

An impressionistic painting of a large crowd of people, possibly at a festival or market, with a building in the background. The style uses visible brushstrokes and a rich color palette of blues, greens, yellows, and reds.

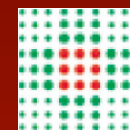
**AGGIORNAMENTO IN
ENDOCRINOLOGIA ONCOLOGICA:
NON SOLO TIROIDE**

Bologna, Hotel I Portici
Sabato, 10 Maggio 2014

**PORTARE LE EVIDENZE
SCIENTIFICHE
NELLA PRATICA CLINICA.
IL CASO DI BRAF**

Michele Zini

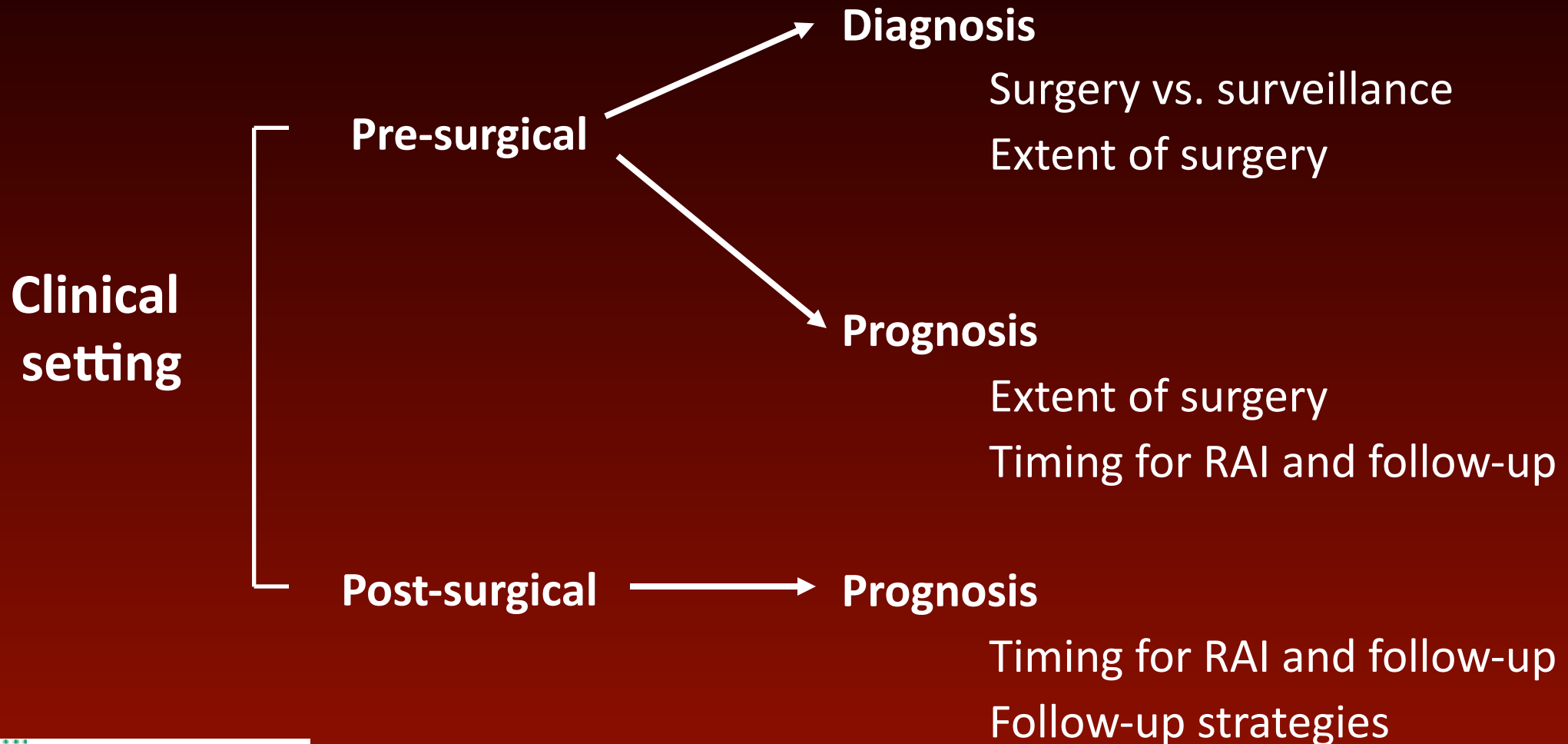
UO Endocrinologia, Arcispedale S. Maria Nuova
IRCCS, Reggio Emilia



