



VI CORSO AGGIORNAMENTO
AME
IN ENDOCRINOLOGIA CLINICA
TORINO – 19-21 MARZO 2015

MODULO 7

I MARCATORI GENETICI IN ONCOLOGIA TIROIDEA

“Evidence into practice” :
Proposte per l’ utilizzo nella pratica
clinica

Nadia Cremonini

U.O.S.D. Endocrinologia
Ospedale Maggiore – Azienda Usl di Bologna

BETHESDA SYSTEM FOR REPORTING THYROID CYTOPATHOLOGY

Diagnostic category	Cytological diagnosis	Risk of malignancy, %	Usual management
I	nondiagnostic or unsatisfactory	1-4	repeat FNA with ultrasound guidance
II	benign	0-3	clinical follow-up
III	AUS/FLUS	5-15	repeat FNA
IV	FNS/SFN	15-30	surgical lobectomy
V	suspicious for malignancy	60-75	near-total thyroidectomy or surgical lobectomy
VI	malignant	97-99	near-total thyroidectomy



Italian consensus for the classification and reporting of thyroid cytology

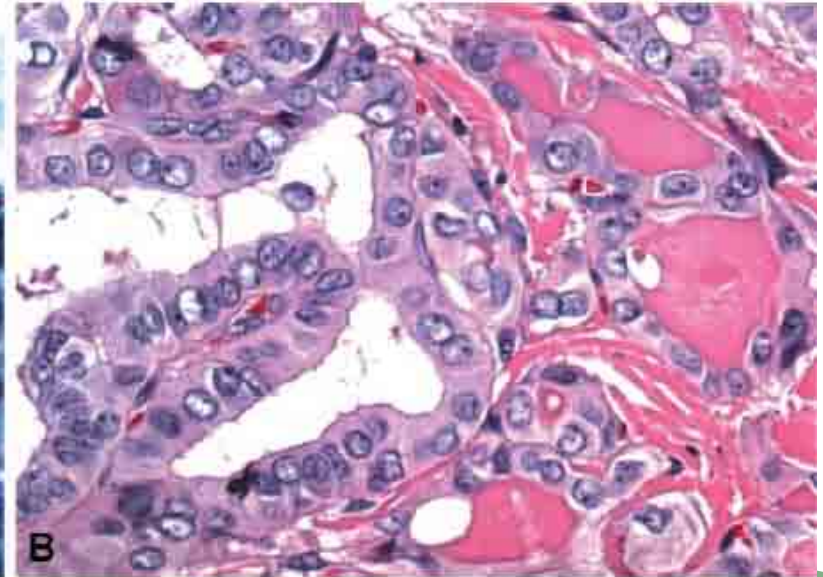
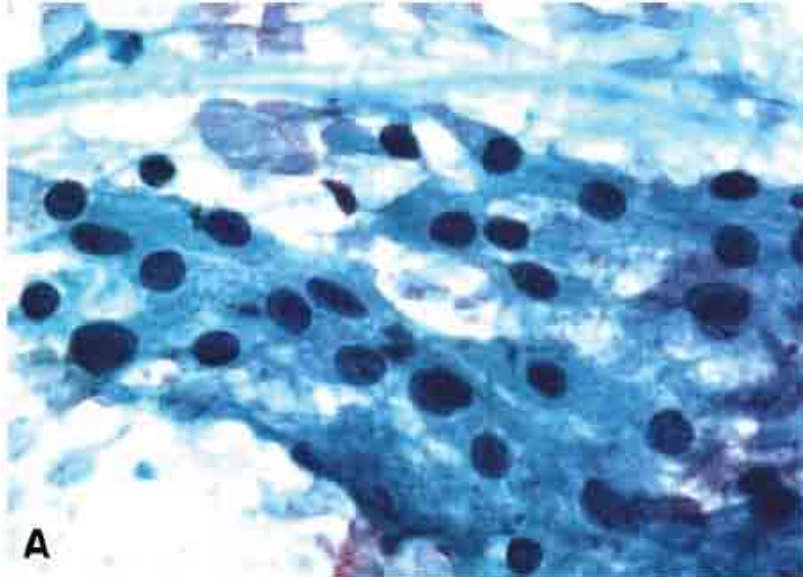
Francesco Nardi · Fulvio Basolo · Anna Crescenzi · Guido Fadda ·
Andrea Frasoldati · Fabio Orlandi · Lucio Palombini · Enrico Papini ·
Michele Zini · Alfredo Pontecorvi · Paolo Vitti

