



**UNIVERSITA' degli STUDI di MESSINA**

*Corso di Dottorato in Biotecnologie Mediche e Chirurgiche*

*COORDINATORE: prof. Giovanni RAIMONDO*

---

***Analisi di HER2/c-ErbB2 nei carcinomi  
tiroidei sporadici, ben differenziati, ad  
origine dall'epitelio follicolare***

**Tesi di Dottorato del:**

*Dott. Giovanni BRANCA*

S.S.D. MED/08

**Tutor:**

*Chiar. mo Prof. Giovanni TUCCARI*

---

ANNO ACCADEMICO 2015- 16

*XXIX° Ciclo*

## **Introduzione**

Negli anni 80 il lavoro indipendente di due gruppi di ricerca su cellule di carcinoma mammario e di neuroblastoma di ratto, condusse alla scoperta di un nuovo oncogene localizzato sul braccio lungo del cromosoma 17 (17q12), il quale era omologo sia al gene del recettore del Fattore di Crescita Epidermico (*Epidermal Growth Factor Receptor* EGFR) che all'oncogene del virus dell'eritroblastosi aviaria denominato v-ErbB [1-5]. Esso fu denominato Recettore del Fattore di Crescita Epidermico Umano-2 (*Human Epidermal Growth Factor Receptor-2* HER2) anche conosciuto come ErbB2 o c-ErbB2, per identificare il gene nelle cellule umane, mentre come c-neu o wtneu per indicarne lo stesso nelle cellule di ratto o di topo [4]. Nello specifico, HER2 è uno dei membri della famiglia del recettore del fattore di crescita epidermico umano (anche conosciuta come famiglia delle tirosin-chinasi ErbB), la quale comprende quattro recettori transmembranari per i fattori di crescita di tipo I, dotati di attività tirosin-chinasica: HER1/ErbB1/EGFR, Her2/ErbB2/c-ErbB2/neu, HER3/ErbB3,

and HER4/ErbB4 [4-9]. Diversi studi hanno evidenziato per ciascuno di questi recettori una distribuzione ubiquitaria sulla membrana citoplasmatica di cellule mature ed immature non neoplastiche, di origine epiteliale, mesenchimale e neuronale e quindi il loro ruolo fondamentale nello sviluppo dei tessuti dei mammiferi [4,9]. Dal punto di vista strutturale, un recettore tipo della famiglia HER, è costituito da tre domini o regioni: 1) un dominio extracellulare per il legame di fattori di crescita suddiviso, ulteriormente, in quattro (da I a IV) segmenti (I e III ricchi in leucina per il legame con i ligandi e II e IV ricchi in cisteina per la dimerizzazione recettoriale); 2) un dominio trans-membranario; e, infine, 3) un dominio intracellulare con attività tirosin-chinasica, caratterizzato da una coda ricca in residui tirosinici [4-5,7,9].

Specificatamente, il recettore HER2 è una glicoproteina trans-membranaria del peso molecolare di 185 kd, caratterizzata da una regione extracellulare dotata di due siti di legame denominati LD1 e LD2, ciascuno dei quali è alternato a regioni ricche di cisteina conosciute come CR1 e CR2, mentre il

dominio intracellulare tirosin-chinasico insieme alla coda terminale carbossilata, possiedono, entrambi, numerosi residui di tirosina per la fosforilazione [4-5]. Ciascuno dei quattro tipi recettoriali HER/ErbB possiede un proprio ligando peptidico specifico, ad eccezione di HER2, il quale viene denominato per tale motivazione “recettore orfano”: il fattore di crescita epidermico (EGF), il fattore di crescita trasformante alfa ( $TGF\alpha$ ) e l’anfiregulina per l’ Her1/ErbB1; le neuroreguline 1/2 per l’ErbB3 e l’ErbB4, mentre le neuroreguline 3/4 solo l’ErbB4; la beta cellulina, l’EGF legante l’eparina e l’epiregulina sia per l’ErbB1 che per l’ErbB4 [5,7,9,10]. Il successivo legame dei fattori di crescita sopra menzionati al dominio extracellulare delle forme recettoriali HER/ErbB monomeriche, determina la loro dimerizzazione, la seguente attivazione dell’attività tirosin-chinasica intracitoplasmatica e la fosforilazione dei residui di tirosina che conducono all’attivazione della cascata dei seguenti secondi messaggeri: SH2; le proteine adattatrici Grb2, Grb7, Shc a Gab1; la fosfatidil-inositolo-3-chinasi; la fosfolipasi  $C\gamma$  e le fosfatasi proteiche SHP1 e SHP2 [4-5,8,10]. Essendo

l'HER2/ErbB2 un recettore orfano, una sua attivazione sarà resa possibile solamente dopo la formazione di un omodimero o di un eterodimero con gli altri tre membri della famiglia HER/ErbB [4-5,7,10]. Quindi, l'omo- o l'eterodimerizzazione di HE2/ErbB2, conduce alla trans-fosforilazione dei residui tirosinici del dominio intracellulare, la quale attiva, principalmente, tre vie patogenetiche : 1) Ras (*rat sarcoma virus*)/PI3K (*phosphatidylinositol 3-kinase*)/AKT (*transforming serine-threonine kinase or protein kinase*; 2) Ras/Raf (*rapidly growing fibrosarcoma*)/MAPKK (*MAPK kinase*) /MAPK (*mitogen-activated protein kinase*); 3) Ras/PLC (*phospholipase C*)/ PKC (*protein kinase C*) [4-5,7,10].

In patologia umana, l'iper-espressione/amplificazione di HER2/ErbB2 utilizza delle metodiche standardizzate di immunoistochimica (*immunohistochemistry, IHC*) e/o di ibridazione in situ a fluorescenza (*fluorescence in situ hybridization, FISH*), a scopo predittivo di risposta alle terapie bersaglio anti-HER2 [11-17]. La grande maggioranza degli studi ha preso in considerazione la distribuzione dell'oncoproteina e/o

delle copie di geni nei carcinomi mammari e gastrici avanzati, orientando in tal modo l'eleggibilità dei pazienti al trattamento con Trastuzumab [11-17]. Inoltre, per queste stesse neoplasie HER2 positive, sono disponibili altri anticorpi monoclonali diretti contro il dominio extracellulare di HER2, quali il Pertuzumab, l'Ado-Trastuzumab Emtansine o inibitori della tirosin-chinasi di HER2 come il Lapatinib, il Neratinib ed, infine, l'Afatinib [5,9,18]. Altri dati della letteratura hanno riportato l'iper-espressione proteica e/o l'amplificazione genica di HER2/ErbB2 in numerose neoplasie umane maligne a differenziazione epiteliale, quali i carcinomi esofagei, colorettrali, pancreatici, epato-biliari, ovarici, endometriali, cervicali, vescicali, polmonari e della regione testa-collo [9,18-41]. In alcune di queste neoplasie, inoltre, l'iperespressione/amplificazione di HER2 è stata associata significativamente ad una prognosi infausta ed è stata considerata come un utile indicatore di risposta alle terapie bersaglio anti-HER2 [5,19,21,38].