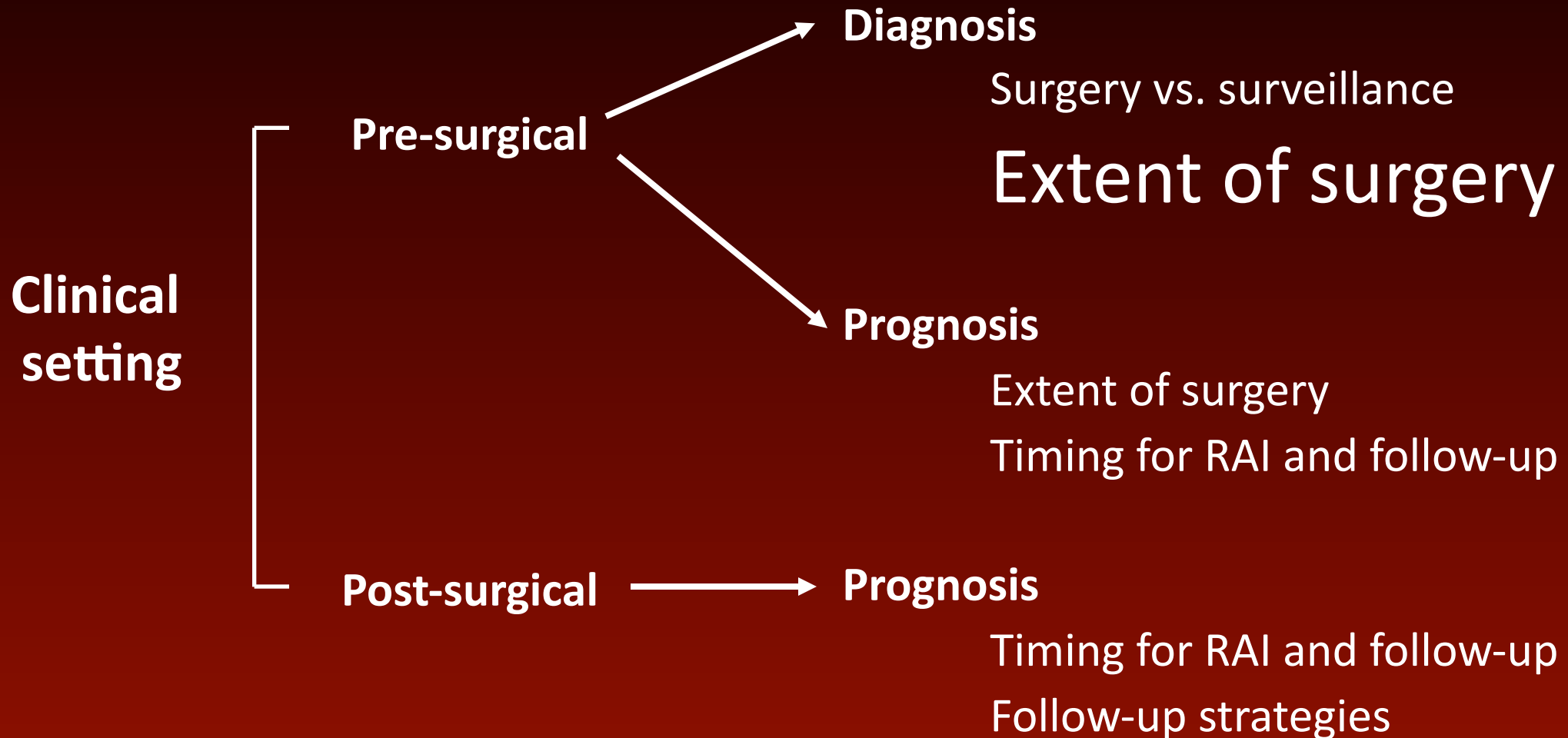
Arcispedale S. Maria Nuova
IRCCS – Reggio Emilia

