

Ferrara, 26 maggio 2018

Il percorso del paziente con carcinoma differenziato
della tiroide nella provincia di Ferrara

Diagnosi clinica e molecolare

Dr.ssa Martina Rossi

Sezione di Endocrinologia e Medicina Interna
Direttore: Prof. Maria Chiara Zatelli
Dipartimento di Scienze Mediche
Università degli Studi di Ferrara





NODULO TIROIDEO

- Patologia frequente, con netta prevalenza femminile:
- dal 3 al 7 % della popolazione adulta ha un nodulo tiroideo palpabile,
- clinicamente evidenti nel 6.4% donne e 1,5% degli uomini
- Ricontrati con l'esame ecografico nel 20-76% della popolazione
- Frequenza più alta nelle aree a carenza iodica
- piccola percentuale maligna (~5%)





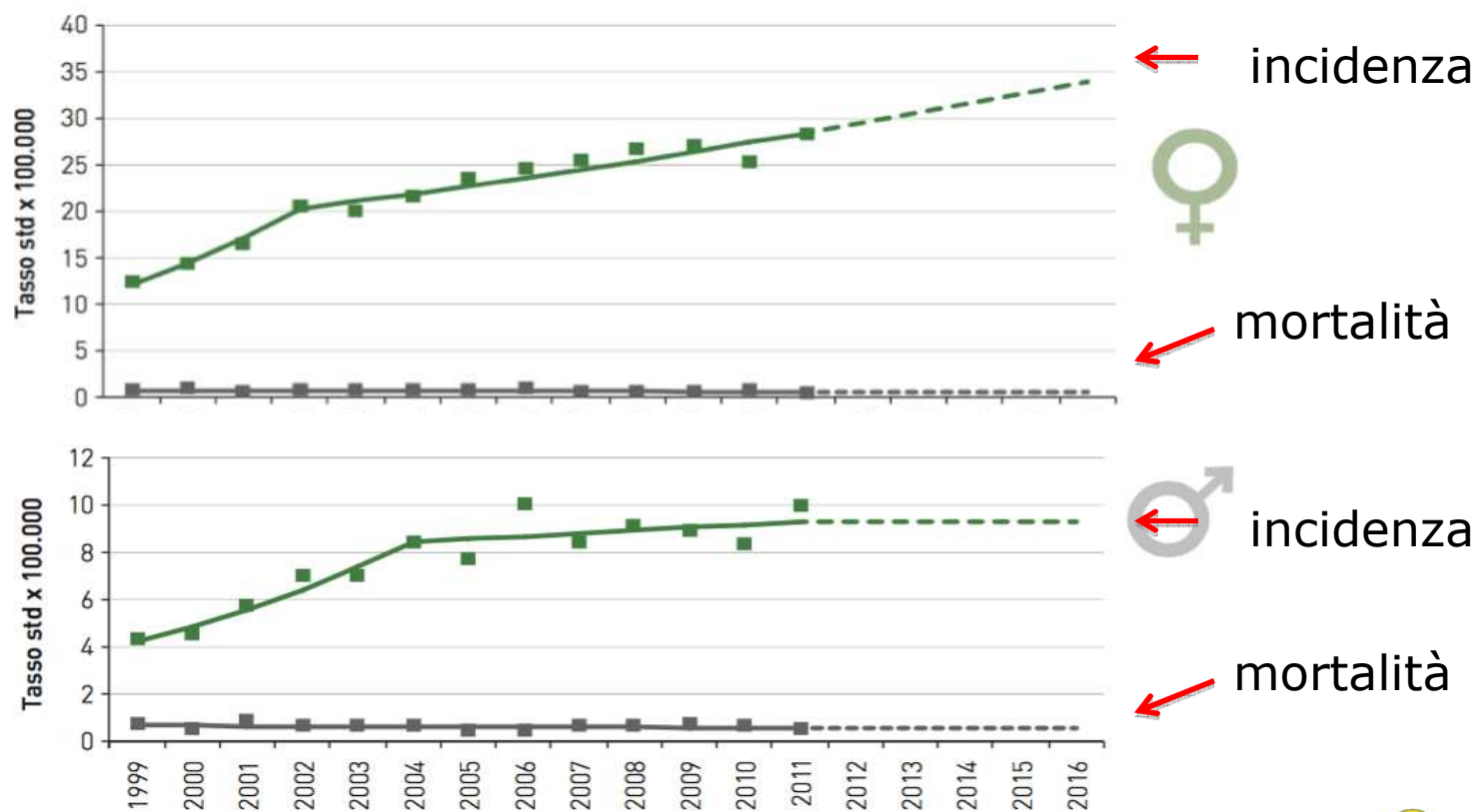
CARCINOMI DELLA TIROIDE

- 1-2% di tutti i tumori
- la più frequente neoplasia endocrina
- Classificati, in base alle caratteristiche anatomopatologiche, in **tumori epiteliali** (carcinoma papillare, carcinoma follicolare, carcinoma midollare, carcinoma indifferenziato) **tumori non epiteliali**: sarcoma, emangioendotelioma, linfoma, metastasi.
- 90-95% forme differenziate (CDT)
- Sopravvivenza molto elevata (oltre il 90% a 5 anni nei CDT)
- L'insorgenza del carcinoma della tiroide è legata a fattori di rischio ambientali, genetici, ormonali e alle loro interazioni.



