

Università di Catania

Facoltà di Medicina e Chirurgia

Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale

"Valutazione della terapia chirurgica con resezione e ricostruzione vascolare e della terapia oncologica nei carcinomi della tiroide localmente avanzati"

Dottorato in "Biomedicina Traslazionale"

**Coordinatore Prof. Lorenzo Malatino**

Dottorando

Roberto Ciuni

Tutor

Prof. Francesco Basile

## Indice

<b><u>Introduzione</u></b>	<b><u>pag 3</u></b>
<b><u>Obiettivo</u></b>	<b><u>pag5</u></b>
<b><u>Evidenze in letteratura</u></b>	<b><u>pag 5</u></b>
<b><u>Materiali e metodi</u></b>	<b><u>pag 17</u></b>
<b><u>Risultati</u></b>	<b><u>pag 20</u></b>
<b><u>Complicanze chirurgiche ed Eventi Avversi legati al Sorafenib</u></b>	<b><u>pag24</u></b>
<b><u>Discussione</u></b>	<b><u>pag 25</u></b>
<b><u>Bibliografia</u></b>	<b><u>pag 29</u></b>

## **Introduzione**

L'incidenza del carcinoma della tiroide, il tumore endocrino maligno più frequente, indipendentemente dalle dimensioni (microcarcinoma e carcinoma), è in aumento in tutto il mondo <sup>(1-2)</sup>. Le varianti istologiche più rappresentate sono il PTC (carcinoma papillifero della tiroide) e il FTC (carcinoma follicolare della tiroide), classificati come tumori differenziati della tiroide, perché conservano la capacità di secernere ormoni tiroidei ed hanno l'attività di captare lo iodio.

L'incremento della frequenza riguarda principalmente l'istotipo papillifero, nelle sue varianti istologiche. La frequenza è particolarmente elevata nelle isole dove è presente attività vulcanica come in Islanda, Hawaii, Filippine, Giappone e ciò ha dato la possibilità di analizzare il ruolo esercitato da fattori ambientali oltre ai fattori genetici: secondo alcuni ricercatori americani nelle Hawaii e in Islanda, i responsabili sarebbero composti tossici prodotti dall'attività vulcanica e capaci di contaminare l'acqua potabile. Stessi dati sono emersi da studi condotti sul territorio della regione Sicilia <sup>(3,4,5)</sup>. A tal proposito, merita una menzione uno studio del 2015 riguardante l'aumentata incidenza di carcinoma papillifero della tiroide nei pressi del territorio etneo, secondo cui alcuni metalli, quali Boro, Manganese, Vanadio e Radon, sarebbero presenti nelle falde acquifere oltre i limiti consentiti per legge <sup>(6,7)</sup>.

Negli U.S.A. il « Surveillance Epidemiology and End Result » (SEER) riporta un'incidenza annuale di 5.9/105 abitanti per il sesso maschile e 17.3/105 abitanti per il sesso femminile nel periodo

compreso tra 2005 ed il 2009. Incidenza simile è stata riscontrata dal Registro Tumori Italiano: 4.1/105 abitanti per il sesso maschile e di 12.5/105 abitanti per il sesso femminile <sup>(4)</sup>.

Nella regione Sicilia l'incidenza è comparabile a quella nazionale e mondiale. Infatti si è osservato che l'incidenza standardizzata per età nel periodo compreso tra il 2002 e il 2004 è stata del 17.8/105(16.9-18.7 C.I.95%) abitanti per il sesso femminile e di 3.7/105(3.3-4.1 C.I.95%) abitanti per il sesso maschile, ma nella provincia di Catania (dove probabilmente è influente la presenza del vulcano attivo, Monte Etna), l'incidenza standardizzata per età è quasi il doppio : 31.7/105(29.1-34.3 C.I.95%) abitanti per il sesso femminile e di 6.4/105(5.2-7.5 C.I.95%) abitanti per il sesso maschile, con un odds-ratio di 2.242 (C.I. 95% 2.020-2.488) nel sesso femminile e di 2.052 (C.I.95% 1.652-2.565) per il sesso maschile. Altro dato complementare sono le dimensioni medie alla diagnosi, in Sicilia del  $1.5 \pm 0.04$  cm, ed a Catania  $1.30 \pm 0.05$  cm <sup>(4,5,6)</sup>.

Nella provincia catanese il tumore è multifocale nel 32% contro il 25% del restante territorio regionale, dato che va in parallelo con la frequenza più alta di mutazione del gene B-RAF<sup>(V600E)</sup>, che nella Sicilia orientale è del 45.9% e del 22.7% nella Sicilia occidentale <sup>(8)</sup>. L'aumento dell'incidenza e della mutazione B- di mutazione del gene BRAF<sup>(V600E)</sup> che nella Sicilia orientale è del 45.9% e del 22.7% nella Sicilia occidentale.

L'aumento dell'incidenza e della mutazione del BRAF<sup>(V600E)</sup> espongono la popolazione dell'area est della regione Sicilia ad una maggiore probabilità di carcinomi aggressivi con invasione dei grossi vasi del collo e del torace. In letteratura sono riportati 30 casi

di carcinomi della tiroide con invasione dei grossi vasi del collo e del torace. Dei 30 pazienti, 7 non sono stati trattati chirurgicamente: 1 caso di morte improvvisa alla diagnosi, 6 pazienti riportati nella letteratura tra la fine del 1800 ed il 1940 quindi sottoposti a trattamenti limitati, 1 caso trattato con EBRT ed 1 caso trattato con terapia radio-metabolica.

### **Obiettivo**

Ottenere uno schema diagnostico-terapeutico nei casi di carcinoma tiroideo localmente avanzati con invasione dei grossi vasi del collo e del torace che permetta la selezione dei pazienti da sottoporre a intervento chirurgico con eventuale terapia adiuvante con Sorafenib, applicando nella pratica clinica modelli terapeutici traslazionali a supporto della chirurgia aggressiva, con eventuali resezioni/ricostruzioni vascolari, ponendosi l'obiettivo di aumentare l'aspettativa di vita di questi pazienti, che sono altamente predisposti a complicanze trombo-emboliche polmonari, cardiache e cerebrali, strettamente connesse con la morte improvvisa. Questo studio ha anche l'intento di ottenere dati sul follow-up a lungo termine al fine di valutare la prognosi in ciascun paziente.

## **Evidenze in letteratura**

Nel 1879 Kaufmann and Graham riportarono i primi due casi di invasione vascolare dovuta a tumore della tiroide <sup>(9,10)</sup>. Il carcinoma papillifero, il carcinoma anaplastico, il carcinoma follicolare ed a cellule di Hurtle hanno un comportamento biologico differente che determina anche le modalità di coinvolgimento vascolare: il carcinoma follicolare o a cellule di Hurtle invadono le grosse vene attraverso le vene tiroidee, precedentemente invase in sede sottocapsulare o immediatamente a contatto con la capsula della ghiandola <sup>(11)</sup>. Invece il carcinoma papillifero e il carcinoma anaplastico guadagnano il lume vascolare arterioso o venoso dall'esterno: direttamente dalla lesione primitiva all'interno della tiroide che infiltra i tessuti circostanti, oppure attraverso invasione da parte delle metastasi linfonodali con effrazione della capsula del linfonodo <sup>(11-12)</sup>. Inoltre vi è anche la forma diffusa o invasiva del carcinoma papillare, variante follicolare: la variante follicolare del carcinoma papillare è la variante più frequente e presenta le caratteristiche nucleari tipiche del carcinoma papillare, ma un pattern di crescita di tipo follicolare. La sua forma capsulata è prognosticamente simile alla forma classica; quella diffusa o invasiva è più aggressiva, spesso multifocale e si presenta in giovani donne che al momento della diagnosi mostrano già estensione extra-tiroidea, metastasi linfonodali e invasione vascolare. In ogni caso un'esposizione diretta delle cellule maligne è un fattore predisponente per la crescita di metastasi a distanza <sup>(12)</sup>.

Il trombo neoplastico è avvolto da una capsula fibrosa che può evitare l'invasione tumorale dell'endotelio e permette la trombectomia.