Michele Zini / 2014

Utility of biomolecular markers in the management of thyroid nodules/cancer



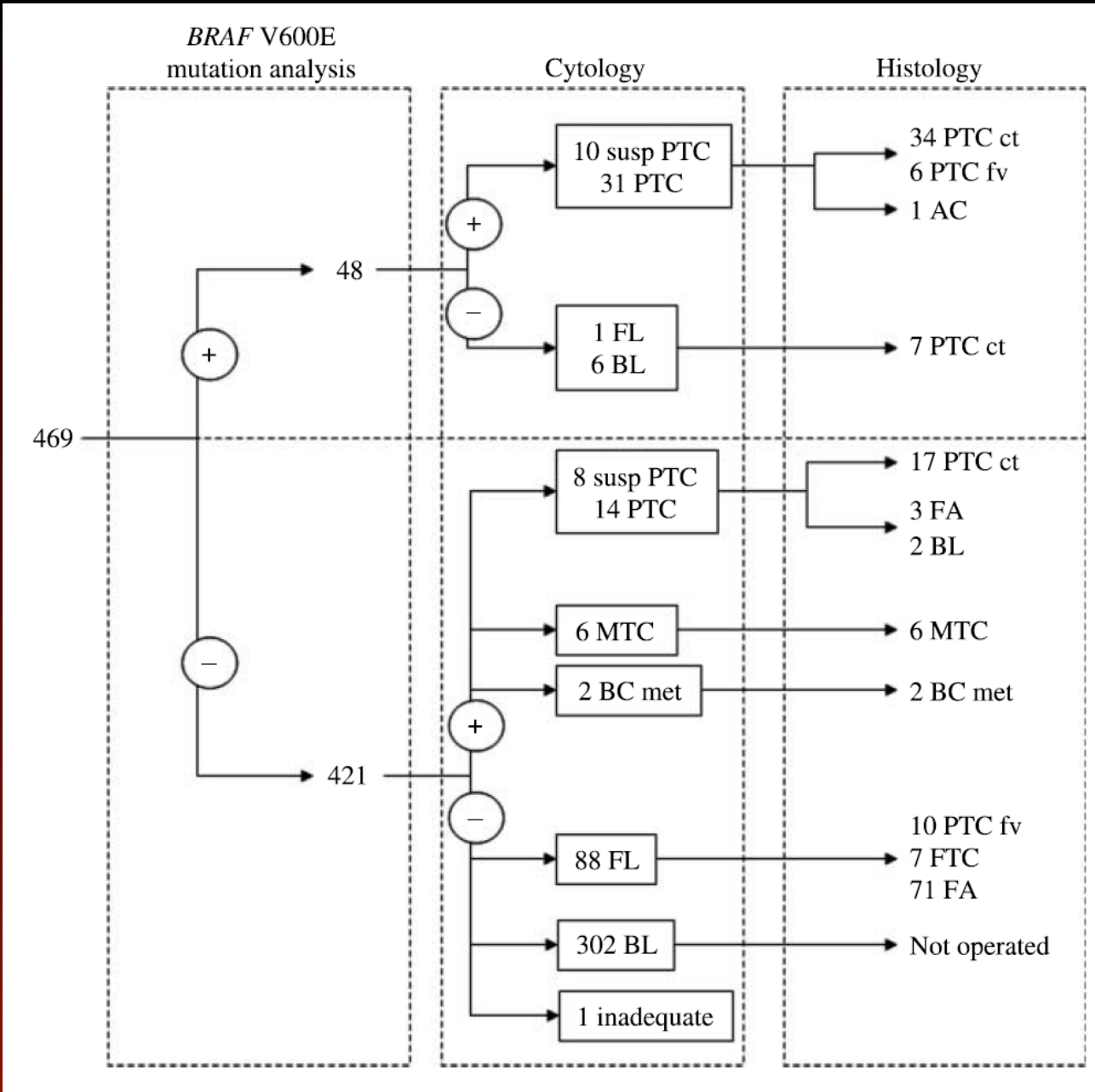
Utility of biomolecular markers in the management of thyroid nodules/cancer



BRAF MUTATION IN FNA SPECIMENS

Zatelli MC et al., European Journal of Endocrinology (2009) 161 467–473

PTC, papillary thyroid carcinoma
 PTC ct, PTC conventional type;
 PTC fv, PTC follicular variant;
 susp PTC, suspicious of PTC;
 AC, anaplastic carcinoma;
 FTC, follicular thyroid cancer;
 FA, follicular adenomas;
 MTC, medullary thyroid cancer;
 FL, follicular lesion;
 BL, benign lesion;
 BC met, metastases of breast cancer.