Code	Diagnostic category	Expected risk of malignancy (%)	Suggested actions
TIR1	Non-diagnostic	Not defined	Repeat US-guided FNA after at least 1 month
TIR1C	Non-diagnostic-cystic	Low (variable on the basis of clinical findings)	Evaluate the clinical setting and/or repeat FNA
TIR2	Non-malignant/benign	<3	Follow-up
TIR3A	Low-risk indeterminate lesion (LRIL)	<10 ^a	Repeat FNA/clinical follow-up
TIR3B	High-risk indeterminate lesion (HRIL)	15–30 ^a	Surgery
TIR4	Suspicious of malignancy	60–80	Surgery (consider frozen section)
TIR5	Malignant	>95	Surgery

Mutational Analysis of *BRAF* in Fine Needle Aspiration Biopsies of the Thyroid: A Potential Application for the Preoperative Assessment of Thyroid Nodules

FNAB: indeterminate
BRAF +

Histology: PTC



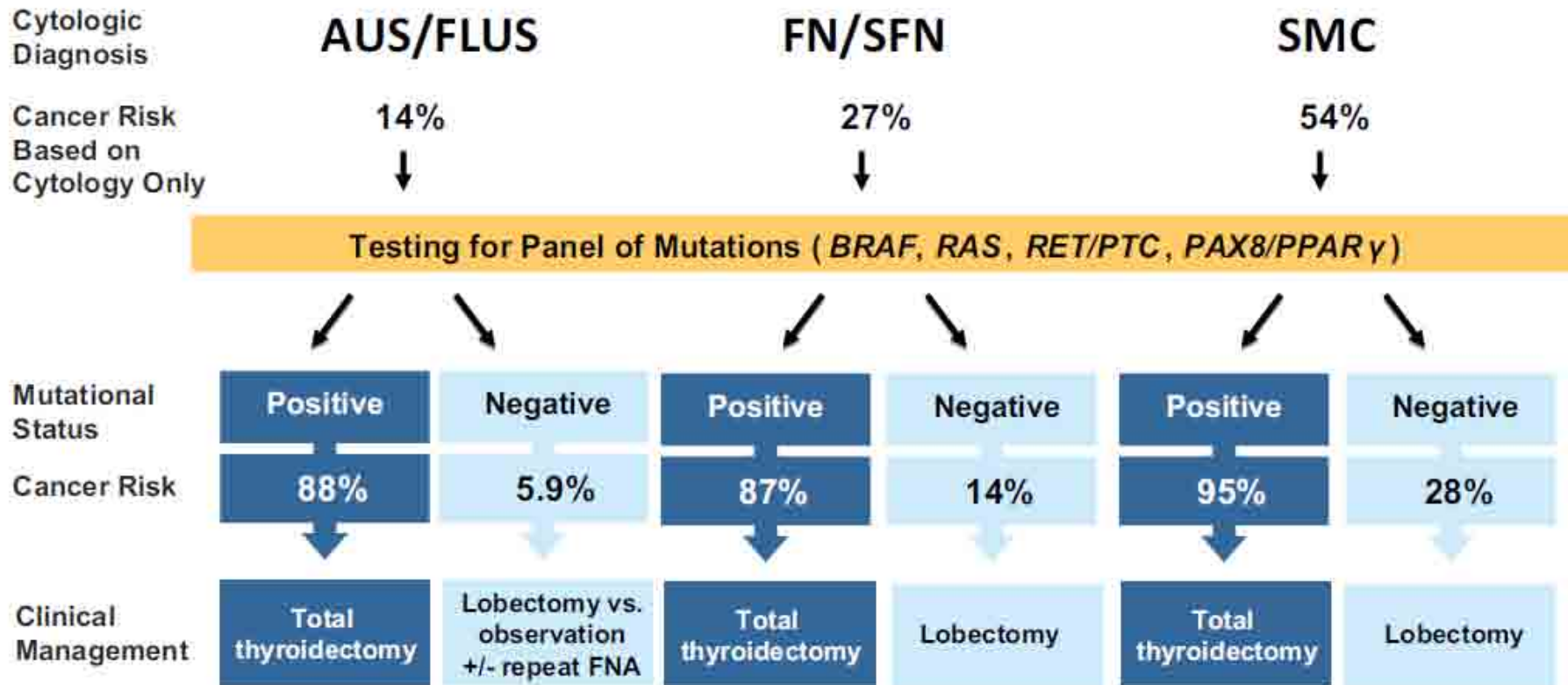
MARCATORI GENETICI: QUANDO E PERCHÈ?