Dati AIRTUM-Italia (dati 1996-2016),

- incidenza di 4,1 casi ogni 100.000 abitanti per gli uomini e 12,5 nuovi casi ogni 100.000 abitanti per le donne (5° posto in Italia come incidenza tra i carcinomi nella donna);





CARCINOMI DIFFERENZIATI DELLA TIROIDE (CDT) (Papillare e Follicolare)

CARCINOMA PAPILLARE (PTC)

- 85 % dei DTC
- Lenta evoluzione
- Buona prognosi
- Può presentarsi con metastasi linfonodali locoregionali (anche un tumore primitivo intratiroideo e di piccole dimensioni)
- Varianti più aggressive hanno prognosi peggiore (a cellule alte, a cellule colonnari, sclerosante diffusa)





CARCINOMI DIFFERENZIATI DELLA TIROIDE (CDT) (Papillare e Follicolare)

CARCINOMA FOLLICOLARE DELLA TIROIDE (FTC)

- 10% dei DTC
- **Forma minimamente invasiva** (penetrazione microscopica della capsula tumorale senza o con minima invasione vascolare) → buona prognosi
- **Forma altamente invasiva** (estesa invasione vascolare, invasione dei tessuti extratiroidi) → prognosi peggiore
- Forme aggressive scarsamente differenziate (insulari, Trabecolari)
- Le metastasi linfonodali sono meno frequenti rispetto al PTC
- Può presentarsi con metastasi ossee.





PROGNOSI CDT

- Prognosi favorevole
- Tasso di sopravvivenza a 20 anni > 90 %
- 80 % dei pazienti sono resi liberi da malattia dopo il trattamento iniziale
- 5-20 % dei pazienti ha recidive locali o a distanza
- Tempestività nella diagnosi e adeguato follow up (ecografia, FNA in mani esperte e diagnosi molecolare su citoaspirato)
- Prevalenza dell'istotipo papillare più indolente
- Possibilità di trattamento chirurgico radicale
- Iodiosensibilità dei carcinomi differenziati (Terapia ablativa con I131).

VALUTAZIONE CLINICA

ANAMNESI:

- Età < 14 > 70
- Familiarità per ca. della tiroide
- Sesso maschile
- Storia di irradiazioni al capo e collo
- Sintomi di compressione

- Presenza di disfonia, disfagia o dispnea
- Sintomi di iper o ipotiroidismo
- Uso di farmaci o integratori contenenti iodio

L'assenza di sintomi non esclude la malignità della lesione !