L'invasione dei tessuti peri-tiroidei è riportata in circa il 5% dai casi di carcinoma papillifero della tiroide ben differenziato <sup>(13)</sup> e nel 26-53% dei casi di carcinoma anaplastico <sup>(14)</sup>. Deve essere tenuto in mente che i tumori ben differenziati della tiroide con invasione dei grossi vasi del collo e del mediastino possono presentarsi anche in giovani pazienti, soprattutto nelle aree geografiche ove le malattie tiroidee sono endemiche.

La diagnosi clinica è strettamente legata al distretto vascolare interessato. La presenza di vene del collo dilatate, edema monolaterale di un arto superiore possono indicare l'ostruzione della vena succlavia o della vena cava superiore. Tale sintomatologia, anche se non costantemente presente, è stata documentata in 14 su 30 pazienti riportati in letteratura. L'estensione in atrio o l'origine di emboli neoplastici possono essere causa di morte improvvisa in questi pazienti, ed è per tale motivo che vi è un ampio consenso in letteratura a sottoporre ad intervento aggressivo i pazienti con invasione vascolare da parte del tumore <sup>(15,16)</sup>, anche se la presenza di dilatazione delle vene con circoli collaterali sono un segno prognostico infausto <sup>(17)</sup>.

L'ecografia pre-operatoria è di fondamentale importanza anche se è strettamente operatore dipendente e la trombosi vascolare può non essere identificata. Data la rarità dei casi di carcinomi ben differenziati della tiroide con invasione dei grossi vasi del collo e del torace, in atto non vi sono linee guida o protocolli diagnostico-terapeutici validati

La presenza di trombi tumorali nei grossi vasi, non è una controindicazione alla chirurgia nel carcinoma papillifero ben differenziato della tiroide, anzi diminuisce le probabilità di ostruzione della vena cava, occlusione delle vie aeree, dell'esofago e dell'atrio, che predispongono alla morte improvvisa dei pazienti <sup>(18)</sup>.

L' ecografia power-color Doppler permette lo studio morfologico e flussimetrico del nodulo o dei noduli. In atto vi sono diverse classificazioni delle caratteristiche ecografiche che permettono di assegnare una probabilità che il nodulo sia maligno o meno, come ad esempio la classificazione TIRADS ([Thyroid Image Reporting and Data System](#))(vedi schema 1) in cui vengono analizzate ecogenicità, tipo di margini, calcificazioni (micro/macrocalcificazioni) e forma del nodulo (ovale o tonda). Più diffusa, e da integrare alla precedente, è la classificazione dei flussi vascolari intra-lesionali secondo Lagalla: patter vascolare di tipo 3b è fortemente suggestivo di carcinoma tiroideo (V.Tab 2). Inoltre l'ecografia permette lo studio delle vene ed tiroidee che possono essere occupate da trombi neoplastici, visualizzati come un lingua ecogena all'interno del lume vascolare che fluttua nel flusso sanguigno, mentre il power-color Doppler analizza le turbolenze determinate dal medesimo flusso che passa nel lume vascolare residuo <sup>(12)</sup>. Da sottolineare che la vena succlavia può essere nascosta dalla clavicola, e per tale motivo può essere misconosciuta la trombosi di tale vena all'ecografia<sup>(19)</sup>. Quando all'ecografia non è visibile la lesione primitiva, ma vi è trombosi delle vene o arterie tiroidee con interessamento dei vasi grossi del collo è plausibile effettuare la tiroidectomia totale anche senza una precisa diagnosi pre-operatoria <sup>(12)</sup>.



L'FNAC (Fine Needle Aspiration Cytology) è utile nella determinazione citologica non solo della lesione primitiva, ma anche dei linfonodi sospetti, all'interno dei quali viene dosata la tireoglobulina (Tg Wash), che nelle metastasi linfonodali è nettamente aumentata.

La diagnosi deve comprendere anche indagini di secondo livello come la TC, RM e l'angiografia.

La TC e RM possono distinguere tra la compressione estrinseca dalla ostruzione intraluminale da trombi neoplastici. L'estensione tumorale intratoracica deve fare sospettare per un possibile coinvolgimento dei grossi vasi, programmando nell'eventualità un sternotomia o un by-pass intra-operatorio. La TC in fase venosa ha il vantaggio di poter precisare i limiti prossimali e distali dell'ostruzione <sup>(20)</sup>. Inoltre vi è il tipico segno dell'anello di mezzo di contrasto: vene dilatate con difetto di riempimento del vaso che disegna un anello di mezzo di contrasto alla periferia del lume vascolare che è occupato dal trombo neoplastico; tale segno, se presente, dà l'idea sull'eventuale possibilità di rimozione tramite semplice trombectomia, quindi permette una migliore pianificazione della strategia chirurgica.

Young et al. riportano la sensibilità del 28-78%; specificità del 89,8- 99,4%; accuratezza del 83-98,8% della RM e TC per lo studio di invasione delle strutture peri-tiroidee da parte della lesione maligna, anche se vi è una scarsa frequenza di pazienti con invasione dei grossi vasi del collo e del torace e dell'esofago, riconoscendo così un limite allo studio <sup>(21)</sup>.

In atto è impossibile visualizzare l'invasione tumorale dei nervi ricorrenti, ma vi sono dei fattori predettivi che possono aiutare a predire il loro coinvolgimento:

1) invasione da parte del tumore del tessuto peri-tiroideo (spazio tracheo-esofageo) visualizzata meglio in RM.

2) se più del 25% della circonferenza del tumore è a ridosso della parte posteriore della capsula della tiroide (ove c'è il NLR)

3) riscontro TC di paralisi delle corde vocali <sup>(22,23)</sup>

Se sono presenti due fattori su tre si può affermare che vi è invasione del ricorrente con una sensibilità del 78%; specificità del 89,8%; accuratezza del 85,5% <sup>(21)</sup>.

L'angiografia permette di distinguere tra un'ostruzione ab estrinseca o la presenza di un trombo nel lume del vaso, anche se le medesime informazioni sono date dall'angio-RM, esame non invasivo ma più costoso del precedente. L'arteriografia è utile nei casi di invasione della arteria carotide comune o interna, in quanto consente lo studio dei flussi cerebrali intracranici (circolo di Willis), che possono compensare il flusso mancante durante la fase di clampaggio arterioso. Quindi l'arteriografia consente, insieme agli altri dati diagnostici, di pianificare l'intervento e nel caso non vi siano dei circoli arteriosi intracranici sufficienti ad evitare danni ischemici cerebrali si deve programmare anche un by-pass arterioso intra-operatorio con flussimetria tramite power-color Doppler.

L'ostruzione venosa si può compensare con i circoli collaterali, meno evidenti e funzionanti nella rete arteriosa. Da non sottovalutare è il dosaggio della tireoglobulina, che nei casi avanzati può essere anche più di 10 volte la norma.

Nell'ultimo quinquennio si è aggiunta alla diagnosi l'indagine genetica, con lo studio delle mutazioni più frequenti che predispongono ad una maggiore aggressività tumorale.

Numerosi modelli di tumori hanno dimostrato la sovra-espressione di singole mutazioni attivanti come RET/PTC, BRAF<sup>V600E</sup> e l'oncogene RAS sono sufficienti a promuovere la tumorigenesi tiroidea. Nel carcinoma papillifero della tiroide vi sono diverse mutazioni puntiformi nel gene BRAF (esone 15: V600E e T1799A), oppure riarrangiamenti RET/PTC, mentre nei carcinomi follicolari è frequente la mutazione puntiforme del gene RAS o la traslocazione PPAR $\gamma$ /Pax8<sup>(24,25)</sup>. Comunque, nei topi modificati geneticamente, la tumorigenesi non è indotta quando queste mutazioni sono espresse al livello endogeno, suggerendo così che altre alterazioni coesistenti sono necessarie per l'iniziazione del tumore<sup>(26,27)</sup>. Nel carcinoma papillifero della tiroide la mutazione della fosfatidilinositolo 3 -kinasi (PIK3CA) è meno frequente, mentre è frequente nei carcinomi anaplastici (23-28%)<sup>(28,29)</sup>. In aggiunta l'amplificazione di PIK3CA è stata riscontrata nel 24 % dei tumori follicolari e nel 38% dei tumori anaplastici<sup>(28)</sup>. Recentemente nel 21% dei carcinomi poco differenziati e nei carcinomi anaplastici sono state individuate mutazioni puntiformi dei geni BRAF e PIK3CA e BRAF con AKT1 (alfa serina treonina chinasi)<sup>(30)</sup>. Da sottolineare che mentre la mutazione del gene BRAF è stata riscontrata sia nel tumore primitivo che nelle metastasi, la mutazione AKT è stata riscontrata solo nelle metastasi da carcinoma papillifero della tiroide, indicando che l'AKT ha un ruolo nella progressione della malattia, ma non nell'iniziazione<sup>(31)</sup>. Quindi l'analisi genetica delle mutazioni più frequenti, come del BRAF<sup>V600E</sup> aggiunge delle informazioni complementari alla diagnosi pre-operatoria.