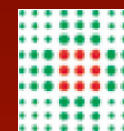
BRAF MUTATION IN FNA SPECIMENS

Zatelli MC et al., European Journal of Endocrinology (2009) 161 467–473

Table 3 Statistical evaluation.

	PPV (%)	NPV (%)	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Accuracy (%)
Cytology	92.1	95.9	77.3	98.8	95.4
V600E <i>BRAF</i> mutation	100.0	93.7	64.0	100.0	94.4
analysis					
Both	92.9	97.5	86.7	98.8	96.9

6/48 campioni BRAF positivi erano PTC variante follicolare



BRAF MUTATION IN FNA SPECIMENS

Ohori NP et al., Cancer (Cancer Cytopathol) 2013;121:197-205

Table 1. BRAF-Mutated Thyroid Cytology Cases With Clinicopathologic and Molecular Correlation

Features	AUS/FLUS ^a n = 11	FN/SFN ^b n = 4	SMC ^c n = 14	PMC ^d n = 90
PTC subtype	FV = 5 (45.4%) CL = 4 (36.4%) TCV = 1 (9.1%) SD = 1 (9.1%)	FV = 4 (100%)	FV = 3 (21.4%) CL = 10 (71.4%) WL = 1 (7.1%)	FV = 5 (5.6%) CL = 68 (75.5%) TCV = 15 (16.7%) ONC = 1 (1.1%) Other = 1 (1.1%)

**0 benign lesions and 14 FV-PTC
out of 119 BRAF-mutated nodules**

CL, classic

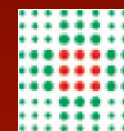
FV, follicular variant

TCV, tall cell variant

SD, solid

ONC, oncocytic

WL, Warthin-like.



BRAF MUTATION IN THY 3 NODULES

Nikiforov YE et al., J Clin Endocrinol Metab 96: 3390–3397, 2011

Atypia of undetermined significance/Follicular lesions of undetermined significance (AUS/FLUS) (n=247)

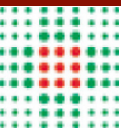
	Histology Malignant (n=35)	Histology Benign (n=212)	
Mutation Positive (n=25)	16 RAS (16 PTC,FV) 5 BRAF (4 PTC, 1 PTC,FV) 1 PAX8/PPARg (1 PTC,FV)	3 RAS (3 FA)	Sensitivity 63% Specificity 99% PPV 88% NPV 94% Accuracy 94%
Mutation Negative (n=222)	13 (11 PTC, FV, 2 PTC)	209 (166 HN, 43 FA)	

Follicular or Hürthle cell neoplasm/Suspicious for follicular neoplasm (FN/SFN) (n=214)

	Histology Malignant (n=58)	Histology Benign (n=156)	
Mutation Positive (n=38)	2 BRAF (1 PTC, 1 PTC,FV) 29 RAS (21 PTC,FV, 5 PTC, 3 FTC) 2 PAX8/PPARg (2 PTC,FV)	5 RAS (5 FA)	Sensitivity 57% Specificity 97% PPV 87% NPV 86% Accuracy 86%
Mutation Negative (n=176)	25 (16 PTC,FV, 3 PTC, 6 FTC)	151 (95 HN, 56 FA)	

Suspicious for malignant cells (SMC) (n=52)

	Histology Malignant (n=28)	Histology Benign (n=24)	
Mutation Positive (n=20)	10 BRAF (10 PTC) 7 RAS (6 PTC,FV, 1 FTC) 1 PAX8/PPARg (1 FTC) 1 RET/PTC (1 PTC)	1 RAS (1 FA)	Sensitivity 68% Specificity 96% PPV 95% NPV 72% Accuracy 81%
Mutation Negative (n=32)	9 (7 PTC, 2 PTC,FV)	23 (17 HN, 6 FA)	