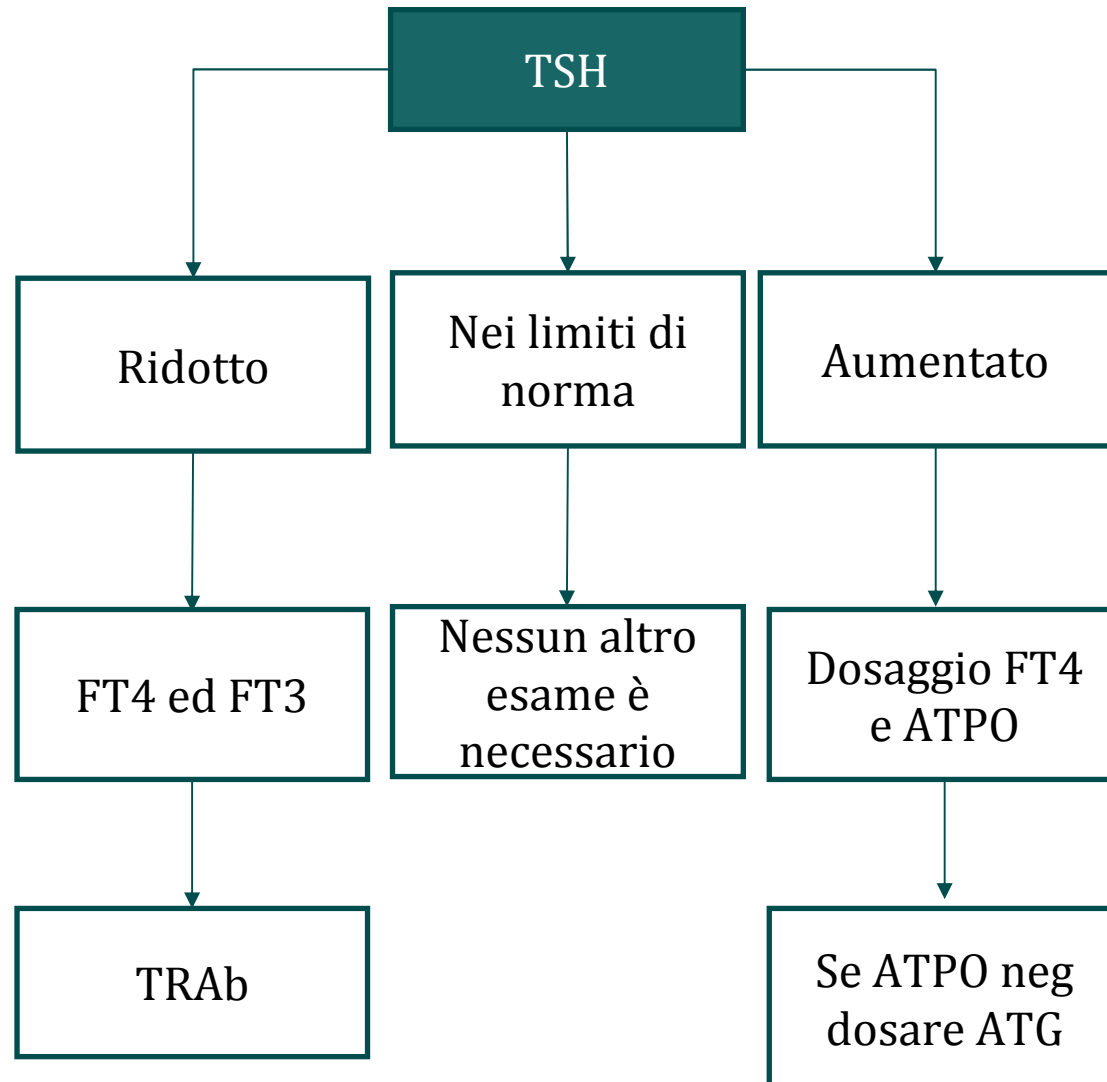
VALUTAZIONE CLINICA

- Nodulo > 4 cm
- Nodulo solitario
- Rapida crescita del nodulo
- Consistenza dura, fissità
- Paralisi di una corda vocale
- Linfadenopatia regionale
- Metastasi a distanza