Ovviamente possono essere presenti dei reperti intraoperatori non visualizzati nel tempo diagnostico pre-operatorio, per i limiti proprie delle metodiche o per errore umano.

E' importante tenere a mente che il trattamento di questi pazienti è multidisciplinare, ovvero la collaborazione medico-chirurgico è essenziale.

Il trattamento viene pianificato in base ai riscontri ottenuti alla diagnosi. Le resezioni e ricostruzioni vascolari possono interessare sia le vene che le arterie. Le arterie di calibro maggiore frequentemente interessate sono la carotide comune, la succlavia e il tronco anonimo, e gli istotipi maggiormente responsabili sono, come già detto, il PTC e ATC. In questi casi con interessamento delle grosse arterie del collo e del torace la resezione en bloc è utile per ridurre la probabilità di persistenza di malattia anche se non sempre praticabile. La classica incisione trasversale secondo Kocher viene congiunta con la sternotomia per avere l'accesso al mediastino. Effettuata la tiroidectomia si procede con la preparazione dei graft secondo necessità: se tutte le arterie su descritte sono interessate si effettuerà l'anastomosi termino-laterale ad Y tra due graft di PTFE (il materiale protesico che è maggiormente utilizzato) il cui calibro varia a seconda del paziente (normalmente il calibro 12 mm è sufficiente a garantire un buon flusso) usando come filo di sutura prolene 6.0. Solo dopo che il graft è stato confezionato si può procedere alla fase vascolare vera e propria: dopo eparinizzazione sistemica, si effettua il clampaggio della arteria dalla arteria carotide comune (per evitare l'immissione di emboli nel circolo cerebrale). Successivamente si clampa la arteria succlavia destra.

L'estremità distale del graft è anastomizzato ad un nuovo ostio aortico. Prima si effettua anastomosi graft-carotide, poi si spurga la carotide, mantenendo clampato l'arteria succlavia, quindi si anastomizza l'arteria succlavia previa purga da aria e coaguli. Quando possibile la trombectomia è preferita alla resezione e ricostruzione vascolare perché espone a minori complicanze e riduce i tempi operatori.

Nel caso di coinvolgimento delle vene maggiori, è più frequente la trombectomia, e ciò dipende dalla diversa biologia del tumore che, come esposto precedentemente, conquista il lume dei grossi vasi partendo dalle vene tiroidee sottocapsulari o peri-capsulari, seguendo il flusso sanguigno, inoltre il trombo neoplastico spesso presenta una capsula di fibrina che lo separa dall'endotelio vascolare, permettendo così la rimozione tramite venotomia e ricostruzione tramite sutura semplice. Quando il trombo neoplastico invade anche l'endotelio, a volte fino alla tonaca muscolare, è necessaria la sezione della vena interessata e successiva ricostruzione. Il graft utilizzato, frequentemente di PTFE, è confezionato secondo la necessità. Secondo Bacha e Koike la presenza di stasi venosa e presenza di circoli collaterali controindica all'intervento perché ciò esporrebbe il paziente ad un alto tasso di complicanze <sup>(32)</sup>.

Gardner et al. enfatizzano che i pazienti con l'invasione vascolare dei grossi vasi hanno una probabilità più elevata a sviluppare metastasi a distanza<sup>(32-12)</sup>. Nei tumori iodio sensibili la terapia radiometabolica con <sup>131</sup>I viene effettuata a dosaggi maggiori rispetto la norma al fine di ridurre la possibilità di recidive locali. La terapia radio metabolica non è costantemente efficace poiché non sempre

viene espresso il symporter NIS ( $\text{Na}^{2+}/\text{I}$  symporter), e ciò accade nel 30% dei pazienti sopra 45 e nei pazienti che hanno tumori poco differenziati. L'efficacia della EBRT (external beam therapy) nel trattamento dei carcinomi della tiroide è controversa, in quanto non vi sono degli studi prospettici randomizzati per verificarla, ma vi è una buona evidenza che l'EBRT è efficace nel controllo locale nei pazienti R2 (con residui macroscopici post-chirurgici)<sup>(20)</sup>. Nei pazienti con ostruzione venosa di lunga data, i circoli collaterali suppliscono bene la funzione dei vasi ostruiti, e per tale motivo la chirurgia solitamente è ben sopportata, ma quando non è possibile procedere con l'intervento chirurgico, l'uso di stent a fini palliativi può migliorare la sintomatologia loco-regionale<sup>(33)</sup>. Nei pazienti in cui la malattia progredisce rapidamente è necessario fornire la terapia medica di supporto<sup>(34)</sup>.

La sopravvivenza dopo intervento e terapia radiometabolica aumenta con una mediana di 27 mesi (intervallo compreso tra 4-58 mesi), anche se, secondo i dati riportati in letteratura, 12 pazienti sono deceduti per complicanze post-operatorie (mediastiniti, tromboembolie, emorragie); ma i pazienti non trattati con intervento e terapia radiometabolica hanno avuto una sopravvivenza media di 39 giorni dalla diagnosi<sup>(34)</sup>.

Oltre alle terapie convenzionali, diversi studi con modelli terapeutici traslazionali di laboratorio stanno cercando di fare fronte ai casi di tumori avanzati non "avid" di iodio, proponendo diverse molecole e terapie neo-adiuvanti. In atto vi sono diverse molecole in studio ma l'attenzione dei ricercatori se è focalizzata sul calcitriolo, venatinib, desatinib, Sorafenib ed il PLX4720.

Il calcitriolo modula, sia in vitro che in vivo, la proliferazione e differenziazione di differenti linee cellulari di vari tipi di tumori <sup>(35,36)</sup>, includendo i carcinomi tiroidei, portando all'accumulo dell'oncosoppressore p27 (in vitro) <sup>(37)</sup>. I modelli ortotopici di topi con carcinoma follicolare indotto (WRO cell line) sono stati trattati con 0,75 µg/kg di calcitriolo intraperitoneale tre volte alla settimana, ed il calcitriolo ha ripristinato il corretto funzionamento della p27, promuovendo la differenziazione cellulare, con riduzione del volume tumorale del 38% e riduzione della crescita di metastasi.

Il Venatinib è un inibitore non selettivo delle tirosin-kinasi ed ha come target EGFR, VEGFR2 ed il gene RET. Diversi studi hanno correlato la progressione e l'aggressività del carcinoma con la mutazione ed espressione dei geni RET <sup>(38)</sup>, EGFR e VEGF <sup>(39,40)</sup>, così il venatinib ha la capacità di inibire la crescita tumorale (osservato in modelli in vitro che in vivo) <sup>(41)</sup>. In trial clinici in pazienti con il carcinoma midollare metastatico il venatinib ha migliorato la sopravvivenza fino a 19.3-30.5 mesi, comparato con il placebo, anche se gli effetti collaterali sono frequenti, non modificando però la sopravvivenza libera da malattia, con meccanismi ancora non chiari <sup>(42)</sup> quindi avrebbe un'attività prevalentemente frenante la crescita tumorale.

Il desatinib ha dimostrato avere capacità inibitorie sulla famiglia delle Src delle proteine tirosin-kinasi (SFKs) che regolano i processi di crescita, sopravvivenza, invasione e migrazione del tumore <sup>(43)</sup>. Le SFKs sono attivate nelle linee cellulari dei PTC e nei carcinomi anaplastici, inoltre delle kinasi di adesione focale fosforilate (quindi attivate) sono state riscontrate nei tumori papilliferi <sup>(44)</sup>. Quindi il

desatinib ostacolerebbe questo processo, rendendolo utile come adiuvante in terapia farmacologica.