Per quanto attiene la patologia neoplastica tiroidea, i dati presenti in letteratura non appaiono univoci, essendo stata evidenziata una iper-espressione/amplificazione di HER2, con una percentuale di positività variabile tra lo 0% ed oltre il 70%. Tale vistosa discrepanza di risultati potrebbe essere attribuita ad una mancata standardizzazione inerente le procedure tecniche e le modalità di interpretazione dei risultati [35-36,42-51]. Pertanto, sulla base di tale considerazione, in letteratura non è stato validato il significato prognostico e/o predittivo di risposta farmacologica di questo oncogene nei carcinomi tiroidei [35,44,50,51].

Dal punto di vista morfologico, l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) suddivide i carcinomi tiroidei in 4 gruppi: 1) carcinomi ben differenziati ad origine dall'epitelio follicolare, a loro volta distinti in carcinomi papillari e follicolari; 2) carcinomi scarsamente differenziati; 3) carcinomi indifferenziati o anaplastici; 4) carcinomi midollari ad origine dalle cellule C o parafollicolari [52]. Più del 90% di tali carcinomi è del tipo ben differenziato e ad istotipo papillare con

una sopravvivenza libera da malattia a 10 anni che oscilla tra l'85-92%, sebbene una piccola percentuale abbia un comportamento aggressivo [53-55]. L'istotipo follicolare presenta una incidenza tra il 5 ed il 15% dei carcinomi differenziati della tiroide e può dare luogo a metastasi a distanza; con riferimento all'accrescimento neoplastico, se ne distinguono due varietà: minimamente invasivo ed ampiamente invasivo [53-55].

Per individuare il rischio prognostico di questi tumori sono stati ideati vari sistemi clinici quali: l'AGES (*Age, Grade, Extent of disease, Size*), l'AMES (*Age, Metastasis, Extent of disease, Size*) e il MACIS (*Metastasis, Age, Completeness of Resection, Local Invasion, Size*) [52,55]. Sono stati individuati, inoltre, delle caratteristiche istopatologiche (angio-invasione; dedifferenziazione a carcinoma scarsamente differenziato o indifferenziato; varianti dell'istotipo papillare a cellule alte, a cellule colonnari, a cellule a chiodo e sclerosante diffusa) e molecolari (mutazione di BRAF V600E per l'istotipo papillare) in grado di possedere un valore predittivo di comportamento



aggressivo [55,56]. La principale opzione terapeutica odierna per i carcinomi tiroidei differenziati, è rappresentata dall'emi- o dalla tiroidectomia totale, con possibilità di dissezione dei linfonodi regionali e/o di ablazione mediante radioiodio. Tuttavia, in caso di inefficacia di un simile approccio radio-chirurgico, è stato ipotizzato che il trattamento con le nuove terapie a bersaglio molecolare, incluse quelle anti-HER2, possa risultare efficace [37,55].

Scopo della presente indagine è stato quello di valutare la presenza di iper-espressione/amplificazione dell'oncogene HER2, in analogia a quanto evidenziato per altre neoplasie maligne di origine epiteliale, attraverso tecniche di IHC e di FISH in una serie di carcinomi tiroidei di origine dall'epitelio follicolare, ben differenziati e ad insorgenza sporadica, applicando criteri già ampiamente validati e standardizzati nei carcinomi mammari. Verranno infine analizzate le potenziali applicazioni prognostiche-predittive dei risultati ottenuti nei diversi istotipi ai fini di un utilizzo di farmaci a bersaglio molecolare.

## **Materiali e metodi**

### *Raccolta dei campioni*

Dagli archivi del Dipartimento di Patologia Umana del Policlinico Universitario “G. Martino” di Messina sono stati individuati novanta casi di tumori tiroidei differenziati (TTD) sporadici [45 carcinomi tiroidei papillari (CTP) e 45 carcinomi tiroidei follicolari (CTF)], ciascuno dei quali dotato del corrispondente tessuto incluso in paraffina in seguito ad una precedente fissazione in formalina neutra tamponata al 10%. I campioni chirurgici provenivano da 90 pazienti (73 femmine e 17 maschi, di un'età compresa tra 28-76 anni); per tale coorte il *follow-up* (20 anni) è stato effettuato presso l'Unità di Endocrinologia dello stesso Ospedale Universitario.

Le sezioni istologiche, provenienti da ciascun caso e preventivamente colorate con ematossilina ed eosina, sono state revisionate sulla base di una procedura di consenso tra patologi al fine di confermare o meno la diagnosi originaria ed ulteriormente per selezionare il blocchetto di paraffina più

rappresentativo da sottoporre ad indagini IHC o FISH. Per la classificazione istologica sono stati adottati i criteri accettati dall'OMS e pubblicati nell'ultima edizione del *Blue book* di patologia e genetica dei tumori degli organi endocrini [52].

#### *Immunoistochimica(IHC)*

Su sezioni di 5 µm ottenute dai blocchetti selezionati, è stato condotto l'Hercep Test (Dako, Glostrup, Denmark), con procedura automatizzata (DAKO Autostainer Link48), in accordo con le linee guida della casa produttrice. Il recupero antigenico è stato effettuato attraverso pretrattamento in soluzione tamponata di citrato di sodio 0.01 M a pH 6.0 in forno a microonde per 3 cicli a 750 Watt. L'intensità di colorazione ottenuta, insieme alla percentuale di cellule positive ed alla localizzazione cellulare, sono state valutate sia nel tessuto tiroideo neoplastico che in quello normale.