- Stabilire quando procedere alla ricerca di marcatori genetici su noduli tiroidei, quali ricadute può comportare nella gestione del/la paziente?

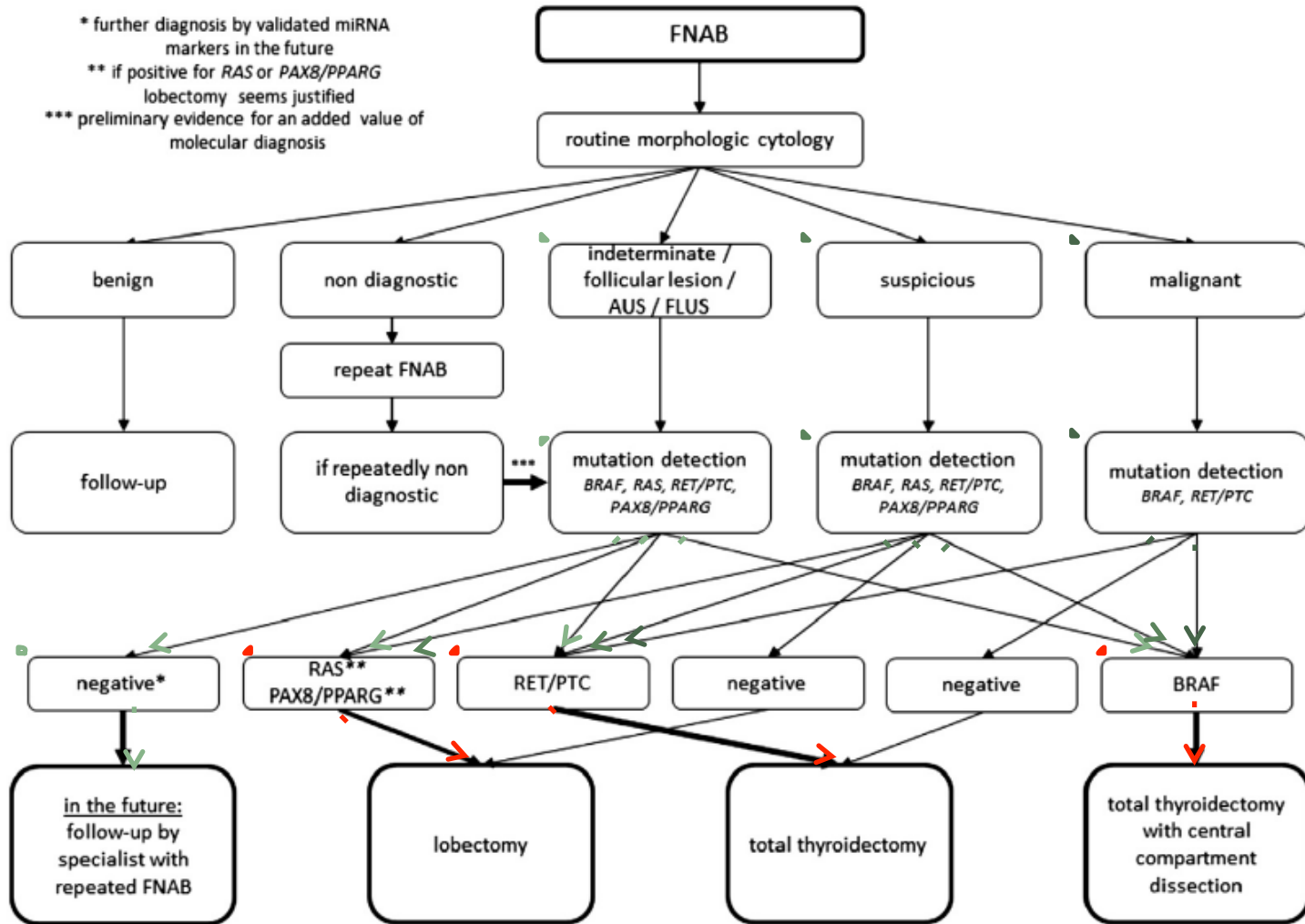
- **Dobbiamo ridurre il più possibile la chirurgia diagnostica!**
- Follow-up vs chirurgia
- Se chirurgia : quanto estenderla?
- Linfadenectomia del comparto centrale: sì o no?
- Terapia iodometabolica: sì o no?
- Terapia TSH-soppressiva?