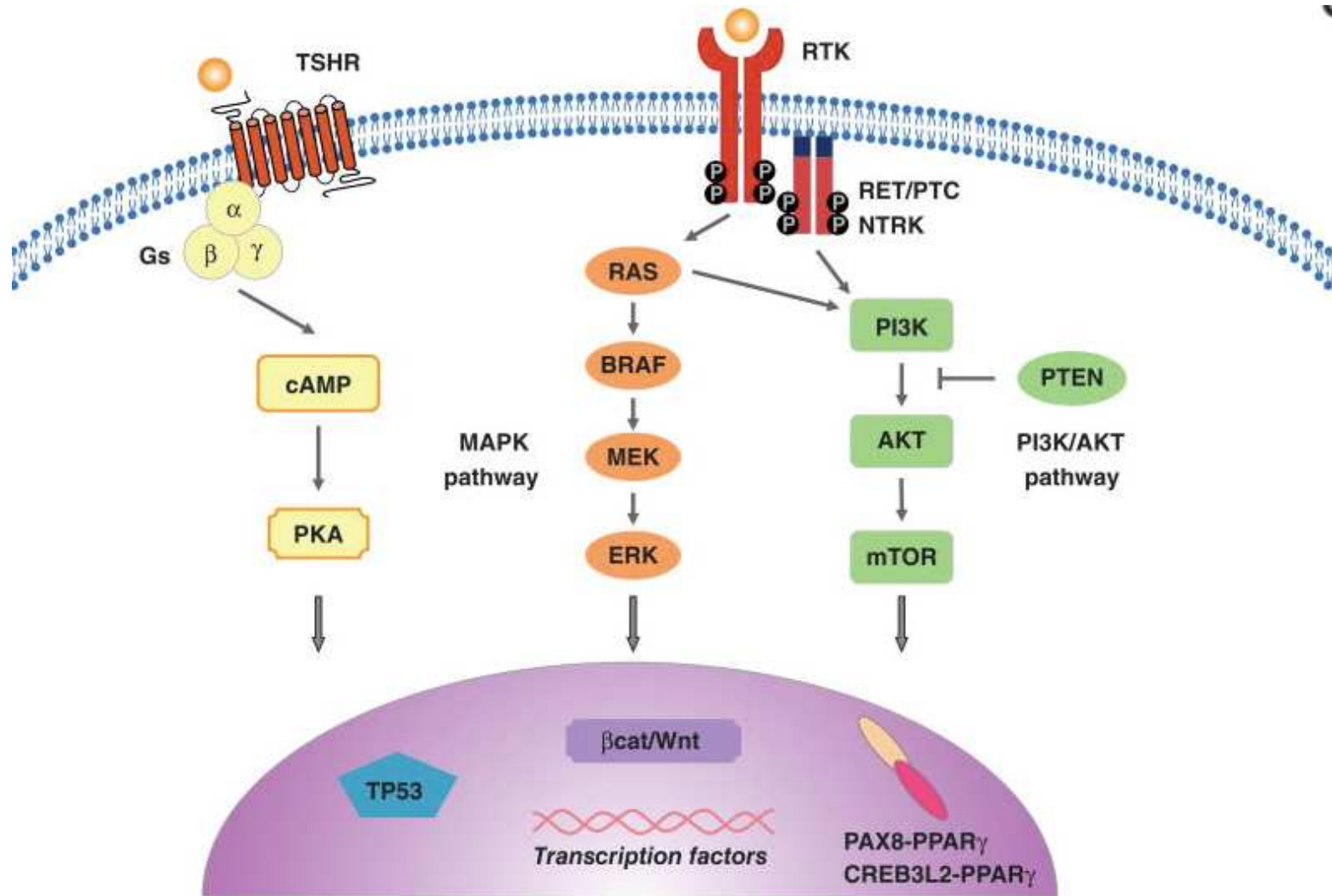
e
e dimensione dei noduli



LABORATORIO

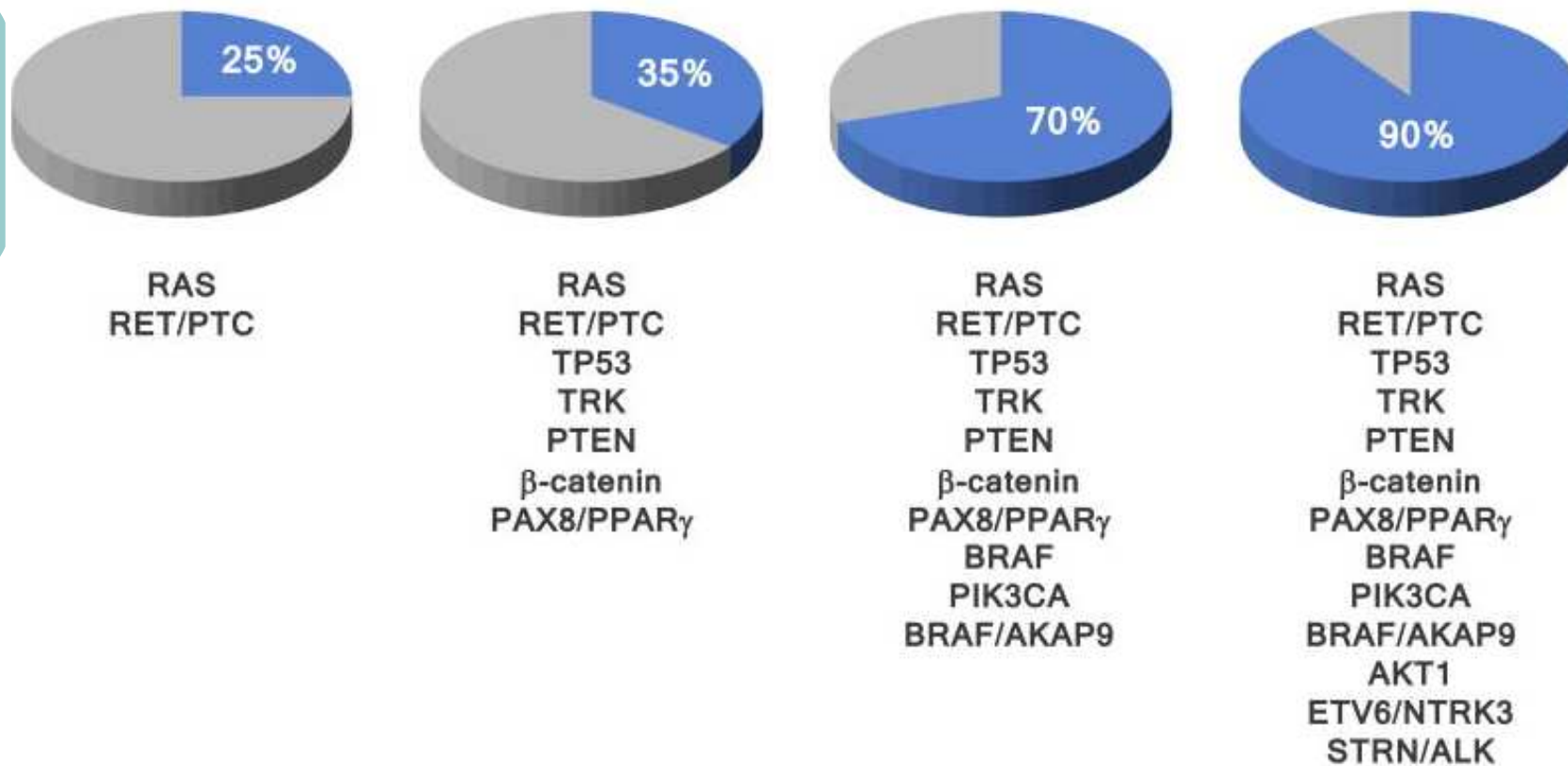


PATHWAYS MOLECOLARI NEI CARCINOMI TIROIDEI



MARKERS MOLECOLARI DEI CARCINOMI TIROIDEI

1990



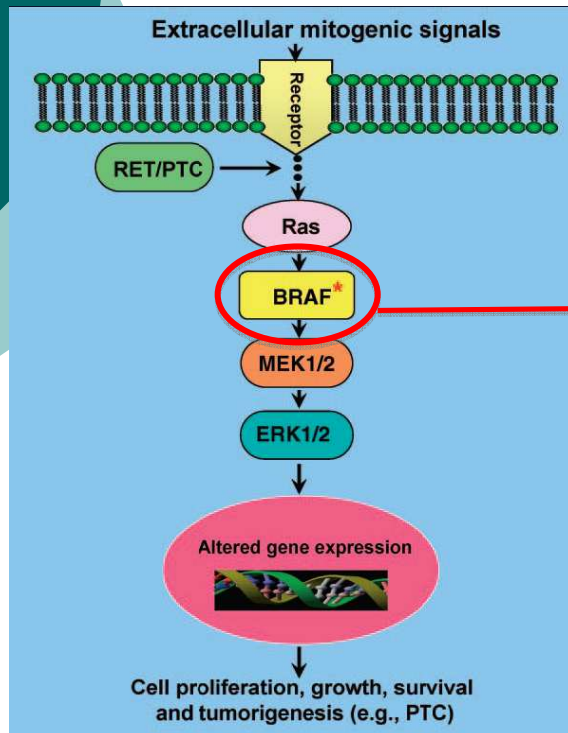
Susan J Hsiao and Yuri E Nikiforov. Endocrine related Cancer 2014