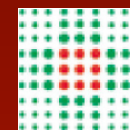
BRAF MUTATION IN FNA

Cantara S et al., J Clin Endocrinol
Metab 95: 1365–1369, 2010

Cytology (n=235)	Mutation (in cytology)	Histology
Suspicious for Thyroid cancer (n=54)	BRAF 21	PTC 21
	RET/PTC 6	PTC 6
	RAS 10	PTC 10
	None 17	PTC 9 FA 4 Hyperplastic 4
Benign (87)	BRAF 2	PTC 2
	RET/PTC 2	PTC 2
	RAS 5	PTC 2 FA 3
	None 78	PTC 2 FTC 1 FA 10 Hyperplastic 65
Indetermin ate (n=41)	BRAF 2	PTC 2
	RET/PTC 2	PTC 2
	RAS 3	PTC 2 FA 1
	None 34	PTC 1 FA 25 Hyperplastic 8
Inadequate (n=53)	BRAF 8	PTC 8
	RET/PTC 1	PTC 1
	RAS 5	PTC 2 HCC 1 FA 2
	None 39	PTC 2 FTC 2 FA 11 Hyperplastic 24

MUTAZIONE DI BRAF - sintesi

- La mutazione di BRAF è espressa:
 - in circa il 45-50% dei PTC variante classica e variante a cellule alte
 - più raramente anche nei:
 - PTC variante follicolare
 - carcinomi anaplastici
 - linfomi
- Non è espressa:
 - nei noduli benigni
 - nei carcinomi follicolari



BRAF MUTATION IN Thy3-Thy4-Thy5 FNA SPECIMENS

Casistica di Reggio Emilia

Accuracy = 71 %

Sensitivity = 53 % (I.C. 95% 46-60)

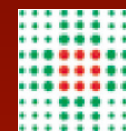
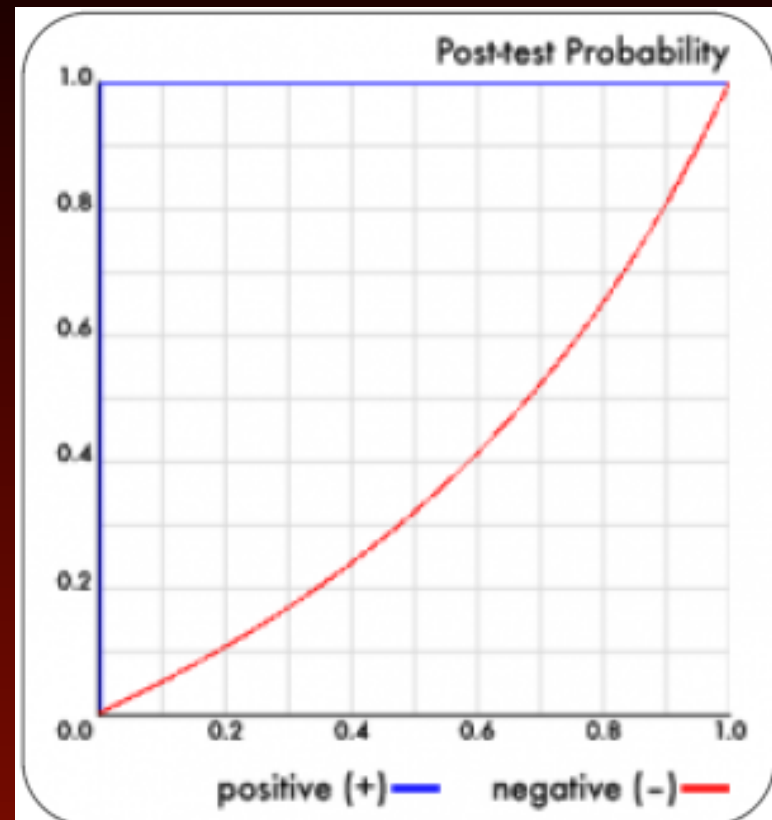
Specificity = 100 % (I.C. 95% 96-100)

Positive Predictive Value = 100 % (I.C. 97-100)

Negative Predictive Value = 57 % (I.C. 51-64)

Rapporto di verosimiglianza del test positivo = ∞

Rapporto di verosimiglianza del test negativo = 0.46 (I.C. 0.40-0.54)