CITOLOGIA INDETERMINATA: IMPATTO DEI MARCATORI GENETICI NELLA GESTIONE DEI PAZIENTI



DIAGNOSTICA INTEGRATA: CITOLOGIA + MARCATORI GENETICI



CASO CLINICO 1

Signora Patrizia, ora 53 aa

Non familiarità per patologia tiroidea

All'età di 44 aa: colectomia per carcinoma retto-sigma

Follow-up oncologico

All'età di 48 anni (Gennaio 2009):

FGD-PET-TC -> captazione focale al lobo destro della tiroide

TSH 1,8 μ U/ml, AbTPO negativi, Calcitonina <2 pg/ml

US collo: lobo Dx tiroideo, terzo medio, nodo ipoecogeno, margini sfumati, avascolare, di 6,8 (T) x 8 (A-P) x 9,4 (L) mm, a contatto con la capsula anteriore, adiacente alla trachea; restante parenchima omogeneo;
non linfadenopatie



CASO CLINICO 1

FNA: Citologia sospetta per ca papillare – **TIR 4** –
numerosi aggregati solidi e simil-papillari di cellule tiroidee, presenza di incisive nucleari, non immagini di pseudoinclusi citoplasmatici nucleari, colloide assente

Cosa indichiamo a Patrizia?

Chi di voi effettuerebbe la ricerca di mutazione **BRAF V600E**?



CASO CLINICO 1

Analisi di sequenza esone 15 gene BRAF:
mutazione attivante V600E (GTG → GAG)



Quale tipo di intervento ?

Se BRAF -, chi avrebbe indicato un intervento diverso?



CASO CLINICO 1

Marzo 2009: tiroidectomia totale + CC Dx

Dalla descrizione intervento: esplorazione comparto centrale: non evidenza di adenopatie

Istologia: Microcarcinoma papillare classico di 8 mm, intratiroideo;

Stadiazione istopatologica: pT1a, Nx, Mx



CASO CLINICO 2

Chiara, 32 aa

Da due anni cerca la prima gravidanza

Novembre 2014: TSH 8, AbTPO positivi

Inviata al nostro Ambulatorio

A.F. Madre con gozzo polinodulare eutiroideo

EO: nodulo al lobo sinistro, mobile, consistenza aumentata

US tiroide: lobo sinistro, polo inferiore e terzo medio, nodo ipoecogeno lievemente disomogeneo, senza alone, margini irregolari, di 27 (T) x 23 (A-P) x 36 (L) mm, scarsa vascolarizzazione peri ed intralesionale; al lobo destro nodo anecogeno di 9 mm;
non adenopatie

FNA, Citologia: numerosi aggregati di tireociti, presenza sporadica di dismetrie nucleari; rari macrofagi, colloide molto scarsa;
quadro orientativo per **lesione follicolare di significato indeterminato – TIR 3A**





a) E' utile ripetere FNA?

b) Proponiamo a Chiara l'intervento ?

c) Le consigliamo un controllo ecografico a
6 mesi?





- a) Effettuereste test molecolari?
- b) Se sì, quali?
 - BRAF V600E
 - pannello BRAF/RAS/RET-PTC/PAX8-PPAR γ
 - avendolo a disposizione, un test “role out”



CASO CLINICO 2

Effettuata ricerca di mutazioni
BRAF V600E e RAS (H, N, K)
Negativa



Proponete l' intervento chirurgico a Chiara?

Se sì, che tipo di intervento?

La presenza di una mutazione BRAF vi farebbe cambiare l' indicazione?