Non essendo disponibili in letteratura criteri di valutazione per l'espressione IHC di HER2 nei carcinomi tiroidei, nel presente studio abbiamo ritenuto adeguato utilizzare gli attuali criteri di

*scoring* codificati nei carcinomi della mammella, in accordo con il sistema aggiornato dell'ASCO-CAP 2013 (*American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists*) [57]. Conseguentemente, l'immunocolorazione di HER2 è stata graduta assegnando un punteggio da 0 a 3+. Il *pattern* di immunocolorazione è stato definito come: 3+ (positivo) quando si osservava una completa ed intensa colorazione di membrana in più del 10% delle cellule neoplasiche; 2+ (debolmente positivo, equivoco) quando la colorazione di membrana era di intensità da debole a moderata, completa ed evidente in più del 10% delle cellule neoplastiche; 1+ (negativo) quando la colorazione di membrana era incompleta e di intensità appena percettibile o debole ed evidente in più del 10% delle cellule neoplastiche; infine 0 (negativo) quando la colorazione era assente o era presente a livello di membrana in meno del 10% delle cellule neoplastiche. La valutazione IHC è stata condotta indipendentemente, in doppio cieco; infine i casi discordanti sono stati valutati e discussi congiuntamente, utilizzando un

microscopio a doppia osservazione sino al raggiungimento dell'*agreement* di concordanza.

#### *Ibridazione in situ a fluorescenza (FISH)*

Similmente al carcinoma mammario [58], i casi equivoci codificati con uno *score* IHC 2+ sono stati avviati all'analisi FISH utilizzando, in accordo alle linee guida del produttore, il kit FISH PharmDx™ (Dako, Glostrup, Denmark), per individuare l'amplificazione del gene HER2. L'amplificazione genica è stata identificata quando il rapporto segnale HER2/sonda centromerica per il cromosoma 17 (CEP17) si dimostrava  $\geq 2.0$ .

Tessuti provenienti da carcinomi della mammella sono stati utilizzati come controllo positivo sia per l'analisi IHC che per quella FISH, mentre i controlli negativi sono stati ottenuti sia omettendo l'antisiero primario o sostituendo lo stesso, con siero normale di topo.

### *Analisi statistica*

I risultati (media  $\pm$  deviazione standard) ottenuti, testati per la distribuzione normale e la varianza, sono stati analizzati mediante test T di Student, il Chi-quadro con correzione di Yates e l'analisi di regressione lineare. Il livello di significatività statistica è stato fissato a  $p < 0,05$ .

## **Risultati**

### *Caratteristiche clinico-patologiche*

Le caratteristiche clinico-patologiche dei 90 pazienti con TDD (73 femmine e 17 maschi, età media  $51.6 \pm 12.7$  anni, mediana 49 anni) sono riassunte nella Tabella 1.

I 45 pazienti con CTP comprendevano 34 femmine e 11 maschi con un'età compresa tra i 28 e i 70 anni (età media di 49 anni). Dal punto di vista istopatologico, i carcinomi papillari erano suddivisi in: 16 di tipo classico, 21 variante follicolare, 4 oncocitari e 4 sclerosanti diffusi. I 45 pazienti con CTF comprendevano, invece, 39 femmine e 6 maschi con un'età compresa tra 22-76 anni (età media di 55 anni). Istologicamente i carcinoma follicolari includevano 34 del tipo minimamente invasivo e 11 del tipo ampiamente invasivo.

Tutti i pazienti sono stati sottoposti a tiroidectomia subtotale o totale. Nel 61% dei casi i carcinomi possedevano una dimensione inferiore ai 2 cm, corrispondendo allo stadio pT1 in accordo alla classificazione TNM [59], mentre l'11% presentava metastasi linfonodali all'atto della diagnosi (Tabella 1). Nessuno

dei pazienti esaminati esibiva metastasi a distanza al momento dell'intervento chirurgico. Il *follow-up* di tutti i pazienti ha avuto una durata minima di almeno cinque anni successivi all'intervento di tiroidectomia (durata media del *follow-up* 8.7 anni, *range* 5-20 anni). Durante il *follow-up*, 6 dei 90 soggetti (6.7%) (tutti di sesso femminile, età compresa tra 43-76 anni, media di 45 anni) svilupparono metastasi: uno era affetto da CTP classico allo stadio pT1b, due da CTP variante follicolare allo stadio pT2 e tre da CTF allo stadio pT3. Tutti i pazienti con CTP presentavano metastasi linfonodali localizzate nella regione del collo laterale destra (n=1), laterale sinistra (n=1), compartimento centrale anteriore (n=3) e del mediastino superiore (n=1), tranne uno che presentava metastasi polmonari. I tre pazienti affetti da CTF esibivano metastasi polmonari e scheletriche.



*Risultati immunohistochimici (IHC) e di ibridazione in situ a fluorescenza (FISH).*

L'analisi IHC ha evidenziato la mancata iper-espressione di HER2 con l'attribuzione di uno *score* 0 in ventisette neoplasie (17 CTP e 10 CTF), mentre i rimanenti 63 casi (28 CTP e 35 CTF) dimostravano una immunocolorzione variabile da 1+ a 3+ (Tabella 2). In particolare, 15 casi (13 CTP e 2 CTF), esibivano una focale e bassa espressione di HER2 (1+).

Una evidente completa ed intensa iper-espressione di HER2 (*score* 3+) è stata dimostrata in 26 casi: 18 CTF, dei quali 6 ad istotipo estesamente invasivo (Figura 1A) e 8 CTP (2 classici, 5 variante follicolare e 1 variante oncocitica) (Figura 1B). I rimanenti ventidue tumori (15 CTF e 7 CTP) presentavano uno *score* IHC 2+ (Figura 2A) e pertanto sono stati sottoposti ad analisi FISH (Figura 2B e 2C), rivelando solo in due CTF un'amplificazione genica di HER2 (Figura 2B). La percentuale complessiva di casi HER2 positivi si attestava pertanto al 31% (28/90 casi). Specificatamente l'amplificazione di HER2 è stata dimostrata in 20/45 CTF (44%) e in 8/45 CTP (18%), con una

differenza statisticamente significativa tra i due istotipi neoplastici ( $\chi^2 = 3.96$ ;  $P=0.046$ ). Il parenchima tiroideo normale limitrofo alle neoplasie, dimostrava l'assenza di espressione di HER2.

Statisticamente, non è stata dimostrata una correlazione significativa tra l'iper-espressione/amplificazione di HER2, le dimensioni delle neoplasie e le metastasi linfonodali al momento dell'intervento chirurgico, anche se tra i sei pazienti che hanno sviluppato metastasi durante il periodo di *follow-up*, cinque presentavano neoplasie con *status* di HER2 positivo. Nello specifico, tre di questi cinque tumori (2 CTP e 1 CTF) avevano uno score 3+ all'IHC, mentre i rimanenti 2 CTF presentavano uno score 2+, rivelando successivamente un'amplificazione di HER2 all'analisi FISH. Infine, 5 delle 28 neoplasie HER2 positive e 1 delle rimanenti 62 HER2 negative, svilupparono metastasi durante il *follow-up* ( $\chi^2 = 8.18$ ;  $P= 0.004$ ).