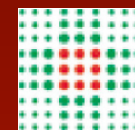
MUTAZIONE DI BRAF – significato diagnostico

- Valore predittivo positivo altissimo
- Specificità altissima
- LR+ molto > 1

→ Test ottimo per confermare

- Valore predittivo negativo basso
- Sensibilità bassa
- LR- poco < 1

→ Test poco utile per escludere



RIPARTIZIONE PER CLASSI CITOLOGICHE

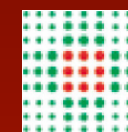
Piana S. et al., Cytopathology. 2011 Jun;22(3):164-7

Table 1. Cytological results according to the C1–C5 category scheme

Study period	C1 (%)	C2 (%)	C3 (%)	C4 (%)	C5 (%)	Total
1998–2002	1216 (16.9)	4990 (69.7)	615 (8.6)	100 (1.4)	239 (3.3)	7160
2003–2007	1014 (9.0)	8909 (79.5)	846 (7.5)	138 (1.2)	292 (2.6)	11 199
Total	2230 (12.1)	13 899 (75.7)	1461 (7.9)	238 (1.3)	531 (2.9)	18 359

Reggio Emilia 2011:

	Thy 1	Thy 2	Thy 3	Thy 4	Thy 5	totale
N. agoaspirati	239	2520	140	43	74	3016
classi %	7,9	83,6	4,6	1,4	2,5	100,0



CORRELAZIONE CITOLOGIA-ISTOLOGIA

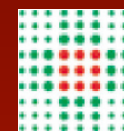
Piana S. et al., Cytopathology. 2011 Jun;22(3):164-7

Table 3. Cytohistological correlations

Histological results	Cytological category					Total
	C1	C2	C3	C4	C5	
% Surgical resection	7.2	5.6	56.2	82.1	81.5	
Benign	73	600	523	11	0	1207
Malignant	23	74	188	140	415	840
Total	96	674	711	151	415	2047
% malignant:	24*	11*	26**	93	100	

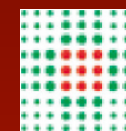
* Overestimation due to presurgical selection bias

** Partial overestimation due to presurgical selection bias



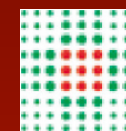
METTERE LE EVIDENZE NELLA PRATICA CLINICA – Thy 1

Classe citologica	Casi anno (approssimativi)	% malignità	stima % BRAF + sui casi
Tir 1	250	bassa (10%)	<5%
Tir 2	2500	molto bassa (<5%)	2-3%
Tir 3 senza atipie	100	20% (con predominanza di PTC var. follicolare)	~5%
Tir 3 con atipie	50	40-50% (rilevante quota di PTC variante classica)	20-25%
Tir 4	50	95%	50%
Tir 5	70	99%	50%



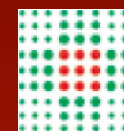
METTERE LE EVIDENZE NELLA PRATICA CLINICA – Thy 2

Classe citologica	Casi anno (approssimativi)	% malignità	stima % BRAF + sui casi
Tir 1	250	bassa (10%)	<5%
Tir 2	2500	molto bassa (<5%)	2-3%
Tir 3 senza atipie	100	20% (con predominanza di PTC var. follicolare)	~5%
Tir 3 con atipie	50	40-50% (rilevante quota di PTC variante classica)	20-25%
Tir 4	50	95%	50%
Tir 5	70	99%	50%



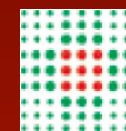
METTERE LE EVIDENZE NELLA PRATICA CLINICA – Thy 3 senza atipie

Classe citologica	Casi anno (approssimativi)	% malignità	stima % BRAF + sui casi
Tir 1	250	bassa (10%)	<5%
Tir 2	2500	molto bassa (<5%)	2-3%
Tir 3 senza atipie	100	20% (con predominanza di PTC var. follicolare)	~5%
Tir 3 con atipie	50	40-50% (rilevante quota di PTC variante classica)	20-25%
Tir 4	50	95%	50%
Tir 5	70	99%	50%



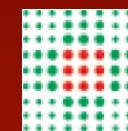
METTERE LE EVIDENZE NELLA PRATICA CLINICA – Thy 5