2018

MARKERS MOLECOLARI DEI CARCINOMI TIROIDEI

BRAF V600E point mutation [K601E and V599Ins]



- ✓ Specifico del PTC
- ✓ 45-80% of PTC, soprattutto istologia classica e variante a cellule alte
- ✓ ↑ rischio di invasione extratiroidea
- ✓ Stadio avanzato di malattia
- ✓ ↑ rischio di recidiva (Iodio refrattarietà)
- ✓ ↑ rischio di sdifferenziazione

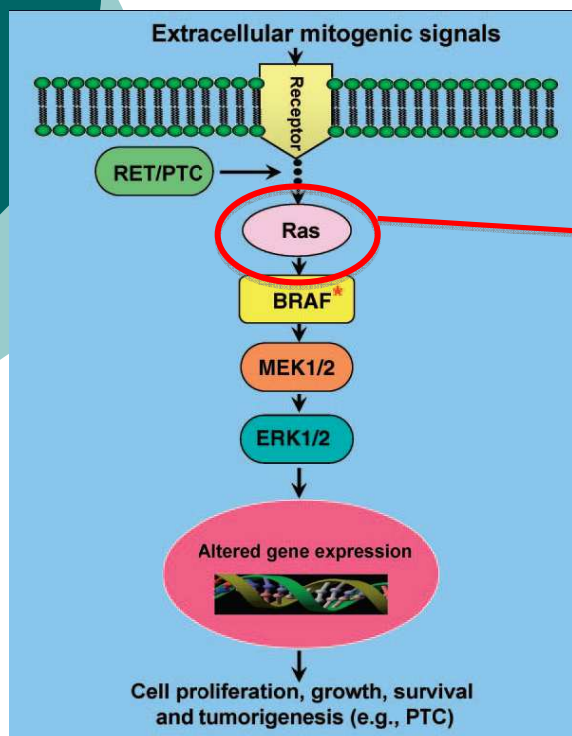
Lupi et al. J Clin Endocrinol Metab. 2007;92:4085

Nikiforova et al. Exp Rev Mol Diagn 2008, 8: 83



MARKERS MOLECOLARI DEI CARCINOMI TIROIDEI

NRAS, HRAS or KRAS point mutations



- ✓ 20-25 % degli adenomi follicolari (K-RAS) , 30-45 % dei carcinomi follicolari, 30-45 % dei carcinomi papillari variante follicolare, 20-40 % dei carcinomi scarsamente differenziati e anaplastici(N e H RAS) . H and K RAS possono tuttavia associarsi anche ai carcinomi midollari
- ✓ ↑encapsulation
- ✓ ↓lymph node metastases
- ✓ ↑ tumor size
- ✓ ↑ distant metastases
- ✓ ↑ de-differentiation and poor prognosis

ALTRI MARKERS MOLECOLARI

RET/PTC1 and RET/PTC3 rearrangement: 20% of PTC_{ch} and also FA and benign lesions, younger age, radiation exposure ↑ lymph node metastases but lower stage (micro)

PPAR γ /PAX8 rearrangement: 45% of FTC, FA and in Hurtle cell carcinomas younger age, small tumor size, ↑ vascular invasion

PTEN gene is a tumour suppressor gene that when delete or silentiate by aberrant promoter methylation enhance PI3K signaling and is associated with progression of TC. Mutations of PTEN (7% FTCs,15% ATCs).

TP53 gene is a tumor suppressor gene. 60%–80% of ATCs, in 30% of PDTC and rarely in FTCs and PTCs

CTNNB1 gene encodes β -catenin, a cytoplasmic protein that plays a role in cell adhesion and are involve in WNT signaling. Point mutations was found in 25% of PDTC ,66% of ATCs, but not in DTC.

NTRK1 gene (TRK rearrangements)

Nikiforova et al. Exp Rev Mol Diagn 2008, 8: 83

Susan J et al. Endocrine relater Cancer 2014





TEST GENETICI PER MARKERS MOLECOLARI

- gene mutations/rearrangements panels;
- gene expression panels;
- microRNA;
- Immunohistochemical stains;