Il Sorafenib è un inibitore multi-kinasi che inibisce CRAF, VEGFRs, BRAF ed altri oncogeni <sup>(45,46)</sup>. Studi in vivo hanno dimostrato che il Sorafenib può inibire la crescita di differenti linee cellulari tumorali, comprese quelle tiroidee <sup>(47,48)</sup>.

Il PLX4720, sul quale è puntata l'attenzione dei ricercatori, è un inibitore selettivo e potente per il BRAF <sup>V600E</sup> - mutato nelle cellule umane <sup>(49)</sup>. In modelli di laboratorio il PLX4720 ritarda o induce la regressione tumorale, senza tossicità evidente, soprattutto nelle metastasi polmonari dove gli animali trattati hanno avuto una regressione fino all'80% del volume delle metastasi contro il ramo controllo non sottoposto al farmaco, ed la sopravvivenza fu allungata di 49 giorni, con reversione della cachessia <sup>(49)</sup>.

PLX4720 è stato utilizzato in laboratorio come neo-adiuvante la tiroidectomia nei modelli ortotopici <sup>(50)</sup>.

Il protocollo sperimentale prevede la somministrazione del farmaco dopo 7 giorni dall'impianto del tumore sul modello ortotopico, e continuata fino a 21 giorni dopo la tiroidectomia. Il braccio di controllo non venne sottoposto ad intervento. Dopo 50 giorni i modelli erano ancora in vita con riduzione del tasso di cachessia, 6 topi che hanno ricevuto il solo farmaco non hanno presentato recidiva fino al 35° giorno, con riduzione delle metastasi polmonari, mentre i topi soggetti anche ad intervento hanno avuto un tasso di persistenza e recidiva della malattia a distanza più basso rispetto al braccio di controllo.



TIRADS				
		RISCHIO DI MALIGNITA' %		INDICAZIONI
1	NORMALE	+/- 0	CISTI COLLOIDE NODULO SPONGIFORME MACROCALCIFICAZIONI ISOLATE IPERTIROIDISMO TIROIDITE SUBACUTA TIPICA INSIEME DI NODULI ISOECOGENI ICONFLUENTI	SORVEGLIANZA
2	BENIGNO (4% DEI NODULI)		ISO O IPOECOGENO ASSENZA DI SEGNI DI MALIGNITA'	SORVEGLIANZA SE IN ACCRESCIMENTO FNAC
3	MOLTO PROBABILMENTE BENIGNO 4% DEI CARCINOMI, 42% DEI NODULI	0,25	MODERATAMENTE IPOECOGENO (ES: VASCULARIZZAZIONE CENTRALE)	FNAC
4a	SCARSO SOSPETTO DI MALIGNITA' 41% DEI CARCINOMI, 51% DEI NODULI	6	MODERATAMENTE IPOECOGENI (MICROCALCIFICAZIONI)	FNAC
4b	FORTE SOSPETTO DI MALIGNITA' IL 43% DEI CARCINOMI, IL 3% DEI NODULI	69%	SOLIDO CON CONTORNI IRREGOLARI ED IPOECOGENO	FNAC OBLIGATORIA
5	QUASI CERTAMENTE MALIGNO 11% DEI CARCINOMI, 0,3% DEI NODULI	>99	SOLIDO IPOECOGENO MICROCALCIFICAZIONI CONTORNI IRREGOLARI VASCULARIZZAZIONE CENTRALE	FNAC OBLIGATORIA

TABELLA 1

Pattern Vascolare	
I	ASSENZA DI VASCOLARIZZAZIONE
II	VASCOLARIZZAZIONE PERILESIONALE
IIIa	VASCOLARIZZAZIONE INTRALESIONALE
IIIb	VASCOLARIZZAZIONE PERI ED INTRALESIONALE
IV	INFERNO TIROIDEO, VASCOLARIZZAZIONE AUMENTATA SU TUTTA LA GHIANDOLA (M. DI BASEDOW)

TABELLA 2

## **Materiali e metodi**

Il reclutamento dei pazienti è iniziato a Gennaio del 2016 e durato sino a maggio del 2019. I pazienti sono afferiti da diversi centri regionali (Ospedale "Policlinico Paolo Giaccone" di Palermo, ASP di Agrigento, Ragusa, Enna e Caltanissetta). Il numero di pazienti raggiunto a maggio del 2019 è stato di 54. Sono stati selezionati i pazienti con i seguenti criteri d'inclusione: 1) già sottoposti a tiroidectomia totale 2) con malattia localmente avanzata e assenza di metastasi a distanza; 3) diagnosi post-operatoria di carcinoma papillifero della tiroide; 4) sottoposti a trattamento radio metabolico con  $^{131}\text{I}$  e divenuti refrattari ai trattamenti, quindi con persistenza o recidiva di malattia; 5) Mutazione V600E B-Raf.

Sono stati esclusi dallo studio i pazienti con: 1) carcinoma anaplastico, carcinoma midollare e follicolare della tiroide; 2) performance status scadente (dal 50 al 10% scala Karnofsky)

Durante il 2016 sono stati reclutati 15 pazienti, durante il 2017 sono stati reclutati 19 pazienti, durante il 2018 sono stati 14, e 6 pazienti dal Gennaio 2019 a Giugno 2019. Il tempo medio dalla diagnosi all'inserimento nello studio è stato di 3.1 (intervallo 1.4- 4.1) anni.

I pazienti reclutati sono divisi in due bracci: il primo (braccio sperimentale) che comprende tutti i pazienti che sono stati sottoposti a second-look chirurgico ed eventuale terapia con Sorafenib; il secondo (braccio di controllo) comprende i pazienti che hanno ricevuto solo trattamento con Sorafenib.

L'intervento di second-look acui sono stati sottoposti i pazienti del braccio sperimentale prevede: linfadenectomia cervico-mediastinica con resezione dei vasi inglobati dalle metastasi e ricostruzione dell'asse vascolare con protesi di PTFE e anastomosi termino-terminale.

La risposta dei pazienti del braccio sperimentale è stata valutata attraverso il dosaggio seriato della Tireoglobulinemia sierica e degli Anticorpi-antitireoglobulina a 3, 6, 9, 12 e 18 mesi, associata a ecografia e TC ed eventuale TC/PET a 3, 6, 12 e 18 mesi, classificando i pazienti seguendo le linee guida dell'American Thyroid Association: Risposta Eccellente, Risposta Indeterminata e Risposta Biochimica/Morfologica incompleta. In caso di risposta biochimica/morfologica incompleta il paziente è stato avviato a terapia con Sorafenib. Negli altri casi i pazienti sono stati sottoposti a solo follow-up fino a eventuale cambiamento dello stato clinico/laboratoristico.

I pazienti inclusi nel braccio di controllo sono avviati al follow-up, valutati sia con RECIST 1.1, quindi attraverso TC TC/PET a 3, 6, 12 e 18 mesi che con il dosaggio seriato della Tireoglobulinemia sierica e degli Anticorpi-antitireoglobulina a 3, 6, 9, 12 e 18 mesi.

La valutazione della regressione/stabilità o avanzamento della malattia è stata valutata usando la stratificazione del rischio dell'American Thyroid Association:

Risposta eccellente: risposta eccellente alla terapia che ha portato la tireoglobulina sierica e anticorpi anti-tireoglobulina indosabili, e risoluzione della malattia all'imaging;

Risposta biochimica/morfologica incompleta: diminuzione della tireoglobulina sierica e anticorpi anti-tireoglobulina con quadro imaging in risoluzione;

Risposta incompleta: livelli di tireoglobulina sierica e anticorpi anti-tireoglobulina stabili o in lieve aumento con quadro imaging stabile o in progressione.