CASO CLINICO 3

Otello, 74 aa

A 65 aa: FAP; in terapia con propafenone

Ipertensione arteriosa

Ipertrofia prostatica

Esame TSA: descritto nodulo tiroideo destro

TSH 0.9 uU/ml, Calcitonina 3 pg/ml, AbTPO negativi

US tiroide: lobo destro, terzo medio, nodo isoecogeno disomogeneo, senza alone, margini regolari, di 12,5 (T) x 10,8 (A-P) x 15,3 (L) mm, vascolarizzazione intensa peri ed intranodale; il nodulo non è in contatto con la capsula tiroidea; restante parenchima isoecogeno, omogeneo; non adenopatie

FNA, Citologia: numerose cc tiroidee, per lo più in metaplasia ossifila, isolate e disposte in lembi o in aggregati follicolari; colloide assente.

Neoformazione follicolare della tiroide a cellule ossifile– TIR 3F



Effettuare ricerca di test
molecolari?

Se sì, quali?

Effettuata ricerca mut BRAF V600E e RAS (H, K, N)

Presenza di mutazione HRAS



MUTAZIONI RAS (H-RAS, K-RAS, N-RAS) RIARRANGIAMENTO PAX8/PPARY

	FTC	PTC vF	Ad Foll Nod Iper	PDTC	ATA
RAS (H, K, N)	40-50%	10-20%	~15%	35%	50-55%
PAX8/ PPAR γ	20-40%	~13%	0-50%		~2%



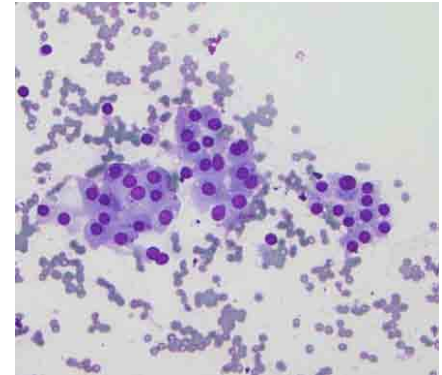


Proponete l'intervento al Paziente?

Se sì, che tipo di intervento?



NODULI TIR3A o TIR3B, *RAS* +



- I noduli a citologia indeterminata e con mutazione *RAS* presentano un rischio stimato di malignità dell'80% circa
- Dovremmo avere un comportamento analogo a quello che teniamo per i noduli TIR4



Molecular Testing of Thyroid Fine-Needle Aspirations Improves Presurgical Diagnosis and Supports the Histologic Identification of Minimally Invasive Follicular Thyroid Carcinomas

Markus Eszlinger,¹ Simonetta Piana,² Anja Moll,¹ Eileen Bösenberg,¹ Alessandra Bisagni,²
Alessia Ciarrocchi,³ Moira Ragazzi,² and Ralf Paschke¹

- Possibile contributo della conoscenza di presenza di mutazione RAS per l'anatomo patologo nell'identificazione istologica di carcinomi follicolari minimamente invasivi