## **Discussione**

Le osservazioni presenti in letteratura, in cui è stata indagata l'espressione di HER2 nei carcinomi tiroidei, hanno fornito risultati controversi a causa di discrepanze inter-osservatore, determinate soprattutto dalla mancanza di metodiche standardizzate per una determinazione non contaminata da interpretazioni soggettive ed inficiate ulteriormente dalla diversa dimensione delle coorti esaminate [35,42-51,60-61]. Infatti, in tali studi i criteri utilizzati per determinare l'iper-espressione/amplificazione di HER2 apparivano molto diversi tra loro, non validati, e conseguentemente con errata valorizzazione anche di una immunocolorazione citoplasmatica, considerata come espressione positiva, fornendo risultati non comparabili ed inconclusivi [35,44-45,49-50].

Nella presente indagine è stato valutato lo *status* di HER2 in una serie di carcinomi differenziati della tiroide ad insorgenza sporadica, giungendo al risultato che circa un terzo di essi presentava una iper-espressione di questo oncogene, con

percentuale significativamente maggiore per quanto riguarda l'istotipo follicolare rispetto a quello papillare.

Al fine di rendere riproducibile e standardizzato il metodo di valutazione dello stato di HER2, abbiamo ritenuto applicabile il metodo codificato da ASCO-CAP 2013 in altri tipi di neoplasie umane maligne. In tal modo, si è potuto ovviare all'ampia oscillazione nella iper-espressione/amplificazione di HER2 già descritta in letteratura nei carcinomi tiroidei [13-16,62,63]. Pertanto, applicando rigorosamente alla nostra serie di TTD i criteri aggiornati del sistema di *scoring* utilizzato per il carcinoma mammario [57], è stata documentata una iper-espressione totale di HER2 pari al 31% sul totale dei casi, ed in particolare con incidenza del 18% nei CTP e del 44% nei CTF esaminati, differenza statisticamente significativa tra i due istotipi neoplastici in favore di quello follicolare.

In letteratura, l'espressione di HER2 è stata effettuata in una serie chirurgica costituita da 69 TTD, includenti 61 CTP e solo 8 CTF, dimostrando uno score IHC 3+ in 14 CTP e in 2 CTF [51]. L'analisi FISH, invece, confermava l'amplificazione

del gene HER2 in 10 casi di CTP 3+ e in 4 casi di CTP 2+, con una percentuale di espressione complessiva pari al 21.7% (23% considerando solo i CTP). Tale studio, pur evidenziando una più alta percentuale di espressione di HER2 nei CTP, non raggiungeva la percentuale di immunoreattività da noi riportata, probabilmente a causa della quota estremamente esigua di CTF esaminati [51]. Un ulteriore *bias* dell'analisi di Sugishita *et al.* [51] può essere attribuito al valore soglia pari a 1.3 della ratio CEP17/HER2 utilizzato nella metodica FISH, lontano da quel rapporto  $\geq 2.0$  applicato ai carcinoma mammari e gastrici ed in analogia nel nostro studio. Ne deriva che, attenendosi al valore soglia  $\geq 2.0$ , tutti i casi studiati da Sugishita *et al.* dovrebbero essere considerati negativi, e pertanto ne scaturirebbe l'impossibilità di comparare i risultati dei due studi.

In un altro contributo, Mdah *et al.* [60] hanno valutato l'espressione di HER2 nei TTD, applicando gli stessi criteri di *scoring* da noi utilizzati, includendo però, nuovamente, uno scarso numero di CTF (11 casi) e riportando una HER2 positività solo in 4 CTP (6.9%) [60]. Appare evidente che la

percentuale di CTP HER2 positivi riscontrata da Mdah *et al.* è largamente inferiore rispetto a quella precedentemente evidenziata da Sugishita *et al.* [51,60], probabilmente condizionato dall'applicazione di un corretto valore soglia (CEP17/HER2  $\geq$  2.0). Infine recentemente, Caria *et al.* hanno documentato una bassa percentuale di espressione di HER2 in un piccolo gruppo di CTP ad insorgenza familiare, con positività inferiore al 10% [37]. Nel dettaglio, 5/13 (38.5%) dei casi dimostrava una percentuale di cellule HER2 positive tra il 5.1 e il 10%, mentre nessun caso di CTP sporadico eccedeva il valore *cut-off* da loro utilizzato [37]. Inoltre, comparando i dati di analisi IHC e di FISH per l'iper-espressione/amplificazione di HER2 in queste forme di CTP, sono stati ottenuti risultati inconsistenti, probabilmente a causa del *bias* determinato dall'età dei pazienti in studio (7-20 anni) [37]. Infine, nessun dato è stato riportato riguardo l'espressione di HER2 nei differenti istotipi di CTP e nei casi caratterizzati da eventi metastatici [37].

I nostri risultati, indicando una prevalenza nelle forme follicolari dei TTD, inducono ad ipotizzare un possibile impatto prognostico per quanto riguarda la determinazione dello *status* di HER2 nei TTD; ciò appare ulteriormente supportato dalla rivelazione dell'iper-espressione di HER2 nei tumori primitivi di tutti quei pazienti dello studio che avevano sviluppato metastasi durante il *follow-up*. Il ruolo di HER2 viene così ad assumere – anche nei carcinomi tiroidei, e specificatamente nei follicolari – una valenza prognostica negativa, consentendo di identificare nell'ambito di una coorte i casi gravati da una evoluzione sfavorevole con metastatizzazione linfonodale ed a distanza. Questa interpretazione richiederebbe un'ulteriore verifica su casistiche di maggiori dimensioni, per meglio definire il significato prognostico addizionale rappresentato dall'iper-espressione/amplificazione di HER2, identificando così carcinomi tiroidei morfologicamente ben differenziati ma caratterizzati da un comportamento maggiormente aggressivo, come già accade per altre neoplasie maligne a differenziazione epiteliale [13-15,17,57,64,65].

Un ulteriore elemento significativo della nostra indagine è la costante assenza di espressione di HER2 nel tessuto tiroideo normale adiacente alle neoplasie, analogamente a quanto riportato da altri Autori in letteratura, con incremento della sua espressione durante la progressione neoplastica verso i TTD [35,46,48-49].