Classe citologica	Casi anno (approssimativi)	% malignità	stima % BRAF + sui casi
Tir 1	250	bassa (10%)	<5%
Tir 2	2500	molto bassa (<5%)	2-3%
Tir 3 senza atipie	100	20% (con predominanza di PTC var. follicolare)	~5%
Tir 3 con atipie	50	40-50% (rilevante quota di PTC variante classica)	20-25%
Tir 4	50	95%	50%
Tir 5	70	99%	50%



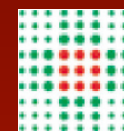
METTERE LE EVIDENZE NELLA PRATICA CLINICA – Thy 3 con atipie

Classe citologica	Casi anno (approssimativi)	% malignità	stima % BRAF + sui casi
Tir 1	250	bassa (10%)	<5%
Tir 2	2500	molto bassa (<5%)	2-3%
Tir 3 senza atipie	100	20% (con predominanza di PTC var. follicolare)	~5%
Tir 3 con atipie	50	40-50% (rilevante quota di PTC var. classica)	20-25%
Tir 4	50	95%	50%
Tir 5	70	99%	50%



METTERE LE EVIDENZE NELLA PRATICA CLINICA – Thy 4

Classe citologica	Casi anno (approssimativi)	% malignità	stima % BRAF + sui casi
Tir 1	250	bassa (10%)	<5%
Tir 2	2500	molto bassa (<5%)	2-3%
Tir 3 senza atipie	100	20% (con predominanza di PTC var. follicolare)	~5%
Tir 3 con atipie	50	40-50% (rilevante quota di PTC variante classica)	20-25%
Tir 4	50	95%	50%
Tir 5	70	99%	50%



METTERE LE EVIDENZE NELLA PRATICA CLINICA

Il protocollo ASMN Reggio Emilia

Proposta operativa

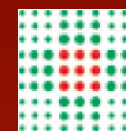
La ricerca della mutazione di BRAF verrà condotta su tutti i campioni citologici classificati come:

- Tir 3 con atipie cellulari
- Tir 4

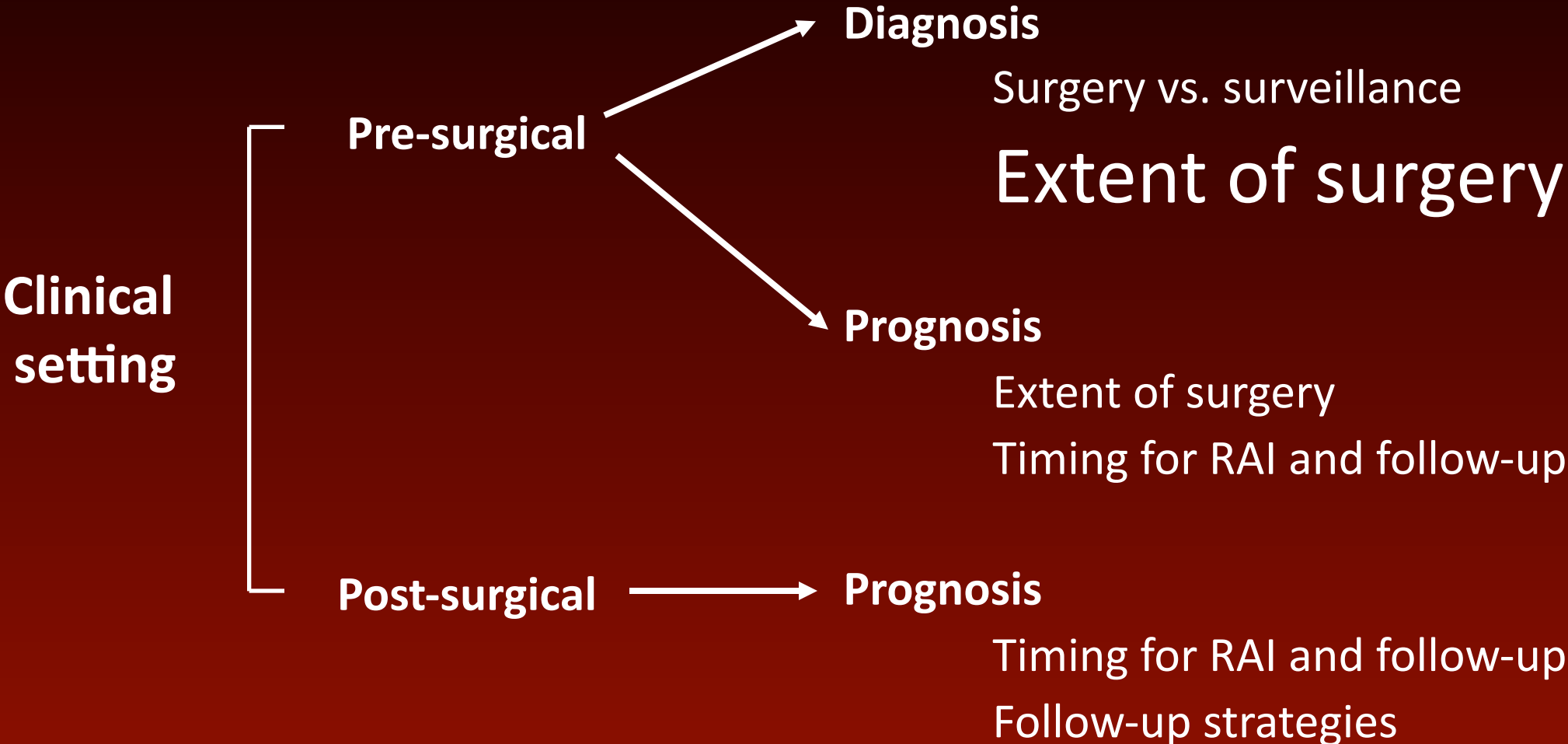
Qualora l'analisi risultasse negativa, la condotta clinica coinciderà con quella descritta nel Percorso assistenziale per i Pazienti con Tumore tiroideo, già implementata in questo Ospedale e sommariamente descritta sopra.

