 11: 73-80.
- 23) Iacobone M, Niccoli-Sire P, Sebag F, De Micco C, Henry JF: *Can sporadic medullary thyroid carcinoma be biochemically predicted? Prospective analysis of 66 operated patients with elevated serum calcitonin levels*. World J Surg, 2002; 26: 886-90.
- 24) Elisei R, Bottici V, Luchetti F, Di Coscio G, Romei C, Grasso L, Miccoli P, Iacconi P, Basolo F, Pinchera A, Pacini F: *Impact of routine measurement of serum calcitonin on the diagnosis and outcome of medullary thyroid cancer: experience in 10864 patients with nodular thyroid disorders*. J Clin End Metab, 2004; 89: 163-68.
- 25) Kaserer K, Scheuba CH, Neuhold N, Wein Hausel A, Vierhapper H, Haas O, Niederle B: *C-cell hyperplasia and medullary thyroid carcinoma in patients routinely screened for serum calcitonin*. Am J Surg Pathol, 1998; 22: 722-28.

- 26) Niccoli P, Wion-Barbot N, Caron P, Henry JF, De Micco C, Saint Andre Jp, Bigorgne JC, Modigliani E, Conte-Devolx B, French Medullary Study Group: *Interest of routine measurement of serum calcitonin: S tudy in a large series of thyroidectomized patients.* J Clin Endocrinol Metab, 1997; 82: 338-41.
- 27) Scheuba C, Kaserer K, Weinhausl A, Pandev R, Kaider A, Passler C, Prager G, Vierhapper H, Haas OA, Niederle B: *Is medullary thyroid cancer predictable? A prospective study of 86 patients with abnormal pentagastrin tests.* Surgery, 1999; 126: 1089-95.
- 28) Karges W, Dralle H, Raue F, Mann K, Reiners C, Grussendorf M, Huffner M, Niederle b, Brabant G: *Calcitonin measurement to detect medullary thyroid carcinoma in noidular goiter: German evidence-based consensus reccomendation.* Exp Clin Endocrinol Diabetes, 2004; 112: 52-58.
- 29) Modigliani E, Franc B, Niccoli-Sire P: *Diagnosis and treatment of medullary thyroid cancer.* Baillière's Clinixcal Endocrinology and Metabolism, 2000; 14: 631-649.
- 30) Brandi ML, Gagel RF, Angeli A, Bilezikian JP, Peck-Peccoz P, Bordi C, Conte-Devolx B, Falchetti A, Gionata Gheri R, Libroia A, Lips CJM, Lombardi G, Mannelli M, Pacini F, Ponder BAJ, Raue F, Skogseid B, Tamburrano G, Thakker Rv, Thompson Nw, Tomassetti P, Tonelli F, Wells SA, Marx SJ: *Guidelines for diagnosis anf therapy of MEN type 1 and type 2.* J Clin Endocrinol Metab, 2001; 86: 5658-671.
- 31) Gagel RF, Marx SJ: *Multiple endocrine neoplasia.* In: Larsen PR, Hronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS(Eds): *Williams textbook of Endocrinology.* X ediz. Philadelphia: Saunders, 2002; 1717-762.