In definitiva, utilizzando una casistica equilibrata in riferimento alla rappresentazione degli istotipi (45 CTP e 45 CTF), i nostri risultati appaiono maggiormente significativi rispetto a quelli ottenuti dagli studi di confronto sopra esaminati [37,51,60], dimostrando altresì una significatività statistica associata all'istotipo neoplastico in favore dei CTF. Inoltre, l'iper-espressione di HER2 era maggiormente rappresentata nei casi di TTD metastatici in confronto a quelli privi di secondarismi. Queste evidenze potrebbero avere una potenziale implicazione pratica, in quanto lo *status* di HER2 potrebbe essere utile nell'identificare un sottogruppo di pazienti affetti da TTD caratterizzati da una prognosi peggiore, ma eleggibili al trattamento con inibitori di HER2, come il Trastuzumab. Questo



potrebbe essere rilevante, soprattutto, per quei carcinomi tiroidei refrattari al trattamento con radio-iodio, poichè per essi si stanno ricercando nuovi bersagli molecolari ed efficaci strategie terapeutiche, dato che il loro trattamento rappresenta ancora oggi una sfida impegnativa [66-67].

La determinazione dell'espressione di HER2 potrebbe, pertanto, essere utilizzata nel contesto dei consueti e ben accettati parametri clinico-patologici con valenza prognostica nei TTD (età, sesso, stadio pTNM, tipo istologico, completezza della resezione chirurgica), specie in quanto pochissimi dei nuovi marcatori scoperti possiedono un tale significato [52,68].

In conclusione, sulla base dei risultati della nostra indagine, si può ipotizzare che l'iper-espressione/amplificazione dell'oncogene HER2 possa giocare un ruolo significativo per quanto riguarda lo sviluppo e la progressione di sottogruppi di carcinoma della tiroide caratterizzati da una maggiore aggressività e da una prognosi peggiore, proponendosi come fattore prognostico e di stratificazione a fini terapeutici per l'utilizzo di terapie a bersaglio molecolare.

## Bibliografia

1. Padhy, L.C.; Shih, C.; Cowing, D.; Finkelstein, R.; Weinberg, R.A. Identification of a phosphoprotein specifically induced by the transforming DNA of rat neuroblastomas. *Cell*. **1982**, 28, 865-871.
2. Schechter, A.L.; Stern, D.F.; Vaidyanathan, L.; Decker, S.J.; Drebin, J.A.; Greene, M.I.; Weinberg, R.A. The neu oncogene: an erb-B-related gene encoding a 185,000-Mr tumour antigen. *Nature*. **1984**, 312, 513-516.
3. Fukushige, S.; Matsubara, K.; Yoshida, M.; Sasaki, M.; Suzuki, T.; Semba, K.; Toyoshima, K.; Yamamoto, T. Localization of a novel v-erbB-related gene, c-erbB-2, on human chromosome 17 and its amplification in a gastric cancer cell line. *Mol Cell Biol*. **1986**, 6 , 955-958.
4. Moasser, M.M. The oncogene HER2: its signaling and transforming functions and its role in human cancer pathogenesis. *Oncogene*. **2007**, 26, 6469-6487.

5. Iqbal, N.; Iqbal, N. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) in Cancers: Overexpression and Therapeutic Implications. *Mol Biol Int.* **2014**, 2014, 852748.
6. Salomon, D.S.; Brandt, R.; Ciardiello, F.; Normanno, N. Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **1995**; 19,183-232.
7. Spencer, K.S.; Graus-Porta, D.; Leng, J.; Hynes, N.E.; Klemke, R.L. ErbB2 is necessary for induction of carcinoma cell invasion by ErbB family receptor tyrosine kinases. *J Cell Biol.* **2000**, 148, 385-397.
8. Yarden, Y. The EGFR family and its ligands in human cancer. Signaling mechanisms and therapeutic opportunities. *Eur. J. Cancer.* **2001**, 4, S3-8.
9. Fusco, N.; Bosari, S. HER2 aberrations and heterogeneity in cancers of the digestive system:

- Implications for pathologists and gastroenterologists.  
*World J Gastroenterol.* **2016**, *22*, 7926-7937.
10. Olayioye, M.A. Update on HER-2 as a target for cancer therapy: intracellular signaling pathways of ErbB2/HER-2 and family members. *Breast Cancer Res.* **2001**, *3*, 385-389.
  11. Rüschoff, J.; Dietel, M.; Baretton, G.; Arbogast, S.; Walch, A.; Monges, G.; Chenard, M.P.; Penault-Llorca, F.; Nagelmeier, I.; Schlake, W.; Höfler, H.; Kreipe, H.H. HER2 diagnostics in gastric cancer-guideline validation and development of standardized immunohistochemical testing. *Virchows Arch.* **2010**, *457*, 299-307.
  12. Varga, Z.; Noske, A. Impact of Modified 2013 ASCO/CAP Guidelines on HER2 Testing in Breast Cancer. One Year Experience. *PLoS One.* **2015**, *10*, e0140652.
  13. Ieni, A.; Barresi, V.; Giuffrè, G.; Caruso, R.A.; Lanzafame, S.; Villari, L.; Salomone, E.; Roz, E.;

- Cabibi, D.; Franco, V.; Certo, G.; Labate, A.; Nagar, C.; Magliolo, E.; Broggi, B.; Fazzari, C.; Italia, F.; Tuccari, G. HER2 status in advanced gastric carcinoma: A retrospective multicentric analysis from Sicily. *Oncol. Lett.* **2013**, *6*, 1591-1594.
14. Ieni, A.; Barresi, V.; Caltabiano, R.; Caleo, A.; Bonetti, L.R.; Lanzafame, S.; Zeppa, P.; Caruso, R.A.; Tuccari, G. Discordance rate of HER2 status in primary gastric carcinomas and synchronous lymph node metastases: a multicenter retrospective analysis. *Int. J. Mol. Sci.* **2014**, *15*, 22331-22341.
15. Ieni, A.; Barresi, V.; Caltabiano, R.; Cascone, A.M.; Del Sordo, R.; Cabibi, D.; Zeppa, P.; Lanzafame, S.; Sidoni, A.; Franco, V.; Tuccari, G. Discordance rate of HER2 status in primary breast carcinomas versus synchronous axillary lymph node metastases: a multicenter retrospective investigation. *Oncol. Targets Ther.* **2014**, *7*, 1267-1272.