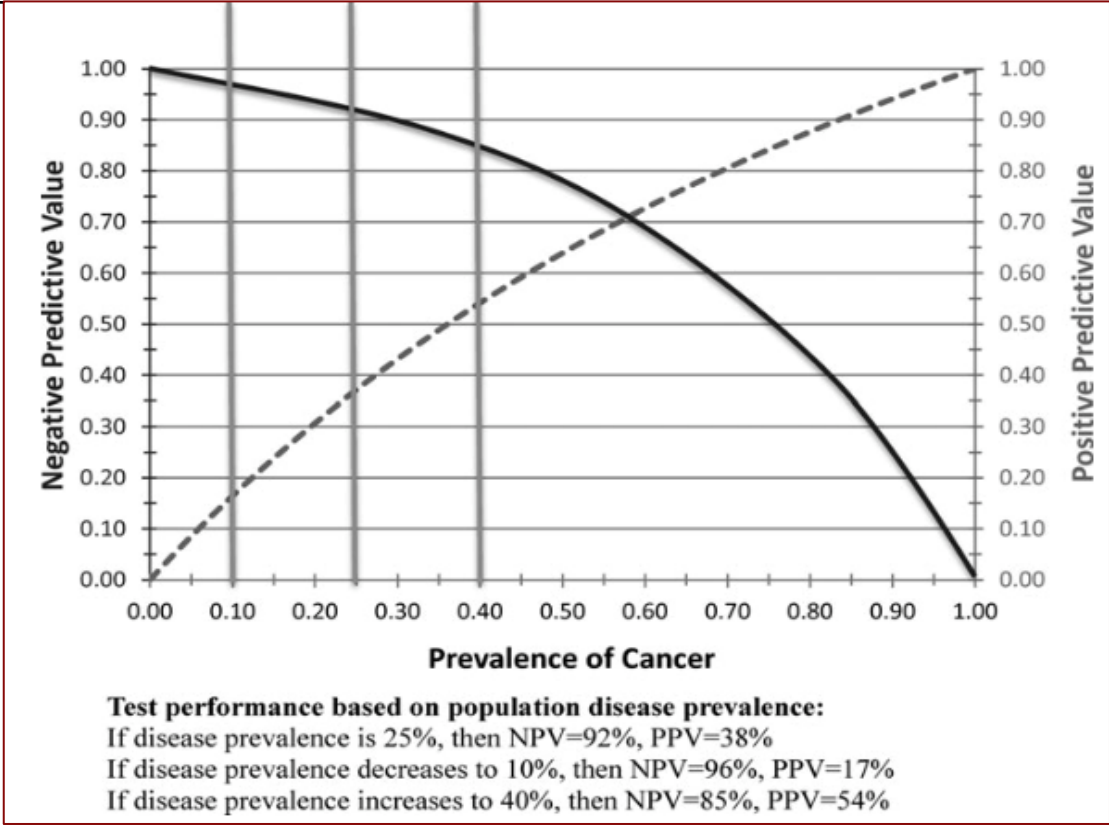
- Nikiforov et al. 2011,
- Alexander et al. 2012




PERFORMANCE DEI TEST MOLECOLARI

ROLE OUT

ROLE IN





— “Ideally, both “rule in” and “rule out”
testing should be performed when
cytology is not informative, but the cost of
this approach may override the clinical
benefit for the patient” —

**Molecular Markers in Thyroid
Fine-Needle Aspiration Biopsies**

Maria Chiara Zatelli, Efisio Puxeddu, Elisa Menicali,
Ettore degli Uberti, and Sebastiano Filetti

“Molecular testing is not sufficient
to detect all malignant cases”

Nikiforova et al. Exp Rev Mol Diagn 2008, 8: 83



TEST MOLECOLARI

4.6.1. Le indagini molecolari devono essere utilizzate per integrare, e non per sostituire, la valutazione citologica (grado A, BEL 2) e quando si suppone che il loro risultato possa influenzare in modo determinante la gestione clinica (grado A, BEL 2).

Come regola generale, le indagini molecolari non sono raccomandate nella pratica clinica nei noduli con chiare caratteristiche citologiche di benignità o malignità (grado A, BEL 2).

4.6.2. Nei noduli citologicamente indeterminati (TIR 3), il valore predittivo positivo e negativo dei test molecolari è influenzato da vari fattori: esperienza del citopatologo, caratteristiche del paziente e prevalenza di lesioni maligne nella popolazione testata (grado B, BEL 3).

Considerare la ricerca di mutazioni di BRAF, RET/PTC e, possibilmente, PAX8/PPAR γ e RAS, se i relativi test sono disponibili (grado B, BEL 2).

A causa dell'evidenza scientifica insufficiente e del limitato *follow-up*, non si raccomanda né a favore né contro l'uso nella pratica clinica dei *gene expression classifiers* (GEC) (grado B, BEL 2).

4.6.3. Attualmente, ad eccezione di mutazioni come la BRAFV600E, che ha valore predittivo positivo prossimo al 100% per il carcinoma papillifero della tiroide, l'evidenza scientifica è insufficiente per raccomandare a favore o contro l'uso dei test molecolari per determinare l'estensione dell'atto chirurgico (grado A, BEL 2).

4.6.4. Si raccomanda uno stretto *follow-up* dei noduli classificati come benigni dai GEC, perché la prevalenza di falsi negativi nei noduli indeterminati è riportata pari al 5-6% e perché il *follow-up* dei noduli negativi alla ricerca di mutazioni è ancora insufficiente (grado B, BEL 3).