Qualora l'analisi risultasse positiva, i pazienti saranno considerati portatori di nodulo tiroideo maligno, e come tali gestiti per quanto riguarda indicazione chirurgica, valutazione preoperatoria, tempi di attesa, condotta chirurgica.

Operativamente, saranno gestiti come se la diagnosi citologica fosse risultata Tir 5.



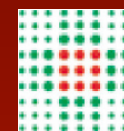
METTERE LE EVIDENZE NELLA PRATICA CLINICA



METTERE LE EVIDENZE NELLA PRATICA CLINICA

COME CAMBIA LA INDICAZIONE CHIRURGICA

	Attuale	con BRAF -	con BRAF +
Thy 3 con atipie	Lobectomia tiroidea senza es. is. intraoperatorio	Immodificata	Tiroidectomia totale con svuotamento area 6
Thy 4	Lobectomia tiroidea con es. is. intraoperatorio	Immodificata	Tiroidectomia totale con svuotamento area 6

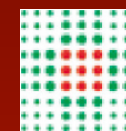


METTERE LE EVIDENZE NELLA PRATICA CLINICA

EFFETTI ATTESI DALLA INDICAZIONE CHIRURGICA BRAF-GUIDATA

	N. casi / anno		BRAF +	Lobec- tomie	Tiroidec- tomie totali	Esami istologici intraope- ratori	Reinter- venti
Tir 3 con atipie	50	senza analisi BRAF	/	50	0	0	25
		con analisi BRAF	14	36	14	0	18
Tir 4	50	senza analisi BRAF	/	0	50	50	0
		con analisi BRAF	25	0	50	25	0
Δ %				-38%	+28%	-50%	-38%

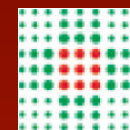
Numero complessivo interventi = -6%



USO DI BRAF NELLA PIANIFICAZIONE CHIRURGICA

BENEFICI ATTESI

- Riduzione dei doppi interventi
- Lieve riduzione del numero complessivo di interventi
- Riduzione del numero di istologici intraoperatori
- Aumento degli svuotamenti del compartimento centrale



USO DI BRAF NELLA PIANIFICAZIONE CHIRURGICA

CAVEATS

- Non può essere utilizzato per escludere pazienti dall'intervento
- Il numero complessivo degli interventi chirurgici si riduce di poco
- Aumento di interventi radicali
- Possibile overtreatment di alcuni pazienti