16. Ieni, A.; Barresi, V.; Rigoli, L.; Caruso, R.A.; Tuccari, G. HER2 Status in Premalignant, Early, and Advanced Neoplastic Lesions of the Stomach. *Dis. Markers*. **2015**, *2015*, 234851.
17. Ieni, A.; Giuffrè, G.; Lanzafame, S.; Nuciforo, G.; Curduman, M.; Villari, L.; Roz, E.; Certo G.; Cabibi, D.; Salomone, E.; Labate, A.; Messina, D.; Franco, V.; Adamo, V.; Tuccari, G. Morphological and biomolecular characteristics of subcentimetric invasive breast carcinomas in Sicily: A multicentre retrospective study in relation to trastuzumab treatment. *Oncol. Lett.* **2012**, *3*, 141-146.
18. Diver, E.J.; Foster, R.; Rueda, B.R.; Growdon, W.B. The Therapeutic Challenge of Targeting HER2 in Endometrial Cancer. *Oncologist*. **2015**, *20*,1058-1068.
19. Wang, D.; Zhu, H.; Ye, Q.; Wang, C.; Xu, Y. Prognostic Value of KIF2A and HER2-Neu Overexpression in Patients With Epithelial Ovarian Cancer. *Medicine (Baltimore)*. **2016**, *95*, e2803.

20. Chao, W.R.; Lee, M.Y.; Ruan, A.; Sheng, H.P.; Hsu, J.D.; Han, C.P.; Koo, C.L. Assessment of HER2 Status Using Immunohistochemistry (IHC) and Fluorescence In Situ Hybridization(FISH) Techniques in Mucinous Epithelial Ovarian Cancer: A Comprehensive Comparison between ToGABiopsy Method and ToGA Surgical Specimen Method. *PLoS One*. **2015**, 10, e0142135.
21. Woo, J.S.; Apple, S.K.; Sullivan, P.S.; Rao, J.Y.; Ostrzega, N.; Moatamed, N.A. Systematic assessment of HER2/neu in gynecologic neoplasms, an institutional experience. *Diagn Pathol*. **2016**, 11, 102.
22. Grushko, T.A.; Filiaci, V.L.; Mundt, A.J.; Ridderstråle, K.; Olopade, O.I.; Fleming, G.F. An exploratory analysis of HER-2 amplification and overexpression in advanced endometrial carcinoma: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol*. **2008**, 108, 3-9.

23. Jin, Y.; Li, Y.; Pan, L. The target therapy of ovarian clear cell carcinoma. *Oncotargets Ther.* **2014**, *7*, 1647-1652.
24. Xian, Z.H.; Zhang, S.H.; Cong, W.M.; Wu, W.Q.; Wu, M.C. Overexpression/amplification of HER-2/neu is uncommon in hepatocellular carcinoma. *J Clin Pathol.* **2005**, *58*, 500-503.
25. Huang, J.X.; Zhao, K.; Lin, M.; Wang, Q.; Xiao, W.; Lin, M.S.; Yu, H.; Chen, P.; Qian, R.Y. HER2 gene amplification in esophageal squamous cell carcinoma is less than in gastroesophageal junction and gastric adenocarcinoma. *Oncol Lett.* **2013** *6*, 13-18.
26. Gowryshankar, A.; Nagaraja, V.; Eslick G.D. HER2 status in Barrett's esophagus & esophageal cancer: a meta analysis. *J Gastrointest Oncol.* **2014**, *5*, 25-35.
27. Menderes, G.; Clark, M.; Santin, A.D. Novel targeted therapies in uterine serous carcinoma, an aggressive variant of endometrial cancer. *Discov Med.* **2016**, *21*, 293-303.



28. Javle, M.; Churi, C.; Kang, H.C.; Shroff, R.; Janku, F.; Surapaneni, R.; Zuo, M.; Barrera, C.; Alshamsi, H.; Krishnan, S.; Mishra, L.; Wolff, R.A.; Kaseb, A.O.; Thomas, M.B.; Siegel, A.B. HER2/neu-directed therapy for biliary tract cancer. *J Hematol Oncol.* **2015**, *29*, 8, 58.
29. Hammam, O; Nour, H.H.; Mosaad, M.; Akl, M.; Khalil, H.; Al Ganzory, H.; Hindawi, A. The clinical significance of HER2 protein amplification/expression in urinary bladder lesion. *Arab J Urol.* **2015**, *13*,146-152.
30. Nedjadi, T.; Al-Maghrabi, J.; Assidi, M.; Dallol, A.; Al-Kattabi, H.; Chaudhary, A.; Al-Sayyad, A.; Al-Ammari, A.; Abuzenadah, A.; Buhmeida, A.; Al-Qahtani, M. Prognostic value of HER2 status in bladder transitional cell carcinoma revealed by both IHC and BDISH techniques. *BMC Cancer.* **2016**, *16*, 653.
31. Tschui, J.; Vassella, E.; Bandi, N.; Baumgartner, U.; Genitsch, V.; Rotzer, D.; Seiler, R.; Thalmann, G.N.; Fleischmann, A. Morphological and molecular

characteristics of HER2 amplified urothelial bladder cancer. *Virchows Arch.* **2015**, 466, 703-710.

32. Richman, S.D.; Southward, K.I.; Chambers, P.; Cross, D.; Barrett, J.; Hemmings, G.; Taylor, M.; Wood, H.; Hutchins, G.; Foster, J.M.; Oumie, A.; Spink, K.G.; Brown, S.R.; Jones, M.; Kerr, D.; Handley, K.; Gray, R.; Seymour, M.; Quirke, P. HER2 overexpression and amplification as a potential therapeutic target in colorectal cancer: analysis of 3256 patients enrolled in the QUASAR, FOCUS and PICCOLO colorectal cancer trials. *J Pathol.* **2016**, 238, 562-570.

33. Yoon, H.H.; Shi, Q.; Sukov, W.R.; Wiktor, A.E.; Khan, M.; Sattler, C.A.; Grothey, A.; Wu, T.T.; Diasio, R.B.; Jenkins, R.B.; Sinicrope, F.A. Association of HER2/ErbB2 expression and gene amplification with pathologic features and prognosis in esophageal adenocarcinomas. *Clin Cancer Res.* **2012**, 18, 546-554.