I dati quantitativi sono stati descritti come media (DS), i dati qualitativi sono espressi in percentuali. La Progression Free Survival (PFS) è stata definita come il tempo trascorso tra l'inizio della terapia o dell'intervento chirurgico e la progressione di malattia o morte. La PFS a 18 mesi e la curva di sopravvivenza globale a 18 mesi sono stati calcolati usando la curva di Kaplan-Meier.  $p < 0,05$ , con livelli di confidenza al 95% ed intervallo di confidenza al 5,06%. I calcoli statistici sono stati effettuati con SPSS v. 20 e con MedCal v. 18.2.1

## **Risultati**

Sono stati reclutati numero 54 pazienti che soddisfano i criteri d'inclusione, di questi in 29 pazienti è stato possibile ottenere il follow-up completo di 18 mesi; nei restanti 15 il follow-up è ancora in corso. L'età media all'ingresso della terapia è stata di  $54 \pm 12.9$  anni con un intervallo compreso tra 26-78 anni; la media dell'indice di massa corporea  $26 \text{ kg/m}^2 \pm 3.34$  (intervallo 19.8-32.1  $\text{kg/m}^2$ ). I valori della Tg all'ingresso nello studio sono  $54,24 \text{ ng/ml} \pm 16,24$  (intervallo 23-77  $\text{ng/ml}$ ) e omogenei nei due gruppi prima dell'ingresso nello studio ( $p=0.364$ ), così come i valori degli anticorpi-anti tireoglobulina ( $p=0.219$ ).

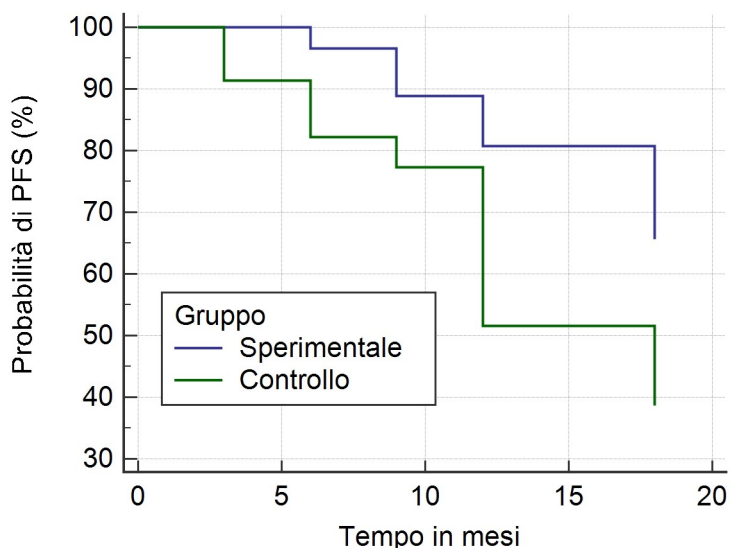
Il 53.70% dei pazienti sono state donne, il 46.30% uomini. I dati dei due bracci sono riportati in sintesi nella tabella 3. La presenza di tumore localmente avanzato con interessamento delle strutture vascolari locali è stato accertato all'ingresso dello studio dopo aver sottoposto tutti i pazienti ad Angio-TC.

	<b>Braccio controllo</b>	<b>Braccio sperimentale</b>	<b>P</b>
<b>Sesso</b>	M 47.82% F 52.17%	M 45.16% F 54.84	0.182
<b>Età</b>	55.7 (±12.4)	53.87 (±13.53)	0.245
<b>IMC</b>	25.08 (±3.47)	26.68 (±3.13)	1.021
<b>Karnofsky</b>	25.03% (±12.54)	27.58% (±12.32)	0.945
<b>Tg pre-studio</b>	50.52 ng/ml (±20.36)	57.64 (±14.14)	0.076
<b>AbTg pre-studio</b>	276.17 (±58.46)	211.17 (±49.43)	0.871

**Tabella 3: caratteristiche dei di pazienti del braccio controllo e di quello sperimentale.**

Tutti i pazienti reclutati erano già stati sottoposti a trattamento radiometabolico con <sup>131</sup>I, ma refrattari alla RAIT, ovvero: assenza di captazione nella scintigrafia post trattamento (49.8%); almeno una lesione non iodio-avida dopo scintigrafia post trattamento (28%); paziente con progressione strutturale a 12-16 mesi dal RAIT, anche se avidi di Iodio (17.3%), oppure pazienti che hanno ricevuto più di 600mCi complessivi ma senza segni di remissione (5.9%).

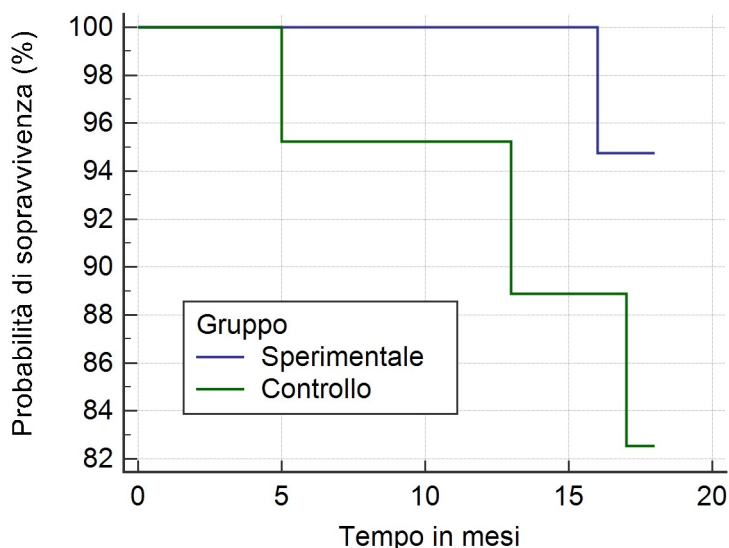
La media della PFS a 18 mesi è stata di 16,407 mesi nel braccio sperimentale, mentre nel braccio controllo è stata di 13,618 mesi (p=0.0399) (vedi figura1)



**Figura 1: Analisi di Kaplan-Meier PFS a 18 mesi .**

Fino a questo momento dello studio si sono registrati 4 decessi: 1 (3.23%) nel braccio sperimentale e 3 nel braccio di controllo (13.04%). Il decesso nel braccio sperimentale è avvenuto a 6 mesi, gli altri si sono avuti a 13, 16 e 17 mesi. La causa di morte nel braccio sperimentale è stata per infezione della protesi vascolare e relativo shock settico (batterio selezionato dalle emocolture: *Pseudomonas Aeruginosa* resistente ai carbapenemi). Le altre tre morti si sono registrate per trombosi neoplastica venosa (n1), e per avanzamento della malattia neoplastica (n2). La media della sopravvivenza nel braccio di controllo è stata di 17 mesi mentre la media di sopravvivenza nel braccio sperimentale è stata di 17.89 mesi, con una differenza non statisticamente significativa ( $p=0.197$ ). (vedi figura2) .Ciò rappresenta un bias che non permette di valutare la corretta significatività delle medie di sopravvivenza così calcolate.





**Figura 2: Analisi di Kaplan-Meier della Sopravvivenza**

Durante il follow-up del braccio sperimentale su 31 pazienti, 22 hanno avuto una risposta eccellente a 3 mesi, 4 hanno avuto una risposta indeterminata, e 5 pazienti incompleta data l'impossibilità di ottenere la radicalità oncologica. Al follow-up a 18 mesi, dei 20 pazienti controllati per tale periodo, solo 10 hanno mantenuto la risposta eccellente, mentre i pazienti con risposta indeterminata sono stati stabili (4 pazienti), con progressione di un malato in risposta incompleta (6 pazienti). I dati maggiormente in dettaglio sono riassunti nella tabella 4. Dei 23 pazienti del braccio di controllo a tre mesi 2 hanno avuto una risposta eccellente; 8 pazienti risposta indeterminata e 13 pazienti risposta incompleta. Al follow-up a 18 mesi, dei 13 pazienti che hanno raggiunto tale follow-up presenti nel braccio controllo solo un paziente ha mantenuto la risposta eccellente, invece 4 pazienti sono rimasti nella classe della risposta indeterminata e 8 pazienti nella classe della risposta incompleta (vedi tabella 5).