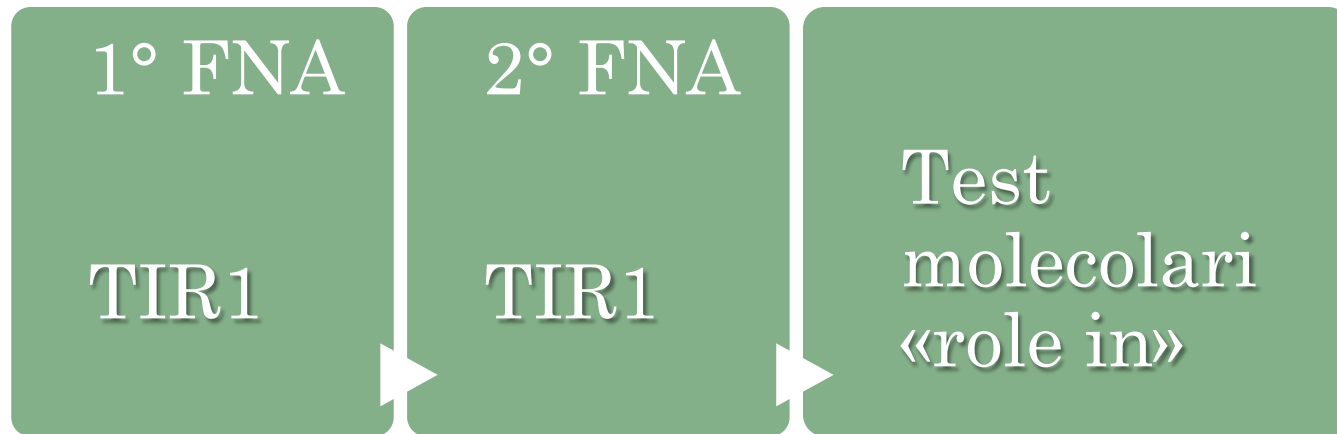


NODULI TIR3A O TIR3B, *BRAFV600E*, *RET/PTC*, *PAX8/PPARY* +

- La presenza di mutazione *BRAFV600E*, o *RET/PTC*, o *PAX8/PPAR γ* in noduli a citologia indeterminata comporta un rischio stimato di malignità > 95%
- Dovremmo avere un comportamento analogo a quello che usiamo per i noduli TIR5



TESTING PER MARCATORI GENETICI IN TIR1: CI PUÒ AIUTARE ?



- La ricerca di MG può essere utile nei campioni citologici non diagnostici per criteri qualitativi (es. preparati o colorazioni non ottimali)
- Contributo scarso nei campioni poco cellulati

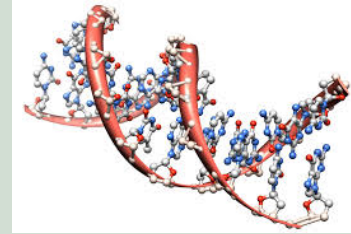
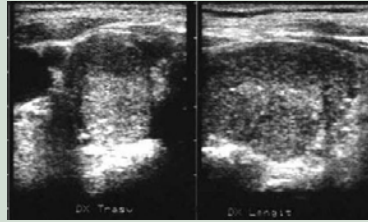


BIOLOGIA MOLECOLARE NEI NODI TIR 4 E TIR5

- In questi Pazienti l'indicazione alla chirurgia non è in discussione
- La ricerca di mutazioni somatiche va effettuata se riteniamo che nel paziente che stiamo valutando, un risultato positivo ci fa modificare l'estensione della chirurgia



MARCATORI GENETICI E PIANIFICAZIONE CHIRURGICA



O. Clinica

Età,
Comorbidità

Familiarità x
DTC

Pregressa EBRT

Opinione del
paziente

Citologia

Caratteri US

Dimensioni

Funzione
tiroidea

Biologia
molecolare

MARCATORI GENETICI SU CITOLOGIA E COUNSELING

- Se riteniamo indicato effettuare la ricerca di marcatori genetici su FNA, dobbiamo spiegare al/la paziente:
 - i possibili vantaggi e i limiti di tale indagine
 - le incertezze ancora presenti relative alle implicazioni terapeutiche e/o di follow-up del risultato



MARCATORI GENETICI: INDICAZIONI PER L' APPLICAZIONE IN CLINICA

- Conoscere la performance diagnostica citologica del nostro Centro
- Conoscere le correlazioni cito-istologiche
- Adottare un protocollo condiviso di impiego dei marcatori genetici
- Verificare i risultati sulla base di indicatori specifici per eventuale modifica del protocollo



La biologia molecolare:

- deve essere applicata in modo appropriato
- migliora la diagnosi pre-operatoria dei DTC
- è utile per la stratificazione del rischio di malignità dei noduli a citologia indeterminata
- ci aiuta nella indicazione del tipo di intervento da effettuare

MA....

- Non individua tutti i noduli tiroidei maligni
- E' un' analisi complementare
- Non sostituisce la valutazione clinica, l' US e la citologia
- Dati insufficienti di outcome della strategia chirurgica basata su biologia molecolare, e ancora meno a RAI

QUALI ALTRI STRUMENTI PER MIGLIORARE L' ACCURATEZZA DIAGNOSTICA E LA STRATIFICAZIONE DI RISCHIO DI MALIGNITÀ DEI NODULI TIROIDEI?

Targeted Next-generation Sequencing panel

50 geni:

potenziale
impatto per
citologia
indeterminata

Telomerase Reverse Transcriptase -
TERT

Mutazioni di
TERT:
prevalente nei
DTC
aggressivi

miRNA

miR-222, 328,
197 e 21:

Utile in
citologia
indeterminata





...grazie per la partecipazione...