34. Mitra, AB.; Murty, V.V.; Pratap, M.; Sodhani, P.; Chaganti, R.S. ERBB2 (HER2/neu) oncogene is frequently amplified in squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Cancer Res.* **1994**, *54*, 637-639.
35. Kremser, R.; Obrist, P.; Spizzo, G.; Erler, H.; Kandler, D.; Kemmler, G.; Mikuz, G.; Ensinger, C. Her2/neu overexpression in differentiated thyroid carcinomas predicts metastatic disease. *Virchows. Arch.* **2003**, *442*, 322-328.
36. Freudenberg, L.S.; Sheu, S.; Görges, R.; Mann, K.; Bokler, S.; Frilling, A.; Schmid, K.W.; Bockisch, A.; Otterbach, F. Prognostic value of c-erbB-2 expression in papillary thyroid carcinoma. *uklearmedizin.* **2005**, *184*, 179-182.
37. Caria, P.; Cantara, S.; Frau, D.V.; Pacini, F.; Vanni, R.; Dettori, T. Genetic Heterogeneity of HER2 Amplification and Telomere Shortening in Papillary

- Thyroid Carcinoma. *Int. J. Mol. Sci.* **2016**, *17*, pii: E1759.
38. Cretella, D.; Saccani, F.; Quaini, F.; Frati, C.; Lagrasta, C.; Bonelli, M.; Caffarra, C.; Cavazzoni, A.; Fumarola, C.; Galetti, M.; La Monica, S.; Ampollini, L.; Tiseo, M.; Ardizzoni, A.; Petronini, P.G.; Alfieri, R.R. Trastuzumab emtansine is active on HER-2 overexpressing NSCLC cell lines and overcomes gefitinibresistance. *Mol Cancer*. **2014**, *13*, 143.
39. Mazières, J.; Barlesi, F.; Filleron, T.; Besse, B.; Monnet, I.; Beau-Faller, M.; Peters, S.; Dansin, E.; Früh, M.; Pless, M.; Rosell, R.; Wislez, M.; Fournel, P.; Westeel, V.; Cappuzzo, F.; Cortot, A.; Moro-Sibilot, D.; Milia, J.; Gautschi, O. Lung cancer patients with HER2 mutations treated with chemotherapy and HER2-targeted drugs: results from the European EUHER2 cohort. *Ann Oncol*. **2016**, *27*, 281-286.
40. Alotaibi, A.M.; Alqarni, M.A.; Alnobi, A.; Tarakji, B. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2

(HER2/neu) in Salivary Gland Carcinomas: A Review of Literature. *J Clin Diagn Res.* **2015** 9, ZE04-8.

41. Birkeland, A.C.; Yanik, M.; Tillman, B.N.; Scott, M.V.; Foltin, S.K.; Mann, J.E.; Michmerhuizen, N.L.; Ludwig, M.L.; Sandelski, M.M.; Komarck, C.M.; Carey, T.E.; Prince, M.E.; Bradford, C.R.; McHugh, J.B.; Spector, M.E.; Brenner, J.C. Identification of Targetable ERBB2 Aberrations in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg.* **2016**, 142, 559-567.
42. Lemoine, N.K.; Wyllie, F.S.; Lillehaug, J.R.; Staddon, S.L.; Hughes, C.M.; Aasland, R.; Shaw, J.; Varhaug, J.E.; Brown, C.L.; Gullick, W.J., et Al. Absence of abnormalities of the c-erbB-1 and c-erbB-2 proto-oncogenes in human thyroid neoplasia. *Eur. J. Cancer.* **1990**, 26, 777-779.

43. Haugen, D.R.; Akslen, L.A.; Varhaug, J.E., Lillehaug, J.R. Expression of c-erbB-2 protein in papillary thyroid carcinomas. *Br. J. Cancer*. **1992**, *65*, 832-837.
44. Sugg, S.L.; Ezzat, S.; Zheng, L.; Rosen, I.B.; Freeman, J.L.; Asa, S.L. Cytoplasmic staining of erbB-2 but not mRNA levels correlates with differentiation in human thyroid neoplasia. *Clin. Endocrinol*. **1998**, *49*, 629-637.
45. Utrilla, J.C.; Martin-Lacave, I.; San Martin, M.V.; Fernandez-Santos, J.M.; Galera-Davidson, H. Expression of c-erbB-2 oncoprotein in human thyroid tumours. *Histopathology*. **1999**, *34*, 60-65.
46. Ensinger, C.; Prommegger, R.; Kendler, D.; Gabriel, M.; Spizzo, G.; Mikuz, G.; Kremser, R. Her2/neu expression in poorly-differentiated and anaplastic thyroid carcinomas. *Anticancer. Res*. **2003**, *23*, 2349-2353.
47. Mondì, M.M.; Rich, R.; Ituarte, P.; Wong, M.; Bergman, S.; Clark, O.H.; Perrier, N.D. HER2 expression in thyroid tumors. *Am. Surg*. **2003**, *69*, 1100-1103.

48. Murakawa, T.; Tsuda, H.; Tanimoto, T.; Tanabe, T.; Kitahara, S.; Matsubara, O. Expression of KIT, EGFR, HER2/NEU and tyrosine phosphorylation in undifferentiated thyroid carcinoma: implication for a new therapeutic approach. *Pathol. Int.* **2005**, *55*, 757-65.
49. Elliott, D.D.; Sherman, S.I.; Busaidy, N.L.; Williams, M.D.; Santarpia, L.; Clayman, G.L.; El-Naggar, A.K. Growth factor receptors expression in anaplastic thyroid carcinoma: potential markers for therapeutic stratification. *Hum. Pathol.* **2008**, *39*, 15-20.
50. Qin, C.; Cau, W.; Zhang, Y.; Mghanga, F.P.; Lan, X.; Gao, Z.; An, R. Correlation of clinic-pathological features and expression of molecular markers with prognosis after <sup>131</sup>I treatment of differentiated thyroid carcinoma. *Clin. Nucl. Med.* **2012**, *37*, e40-46.
51. Sugishita, Y.; Kammori, M.; Yamada, O.; Poon, S.S.; Kobayashi, M.; Onoda, N.; Yamazaki, K.; Fukumori, T.; Yoshikawa, K.; Onose, H.; Ishii, S.; Yamada, E.;

- Yamada, T. Amplification of the human epidermal growth factor receptor 2 gene in differentiated thyroid cancer correlates with telomere shortening. *Int. J. Oncol.* **2013**, *42*, 1589-1596.
52. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Endocrine Organs, 3rd ed.; DeLellis, R.A.; Lloyd, R.V.; Heitz, P.U.; Eng, C.; Eds.; IARC Press: Lyon, France, 2004; pp. 51-72.
53. Lloyd, R.V.; Buehler, D.; Khanafshar E. Papillary thyroid carcinoma variants. *Head Neck Pathol.* **2011**, *5*, 51-56.
54. Sobrinho-Simões, M.; Eloy, C.; Magalhães, J.; Lobo, C.; Amaro, T. Follicular thyroid carcinoma. *Mod Pathol.* **2011**, *24*, S10-18.
55. Papp, S.; Asa, S.L. When thyroid carcinoma goes bad: a morphological and molecular analysis. *Head Neck Pathol.* **2015**, *9*,16-23.