La valutazione morfologica delle lesioni è stata effettuata seguendo i criteri RECIST 1.1 i cui dati sono sintetizzati nella tabella 6

**Tabella 4: evoluzione del follow-up del braccio sperimentale**

	<b><u>Eccellen</u></b> <b><u>te</u></b>	<b><u>Indetermin</u></b> <b><u>ata</u></b>	<b><u>Incomplet</u></b> <b><u>a</u></b>	<b><u>Morte</u></b>	<b><u>Non ancora raggiunta la</u></b> <b><u>data di Follow-up</u></b>
<b>3</b> <b>mesi</b>	22	4	5		
<b>6</b> <b>mesi</b>	18	6	5	1	2
<b>9</b> <b>mesi</b>	12	8	6		3
<b>12</b> <b>mesi</b>	14	6	4		2
<b>18</b> <b>mesi</b>	10	4	6		5

**Tabella 5: evoluzione del follow-up braccio controllo**

	<b><u>Eccellen</u></b> <b><u>te</u></b>	<b><u>Indetermin</u></b> <b><u>ata</u></b>	<b><u>Incomple</u></b> <b><u>ta</u></b>	<b><u>Mort</u></b> <b><u>e</u></b>	<b><u>Non ancora raggiunta la data</u></b> <b><u>di Follow-up</u></b>
<b>3</b> <b>mesi</b>	2	8	13		
<b>6</b> <b>mesi</b>	3	6	11	1	2
<b>9</b> <b>mesi</b>	1	8	10		1
<b>12</b> <b>mesi</b>	1	6	11		1
<b>18</b> <b>mesi</b>	1	4	8	2	3

**Tabella 6: Evoluzione del follow-up secondo RECIST 1.1**

	<b><u>Rispos</u></b> <b><u>ta</u></b> <b><u>Parzial</u></b> <b><u>e (PR)</u></b>	<b><u>Malatt</u></b> <b><u>ia</u></b> <b><u>Stabil</u></b> <b><u>e (SD)</u></b>	<b><u>Progressio</u></b> <b><u>ne di</u></b> <b><u>Malattia</u></b> <b><u>(PD)</u></b>	<b><u>Morte</u></b>	<b><u>Non ancora raggiunta la data</u></b> <b><u>di Follow-up</u></b>
<b><u>3</u></b> <b><u>mesi</u></b>	<b><u>2</u></b>	<b><u>19</u></b>	<b><u>2</u></b>	-	-
<b><u>6</u></b> <b><u>mesi</u></b>	<b><u>4</u></b>	<b><u>14</u></b>	<b><u>2</u></b>	<b><u>2</u></b>	<b><u>2</u></b>
<b><u>12</u></b> <b><u>mesi</u></b>	<b><u>1</u></b>	<b><u>11</u></b>	<b><u>6</u></b>	-	<b><u>2</u></b>
<b><u>18</u></b> <b><u>mesi</u></b>	<b><u>1</u></b>	<b><u>10</u></b>	<b><u>2</u></b>	<b><u>2</u></b>	<b><u>3</u></b>

### **Complicanze chirurgiche ed Eventi Avversi legati al Sorafenib:**

In 8 pazienti (34.78%) del braccio di controllo si sono osservate le complicanze legate alla estensione locale della malattia come occlusione totale delle strutture vascolari (occlusione la vena succlavia e la giugulare interna, dell'esofago e trachea). In 4 di questi pazienti è stato necessario impiantare endoprotesi vascolari definitive per evitare l'elefantiasi del arto superiore e cefalee da occlusione della giugulare interna, essendo queste le strutture maggiormente interessate dalla neoplasia e di costituzione più debole rispetto ai vasi arteriosi. In 2 pazienti è stato necessario il posizionamento di protesi esofagee temporanee, per permettere la normale alimentazione del paziente al fine di raggiungere un peso adeguato al proseguo delle cure. Dopo terapia la protesi esofagee sono state rimosse in tutti i pazienti essendo diminuita la stenosi tale da permettere la ripresa transito esofageo.

In due pazienti con deficit ventilativi da ostruzione della trachea sono state posizionate due endoprotesi tracheali temporanee, rimosse dopo il successo della chemioterapia.

Le complicanze legate alla chirurgia si sono verificate in 15 pazienti (48.38%): 11 pazienti hanno presentato ipoparatiroidismo definitivo, dovuto anche alla asportazione volontaria delle paratiroidi residue dal primo intervento chirurgico, in quanto interessate dal tumore, e 4 pazienti con paralisi cordale definitiva omolaterale al tumore, per coinvolgimento tumorale del nervo laringeo ricorrente che è stato sacrificato per cercare di ottenere la radicalità oncologica.

Gli eventi avversi, legati alla somministrazione del Sorafenib si sono verificati, diversamente associati tra loro, nel 100% dei pazienti in cui è stato praticato il chemioterapico (29 pazienti in totale): in 15 pazienti si è osservata la tossicità dermatologica con reazione cutanea mano-piede (eritrodiseestesia palmo-plantare) e rash rappresentano di grado 1 e 2 secondo i Common Toxicity Criteria (CTC). In 20 pazienti si è avuta ipertensione di grado moderato, che è stata trattata farmacologicamente. In 10 pazienti si osservò ipoglicemia in alcuni casi clinicamente sintomatici e che hanno necessitato di ricovero ospedaliero per perdita di coscienza. In questi pazienti il Sorafenib è stato temporaneamente interrotto. In un paziente si è reso necessario il ricovero presso l'UTIC per ischemia cardiaca. La diminuzione di peso e la cachessia legata alla chemioterapia si sono presentate in pari modo in entrambi i bracci senza alcuna differenza statisticamente significativa ( $p=0.137$ ).

### **Discussione:**

Questo studio prospettico comparativo, approvato dal comitato etico dell'Azienda Ospedaliera, è nato con l'obiettivo di confrontare l'efficacia della terapia chirurgica associata ad eventuale terapia medica con Sorafenib alla sola chemioterapia con Sorafenib per valutare se i pazienti sottoposti a procedure chirurgiche invasive e ad medio/alto rischio di complicanze possano trovare beneficio del trattamento chirurgico o se la sopravvivenza è paragonabile alla chemioterapia. In letteratura è presente un ampio dibattito circa la strategia terapeutica migliore nei pazienti con recidiva o persistenza di malattia avanzata localmente avidi di Iodio. Le due strade messe a confronto sono il trattamento chirurgico con o senza trattamento radiometabolico. Per contro si sta facendo sempre più incalzante la realtà dei pazienti affetti da carcinoma papillifero della tiroide localmente avanzato e refrattario al RAIT soprattutto in una regione altamente endemica per questa patologia, con tasso di mutazione B-Raf più alto che nel territorio nazionale(8).

In diversi trial clinici è stata dimostrata l'utilità degli inibitori delle tirosin-kinasi nei pazienti con malattia diffusa o avanzata localmente e refrattari al trattamento radiometabolico con <sup>131</sup>I. Tra questi il Sorafenib è stato approvato per la terapia in questi pazienti dopo aver dimostrato un aumento della PFS rispetto al placebo (fase tre dei trial DECISION e SELECT 51-52). All'interno di questi trial la PFS con mediana di 10.8 mesi, ma in altri studi la mediana del PFS è di 7.2-19 mesi, con limite massimo di 24 mesi (53).

I soggetti con carcinoma papillifero localmente avanzato e refrattari alla RAIT, hanno una sopravvivenza a 5 anni < del 50% e a 10 < del 10% (54), ciò è causa di esiguità del numero dei soggetti che è possibile reclutare per gli studi, anche se come detto l'incidenza

annua del carcinoma papillifero della tiroide è in costante aumento in tutto il mondo.

Questo studio prospettico-comparativo ha una durata limitata di 3 anni, includendo in questo lasso temporale anche il reclutamento su tutto il territorio regionale, perciò il follow-up massimo utilizzabile è stato di 18 mesi, introducendo automaticamente un BIAS temporale.

Anche se con tempo limitato è stato possibile raccogliere ed confrontare con curve di Kplan-Meier dati sulla sopravvivenza globale a 18 mesi e della PFS a 18 mesi.

L'analisi dei dati ha mostrato che vi è differenza statisticamente significativa solo tra la PFS del braccio di controllo e quella del braccio sperimentale a favore del braccio sperimentale ( $p=0.0399$ ), ma osservando la sopravvivenza globale a 18 mesi non vi è differenza statisticamente significativa ( $p=0.197$ ). Quest'ultimo dato è da interpretare alla luce del bias temporale ovvero la brevità dello studio di soli 18 mesi. Infatti, come scritto precedentemente, la mediana PFS in pazienti simili è di 7.2-19 mesi, con limite massimo di 24 mesi, quindi un follow-up di soli 18 mesi non pare adeguato a costruire delle curve di sopravvivenza globale attendibili.