2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer

The principal proposed use of molecular markers in indeterminate thyroid FNA specimens is diagnostic (ruling out or in the presence of thyroid malignancy), with the implication of a companion use to inform decision-making on primary surgical treatment (i.e. the decision to perform surgery and if so, the extent of surgery). However, the focus of this section is restricted to the clinical validity of molecular testing of indeterminate FNA specimens. It is

RECOMMENATION 13

If molecular testing is being considered, patients should be counseled regarding the potential benefits and limitations of testing, and about the possible uncertainties in the therapeutic and long-term clinical implications of results. **(Strong recommendation, Low-**

■ RECOMMENDATION 14

If intended for clinical use, molecular testing should be performed in CLIA/CAP (Clinical Laboratory Improvement Amendments/College of American Pathologists) certified molecular laboratories, or international equivalent, as reported quality assurance practices may be superior compared to other settings. **(Strong recommendation, Low-quality evidence)**



2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer

Classi di rischio ATA	
Basso	PTC con tutti i seguenti requisiti: <ul style="list-style-type: none"> • NO; o N1 (NO clinico) con ≤ 5 micro-metastasi (< 2 mm diametro massimo) • resezione completa del tumore primitivo • assenza di invasione delle strutture loco-regionali • assenza di istologia aggressiva • in caso di terapia con radio-iodio (RAI), non captazioni al di fuori della loggia tiroidea alla WBS • non invasione vascolare PTC variante follicolare incapsulato intra-tiroideo FTC intra-tiroideo e ben differenziato con invasione capsulare ma invasione vascolare assente o minima (< 4 foci) microPTC intra-tiroideo, mono- o pluri-focale (anche BRAF mutato)
Intermedio	Invasione microscopica dei tessuti molli peri-tiroidei Captazione cervicale alla WBS post RAI Istologia aggressiva PTC con invasione vascolare N1 clinico o > 5 linfonodi patologici con diametro massimo < 3 cm PTC intra-tiroideo 1-4 cm se BRAF mutato microPTC multi-focale con estensione extra-tiroidea e BRAF mutato
Elevato	Invasione macroscopica dei tessuti molli peri-tiroidei Resezione chirurgica incompleta MTS a distanza (M1) Livelli sierici di Tg suggestivi di MTS a distanza

La revisione di tale classificazione contenuta nel nuovo documento ATA 2015 (tabella 2) prevede il riferimento ad alcuni parametri, quali **l'entità del coinvolgimento linfonodale, la presenza di mutazioni, l'invasione vascolare nel carcinoma follicolare (FTC)**. In sintesi, ecco i principali elementi di novità:

- vengono inclusi nel **basso rischio ATA anche i casi con presenza di MTS linfonodali** se di piccole dimensioni (< 2 mm di diametro maggiore) e in numero < 5:
- la positività della **mutazione BRAF non modifica il basso rischio** prognostico in caso di micro-carcinoma papillare (microPTC) intra-tiroideo, anche se multi-focale, ma fa scattare il livello di rischio ATA intermedio nel caso la neoplasia sia di diametro > 1 cm o < 1 cm ma a estensione extra-capsulare;
- la presenza di **MTS linfonodali di diametro > 3 cm o la presenza di FTC con ampia invasione vascolare** sono criteri sufficienti a far scattare il **rischio ATA elevato**.



CLINICAL STUDY

BRAF V600E mutation analysis increases diagnostic accuracy for papillary thyroid carcinoma in fine-needle aspiration biopsies

Maria Chiara Zatelli¹, Giorgio Trasforini¹, Stefania Leoni¹, Ge Roberta Rossi¹, Luigi Cavazzini², Elio Roti³ and Ettore C degli

¹Section of Endocrinology, Department of Biomedical Sciences and Advanced Therapeutic Experimental and Diagnostic Medicine, University of Ferrara, Via Savonarola 9, 44 46029 Suzzara, Italy

(Correspondence should be addressed to E C degli Uberti; Email: ti8@unife.it)

ORIGINAL ARTICLE

Endocrine Care

Role of Ultrasonographic/Clinical Profile, Cytology, and BRAF V600E Mutation Evaluation in Thyroid Nodule Screening for Malignancy: A Prospective Study

Martina Rossi, Mattia Buratto, Stefania Bruni, Carlo Filieri, Federico Tagliati, Giorgio Trasforini, Roberta Rossi, Maria Donatella Beccati, Ettore C. degli Uberti, and Maria Chiara Zatelli


Thyroid. 2015 Feb;25(2):221-8. doi: 10.1089/thy.2014.0338. Epub 2014 Nov 24.

Relevance of BRAF(V600E) mutation testing versus RAS point mutations and RET/PTC rearrangements evaluation in the diagnosis of thyroid cancer.

Rossi M¹, Buratto M, Tagliati F, Rossi R, Lupo S, Trasforini G, Lanza G, Franceschetti P, Bruni S, Degli Uberti E, Zatelli MC.

ORIGINAL ARTICLE

Proposal for a novel management of indeterminate thyroid nodules on the basis of cytopathological subclasses

Martina Rossi^{1,2} · Sabrina Lupo¹ · Roberta Rossi² · Paola Franceschetti² ·
Giorgio Trasforini² · Stefania Bruni² · Federico Tagliati^{1,2} · Mattia Buratto¹ ·
Giovanni Lanza³ · Luca Damiani¹ · Ettore degli Uberti^{1,2} · Maria Chiara Zatelli ^{1,2}

Relevance of BRAF(V600E) mutation testing versus RAS point mutations and RET/PTC rearrangements evaluation in the diagnosis of thyroid cancer.

Rossi M¹, Buratto M, Tagliati F, Rossi R, Lupo S, Trasforini G, Lanza G, Franceschetti P, Bruni S, Degli Uberti E, Zatelli MC.