Si può comunque notare come la percentuale netta di pazienti sopravvissuti a 18 mesi è del 96.77% per il braccio sperimentale, mentre è del 86.95% nel braccio di controllo, dove si sono registrate più morti. La percentuale di PFS nel braccio di controllo a 18 mesi del 47.82 %, e quella del braccio sperimentale è 74.19%. Come dimostra anche l'indice di significatività statistica ( $p = 0,0399$ ), le

percentuali nette di PFS a 18 mesi sono sicuramente a favore del braccio sperimentale. Un follow-up più lungo potrebbe aumentare i livelli di significatività di tali dati e permettere di costruire delle curve di Kaplan-Meier più accurate. Per quel che riguarda la sopravvivenza, sebbene le percentuali siano comunque a favore del braccio sperimentale, l'esigua differenza suggerisce che, al fine di avere dei dati significativi è necessario una maggior numerosità del campione ed un follow-up più lungo, vista anche la storia biologica della malattia presa in esame.

Per i motivi sopra menzionati, l'unica media che si può dare come statisticamente significativa è quella del PFS del braccio di controllo. La media del braccio sperimentale e le mediane della sopravvivenza a 18 mesi sono invalidate dal tempo di follow-up troppo breve (18 mesi) rispetto alla storia naturale evolutiva della malattia in questi pazienti e che quindi non permette alle curve di giungere al di sotto del valore del 50% dei pazienti (sopravvissuti o andati incontro a progressione) che indicherebbe la media/mediana statisticamente significativa.

In conclusione possiamo affermare che l'analisi dei dati preliminari ha dato dei risultati statisticamente significativi solo per quel che riguarda il Progression Free Survival. Sebbene questo appaia sicuramente come un dato incoraggiante, l'analisi dei bias dello studio suggerisce che per una maggior significatività statistica e per l'eventuale miglior valutazione della corretta strategia terapeutica da intraprendere nei pazienti con persistenza/recidiva di malattia localmente avanzata, con invasione vascolare e non avidi di 131I, sia necessario non solo un aumento del numero di pazienti reclutati, ma soprattutto un aumento del tempo di follow-up degli stessi da

portare ad un minimo di 24 mesi. Tempi di follow-up ancora più lunghi potrebbero essere necessari per valutare correttamente le curve di sopravvivenza in questi pazienti.

### **Bibliografia**

1) Increasing incidence of thyroid cancer in the United States, Davies L, Welch HG. 1973-2002. JAMA. 2006; 295:2164-2167.



2) Increasing incidence of thyroid cancer: controversies explored. Ito Y, Nikiforov YE, Schlumberger M, Vigneri R. Nat Rev Endocrinol. 2013; 9:178-184.

3) Descriptive epidemiology of human thyroid cancer: experience from a regional registry and the "volcanic factor". Malandrino P, Scollo C, Marturano I et al. Front Endocrinol (Lausanne); 4, 65 (2013).

4) Papillary thyroid microcarcinomas: a comparative study of the characteristics and risk factors at presentation in two cancer registries. Malandrino P, Pellegriti G, Attard M et al. J Clin Endocrinol Metab. 98, 1427-1434 (2013).

5) Several site-specific cancers are increased in the volcanic area in Sicily. Russo M, Malandrino P, Pollina WA et al. Anticancer Res. 35, 3995-4001. (2015)

6) Descriptive epidemiology of thyroid cancer in Hawaii. Goodman MT, Yoshizawa CN, Kolonel LN. Cancer. 61, 1272-1281 (1988).

7) Increased thyroid cancer incidence in a basaltic volcanic area is associated with non-anthropogenic pollution and biocontamination. [Malandrino P](#), [Russo M](#), et al. [Endocrine](#). 2015 Oct 5.

8) BRAF(V600E) mutation and the biology of papillary thyroid cancer. Frasca, F., Nucera, C., Pellegriti, G., Gangemi, P., Attard, M., Stella, M., et al. *Endocr. Relat. Cancer* (2008). 15, 191–205.

9) Brachiocephalic vein thrombus of papillary thyroid cancer: report of a case. Koike E, Yamashita H, Watanabe S, Yamashita H, Nioguchi S *Surg Today* 2002;2: 59–62

10) Internal jugular vein tumour thrombus associated with thyroid carcinoma. Gross M, Mintz Y, Maly B, Pinchas R, Muggia-Sullam M. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2004;113:738–40.

11) Intraatrial extension of thy-roid cancer: technique and results of a radical surgical approach. Niederle B, Hausmaninger C, Kretschmer G, et al. *Surgery* 1990;108:951–6.

12) Tumor thrombus of thyroid malignancies in veins: importance of detection by ultrasonography. [Kobayashi K1](#), [Hirokawa M](#), [Yabuta T](#), [Fukushima M](#), [Kihara M](#), [Higashiyama T](#), [Tomoda C](#), [Takamura Y](#), [Ito Y](#), [Miya A](#), [Amino N](#), [Miyachi A](#) *Thyroid*. 2011 May;21(5):527-31. doi: 10.1089/thy.2010.0099. Epub 2011 Apr 10.

13) A [Invasive well-differentiated thyroid carcinoma: effect of treatment modalities on outcome](#). Segal K, Shpitzer T, Hazan A, Bachar G, Marshak G, Popovtzer

*Otolaryngol Head Neck Surg*. 2006 May;134(5):819-22.

14) [CT evaluation of anaplastic thyroid carcinoma.](#) Takashima S, Morimoto S, Ikezoe J, Takai S, Kobayashi T, Koyama H, Nishiyama K, Kozuka T. AJR Am J Roentgenol. 1990 May;154(5):1079-85.

15) Intraatrial extension of thyroid cancer: a case report Sugimoto S, Doihara H, Ogasawara Y, Aoe M, Sano S, Shimizu N: Acta. Med Okayama 2006, 60:135-140.

16) Thyroid cancer causing obstruction of the great veins in the neck.

[World J Surg Oncol.](#) 2008 Apr 3;6:36. doi: 10.1186/1477-7819-6-36. Hyer SL1, Dandekar P, Newbold K, Haq M, Wechalakar K, Thway K, Harmer C.

17) [Brachiocephalic vein thrombus of papillary thyroid cancer: report of a case.](#)

Koike E, Yamashita H, Watanabe S, Yamashita H, Noguchi S.

Surg Today. 2002;32(1):59-62. Review.

18) Intraatrial extension of thyroid cancer: a case report. Sugimoto S, Doihara H, Ogasawara Y, Aoe M, Sano S, Shimizu N. Acta Med Okayama 2006;60:135-40.

19) The diagnostic value of colour Doppler ultrasound in central venous

catheter related thrombosis. Koksoy C, Kuzu A, Kutlay J, Erden I, Ozcan H, Ergin K: Clin Radiol 1995, 50:687-689.

20) Case report: Bilateral massive internal jugular vein thrombosis in carcinoma of thyroid: CT evaluation. Thomas S, Sawhney S, Kapur ML: Clin Radiol 1991, 43:433-434.

21) Locally advanced thyroid cancer: can CT help in prediction of extrathyroidal invasion to adjacent structures? [Seo YL](#), [Yoon DY](#), [Lim KJ](#), [Cha JH](#), [Yun EJ](#), [Choi CS](#), [Bae SH](#). [AJR Am J Roentgenol](#). 2010 Sep;195(3):W240-4. doi: 10.2214/AJR.09.3965.

22) [Unilateral vocal cord paralysis: review of CT findings, mediastinal causes, and the course of the recurrent laryngeal nerves.](#)

Paquette CM, Manos DC, Psooy BJ.

Radiographics. 2012 May-Jun;32(3):721-40. doi: 10.1148/rg.323115129. Review. Erratum in: Radiographics. 2012 Nov-Dec;32(7):2166.

23) Using CT to localize side and level of vocal cord paralysis.

[Chin SC1](#), [Edelstein S](#), [Chen CY](#), [Som PM](#). [AJR Am J Roentgenol](#). 2003 Apr;180(4):1165-70.

24) Role of MAPK pathway oncoproteins in thyroid cancer pathogenesis and as drug targets. Knauf JA, Fagin JA. *Curr Opin Cell Biol*. 2009; 21:296-303.