Molecular Test Panel (MP): BRAF-RAS and RET/PTC

TABLE 4. (A) DIAGNOSTIC VALUE OF CYTOLOGY AND OF GENETIC ANALYSES IN ALL 940 SAMPLES

	<i>Cytology</i>	BRAF	RAS	RET/PTC	<i>All genetic analyses</i>
PPV	100	100	25	34.4	63.3
NPV	50	58.4	34.3	28.2	34.2
Sensitivity	37.5	55.6	4.2	15.3	66.7
Specificity	100	100	80	53.3	31
Accuracy	61.5	72.6	33.3	29.9	53.8

TABLE 4. (B) DIAGNOSTIC VALUE OF CYTOLOGY COMBINED WITH GENETIC ANALYSES IN ALL 940 SAMPLES

	<i>Cytology combined with</i>			<i>All genetic analyses</i>
	BRAF	RAS	RET/PTC	
PPV	100	76.3	61.1	66.7
NPV	72.6	45.6	38.1	51.9
Sensitivity	76.4	40.3	45.8	82.2
Specificity	100	80	53.3	31.8
Accuracy	85.5	55.6	48.7	63.2

TABLE 4. (C) DIAGNOSTIC VALUE OF GENETIC ANALYSES IN THE 140 INDETERMINATE LESIONS ACCORDING TO BSRTC CLASSIFICATION

	<i>Class III</i>		<i>Class IV</i>		<i>Class V</i>	
	BRAF	<i>All genetic analyses</i>	BRAF	<i>All genetic analyses</i>	BRAF	<i>All genetic analyses</i>
PPV	100	52.9	100	71.4	100	90.9
NPV	92.9	83.3	69.2	70	14.3	9.1
Sensitivity	90	90	50	62.5	40	50
Specificity	100	38.5	100	77.8	100	50
Accuracy	95.7	60.9	76.5	70.6	45.5	50

BRAF increases diagnostic accuracy of cytology for PTC

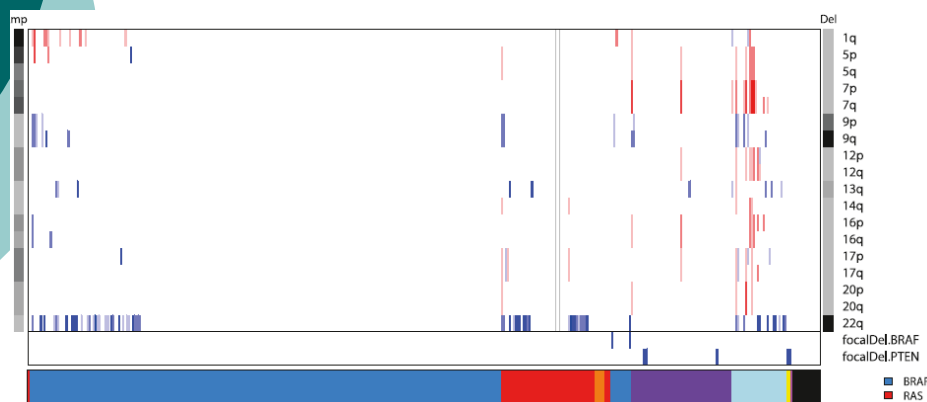
ROLE IN

IL PRESENTE E IL FUTURO



Integrated Genomic Characterization of Papillary Thyroid Carcinoma

The Cancer Genome Atlas Research Network^{1,*}



ThyroSeq:

a next-generation sequencing (NGS) based platform that expands the list of oncogenic mutations and gene fusion;



DALL'INTRODUZIONE NEL 2007 DELL'ANALISI DI BRAF

TABLE 2. DISTRIBUTION ACCORDING TO TNM STAGES AND THE PRESENCE/ABSENCE OF A GENETIC ALTERATION

TNM staging (AJCC/UICC)	Genetic alteration		Total
	Positive	Negative	
I	28	19	47
II	0	0	0
III	13	6	19
IV	6	0	6
Total	47	25	72

Rossi, Zatelli Thyroid. 2015

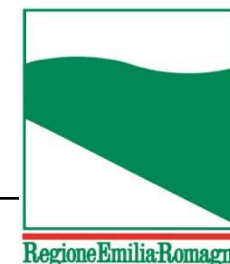


FATTA DIAGNOSI DI NEOPLASIA PIU' PRECOCEMENTE.

SONO STATI INDIVIDUATI UN MAGGIOR NUMERO DI CARCINOMI A BASSO
RISCHIO PER I QUALI NON SI E' RESA NECESSARIA LA TERAPIA
RADIOMETABOLICA SUCCESSIVAMENTE ALL'INTERVENTO CHIRURGICO.



Quale applicabilità ?



Analisi	Utilità			Erogabilità SSR
	diagnostica	prognostica	predittiva	
BRAF (V600E)	POSITIVA FORTE	POSITIVA FORTE	NEGATIVA DEBOLE	SI (condizionata)

- **BRAF : Per la diagnosi di neoplasia maligna contestualmente al primo FNA in noduli con forte sospetto clinico-US (es . ipoecogenicità, margini sfumati, microcalcificazioni) e/o sospetto/dubbio citologico di carcinoma.**
- **RAS: In seconda battuta nei noduli a citologia indeterminata o non diagnostica**





*Grazie per
l'attenzione!*



2018