25) Role of B-Raf(V600E) in differentiated thyroid cancer and preclinical validation of compounds against B-Raf(V600E). Nucera C, Goldfarb M, Hodin R, Parangi S. *Biochim Biophys Acta*. 2009; 1795:152-161

26) Thyrotrophin receptor signaling dependence of Braf-induced thyroid tumor initiation in mice. Franco AT, Malaguarnera R, Refetoff S, Liao XH, Lundsmith E, Kimura S, et al. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011; 108:1615-1620.

27) Postnatal Expression of BRAFV600E Does Not Induce Thyroid Cancer in Mouse Models of Thyroid Papillary Carcinoma. Shimamura M, Nakahara M, Orim F, Kurashige T, Mitsutake N, Nakashima M, et al. *Endocrinology*. 2013; 154:4423-4430.

28) Highly prevalent genetic alterations in receptor tyrosine kinases and phosphatidylinositol 3-kinase/akt and mitogen-activated protein kinase pathways in anaplastic and follicular thyroid cancers. Liu Z,

Hou P, Ji M, Guan H, Studeman K, Jensen K, et al. J Clin Endocrinol Metab. 2008; 93:3106–3116

29) Mutation of the PIK3CA gene in anaplastic thyroid cancer. Garcia-Rostan G, Costa AM, Pereira-Castro I, Salvatore G, Hernandez R, Hermsem MJ, et al. Cancer Res. 2005; 65:10199–10207

30) Mutational profile of advanced primary and metastatic radioactive iodine-refractory thyroid cancers reveals distinct pathogenetic roles for BRAF, PIK3CA, and AKT1. Ricarte-Filho JC, Ryder M, Chitale DA, Rivera M, Heguy A, Ladanyi M, et al. Cancer Res. 2009; 69:4885–4893

31) Orthotopic mouse models for the preclinical and translational study of targeted therapies against metastatic human thyroid carcinoma with BRAF(V600E) or wild-type BRAF. [Antonello ZA](#), [Nucera C](#). [Oncogene](#). 2014 Nov 20;33(47):5397-404. doi: 10.1038/onc.2013.544. Epub 2013 Dec 23.

32) [Thyroid cancer with massive invasion into the neck and mediastinal great veins](#). Motohashi S, Sekine Y, Iizasa T, Nakano K, Numata T, Fujisawa T. Jpn J Thorac Cardiovasc Surg. 2005 Jan;53(1):55-7

33) Superior vena cava syndrome and insular

thyroid carcinoma: the stent as a palliative therapeutic alternative.

Lorenzo-Solar M *An Med Interna* 2003, 20:301-303.

34) Thyroid cancer causing obstruction of the great veins in the neck.

[Hyer SL](#)<sup>1</sup>, [Dandekar P](#), [Newbold K](#), [Haq M](#), [Wechalakar K](#), [Thway K](#), [Harmer C](#). [World J Surg Oncol](#). 2008 Apr 3;6:36. doi: 10.1186/1477-7819-6-36.

35) Vitamin D receptors and anti-proliferative effects of vitamin D derivatives in human pancreatic carcinoma cells in vivo and in vitro. Colston KW, James SY, Ofori-Kuragu EA, Binderup L, Grant AG. *Br J Cancer*. 1997; 76:1017-1020.

36) 1,25-Dihydroxycholecalciferol (1,25-D3) inhibits the growth of squamous cell carcinoma and down- modulates p21(Waf1/Cip1) in vitro and in vivo. Hershberger PA, Modzelewski RA, Shurin ZR, Rueger RM, Trump DL, Johnson CS. *Cancer Res*. 1999; 59:2644-2649

37) Vitamin D arrests thyroid carcinoma cell growth and induces p27 dephosphorylation and accumulation through PTEN/akt-dependent and -independent pathways. Liu W, Asa SL, Fantus IG, Walfish PG, Ezzat S. *Am J Pathol*. 2002; 160:511-519.

38) RET/PTC rearrangements and BRAF mutations in thyroid tumorigenesis. Ciampi R, Nikiforov YE. *Endocrinology*. 2007; 148:936-941.

39) Epidermal growth factor receptor as a novel therapeutic target in anaplastic thyroid carcinomas. Ensinger C, Spizzo G, Moser P, Tschöner I, Prommegger R, Gabriel M, et al. *Ann N Y Acad Sci*. 2004; 1030:69-77.

40) The expression of vascular endothelial growth factor and the type 1 vascular endothelial growth factor receptor correlate with the size of papillary thyroid carcinoma in children and young adults Fenton C, Patel A, Dinauer C, Robie DK, Tuttle RM, Francis GL. *Thyroid*. 2000; 10:349-357.

41) . Targeted therapy of VEGFR2 and EGFR significantly inhibits growth of anaplastic thyroid cancer in an orthotopic murine model. Gule MK, Chen Y, Sano D, Frederick MJ, Zhou G, Zhao M, et al *Clin Cancer Res*. 2011; 17:2281-2291

42) . Lessons learned and questions unanswered from use of multitargeted kinase inhibitors in medullary thyroid cancer. Sherman SI *Oral Oncol*. 2013; 49:707-710.



43). Src continues aging: current and future clinical directions. Kopetz S, Shah AN, Gallick GE Clin Cancer Res. 2007; 13:7232-7236

44) Inhibition of Src with AZD0530 reveals the Src-Focal Adhesion kinase complex as a novel therapeutic target in papillary and anaplastic thyroid cancer. Schweppe RE, Kerege AA, French JD, Sharma V, Grzywa RL, Haugen BR. J Clin Endocrinol Metab. 2009; 94:2199-2203.

45) Discovery of a novel Raf kinase inhibitor. Lyons JF, Wilhelm S, Hibner B, Bollag G. Endocr Relat Cancer. 2001; 8:219-225.

46). BAY 43-9006 inhibition of oncogenic RET mutants. Carlomagno F, Anaganti S, Guida T, Salvatore G, Troncone G, Wilhelm SM, et al J Natl Cancer Inst. 2006; 98:326-334

47) BAY 43-9006 exhibits broad spectrum oral antitumor activity and targets the RAF/MEK/ERK pathway and receptor tyrosine kinases involved in tumor progression and angiogenesis. Wilhelm SM, Carter C, Tang L, Wilkie D, McNabola A, Rong H, et al. Cancer Res. 2004; 64:7099-7109.

48) BRAF Is a Therapeutic Target in Aggressive Thyroid Carcinoma Salvatore G, De Falco V, Salerno P, Nappi TC, Pepe S, Troncone G, et al.. Clin Cancer Res. 2006; 12:1623-1629

49) Discovery of a selective inhibitor of oncogenic B-Raf kinase with potent antimelanoma activity. Tsai J, Lee JT, Wang W, Zhang J, Cho H, Mamo S, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 2008; 105:3041–3046.

50) Thyroidectomy with neoadjuvant PLX4720 extends survival and decreases tumor burden in an orthotopic mouse model of anaplastic thyroid cancer. Nehs MA, Nagarkatti S, Nucera C, Hodin RA, Parangi S. Surgery. 2010; 148:1154–1162. discussion 62.

51) M.S. Brose, C.M. Nutting, B. Jarzab, R. Elisei, S. Siena, L. Bastholt, C. de la Fouchardiere, F. Pacini, R. Paschke, Y.K. Shong et al. Sorafenib in radioactive iodine-refractory, locally advanced or metastatic differentiated thyroid cancer: a randomised, double-blind, phase 3 trial. Lancet (2014).

52 ) M. Schlumberger, M. Tahara, L.J. Wirth et al. Lenvatinib versus placebo in radioiodine-refractory thyroid cancer. N. Engl. J. Med. (2015).

53) [Molina-Vega M](#)<sup>1</sup>, [García-Alemán J](#)<sup>1</sup> et al Tyrosine kinase inhibitors in iodine-refractory differentiated thyroid cancer: experience in clinical practice. [Endocrine](#). 2018 Feb;59(2):395-401. doi: 10.1007/s12020-017-1499-7. Epub 2017 Dec 23.

54) R.T. Anderson, J.E. Linnehan, V. Tongbram, K. Keating, L.J. Wirth, Clinical, safety, and economic evidence in radioactive iodine-refractory differentiated thyroid cancer: a systematic literature review. *Thyroid* (2013).