56. Mete, O.; Asa, S.L. Pathological definition and clinical significance of vascular invasion in thyroid carcinomas of follicular epithelial derivation. *Mod Pathol.* **2011**, *24*, 1545-1552.
57. Rakha, E.A.; Starczynski, J.; Lee, A.H.; Ellis, I.O. The updated ASCO/CAP guideline recommendations for HER2 testing in the management of invasive breast cancer: a critical review of their implications for routine practice. *Histopathology.* **2014**, *64*, 609-615.
58. La, P.; Salazar, P.A.; Hudis, C.A.; Ladanyi, M.; Chen, B. HER-2 testing in breast cancer using immunohistochemical analysis and fluorescence in situ hybridization: a single-institution experience of 2,279 cases and comparison of dual-color and single-color scoring. *Am. J. Clin. Pathol.* **2004**, *121*, 631-636.
59. AJCC: Thyroid. In: Edge, S.B.; Byrd, D.R.; Compton, C.C.; et al. eds.: AJCC Cancer Staging Manual. 7th ed. New York, NY: Springer, **2010**, pp 87-96.

60. Mdah, W.; Mzalbat, R.; Gilbey, P.; Stein, M.; Sharabi, A.; Zidan, J. Lack of HER-2 gene amplification and association with pathological and clinical characteristics of differentiated thyroid cancer. *Mol. Clin. Oncol.* **2014**, *2*, 1107-1110.
61. Wu, G.; Wang, J.; Zhou, Z.; Li, T.; Tang, F. Combined staining for immunohistochemical markers in the diagnosis of papillary thyroid carcinoma: improvement in the sensitivity or specificity? *J. Int. Med. Res.* **2013**, *41*, 975-983.
62. Slamon, D.J.; Clark, G.M.; Wong, S.G.; Levin, W.J.; Ullrich, A.; McGuire, W.L. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science.* **1987**, *235*, 177-182.
63. Allgayer, H.; Babic, R.; Gruetzner, K.U.; Tarabichi, A.; Schildberg, F.W.; Heiss, M.M. c-erbB-2 is of independent prognostic relevance in gastric cancer and is

associated with the expression of tumor-associated protease systems. *J. Clin. Oncol.* **2000**, *18*, 2201-2209.

64. Valtorta, E.; Martino, C.; Sartore-Bianchi, A.; Penault-Llorca, F.; Viale, G.; Risio, M.; Ruggie, M.; Grigioni, W.; Bencardino, K.; Lonardi, S.; Zagonel, V.; Leone, F.; Noe, J.; Ciardiello, F.; Pinto, C.; Labianca, R.; Mosconi, S.; Graiff, C.; Aprile, G.; Frau, B.; Garufi, C.; Loupakis, F.; Racca, P.; Tonini, G.; Lauricella, C.; Veronese, S.; Truini, M.; Siena, S.; Marsoni, S.; Gambacorta, M. Assessment of a HER2 scoring system for colorectal cancer: results from a validation study. *Mod. Pathol.* **2015**, *28*, 481-491.

65. Bang, Y.J.; Van Cutsem, E.; Feyereislova, A.; Chung, H.C.; Shen, L.; Sawaki, A.; Lordick, F.; Ohtsu, A.; Omuro, Y. Satoh, T.; Aprile, G.; Kulikov, E.; Hill, J.; Lehle, M.; Rüschoff, J.; Kang, Y.K.; ToGA Trial Investigators. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment

- of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet*. **2010**, *376*, 687-697.
66. Bulotta, S.; Celano, M.; Costante, G.; Russo, D. Emerging strategies for managing differentiated thyroid cancers refractory to radioiodine. *Endocrine*. **2016**, *52*, 214-221.
67. Soares, P.; Celestino, R.; Melo, M.; Fonseca, E. Sobrinho-Simões, M. Prognostic biomarkers in thyroid cancer. *Virchows. Arch.* **2014**, *464*, 333-346.
68. Ruggeri, R.M.; Campennì, A.; Baldari, S.; Trimarchi, F; Trovato M. What is New on Thyroid Cancer Biomarkers. *Biomark. Insights*. **2008**, *3*, 237-252.

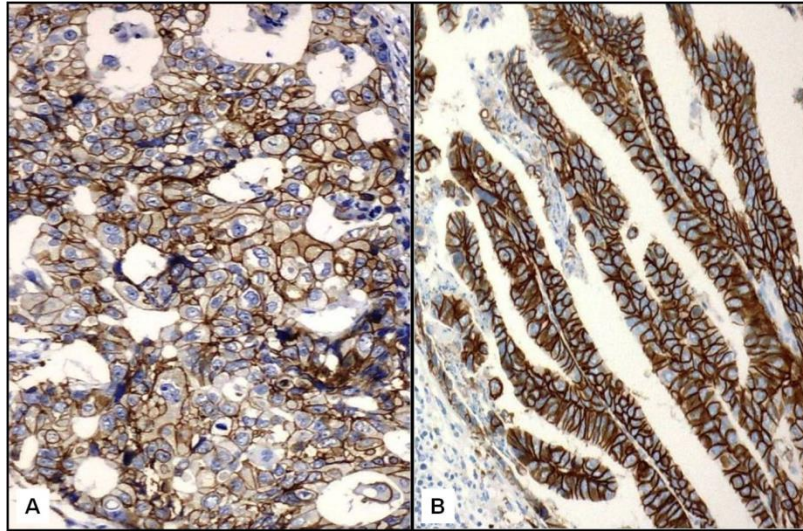
**Tabella 1.** Caratteristiche clinico-patologiche dei novanta pazienti affetti da TTD al momento dell'intervento chirurgico.

Variabili	Casi CTP (n=45)	Casi CTF (n=45)
Età (anni, media $\pm$ SD)	50.6 $\pm$ 12.3	52.7 $\pm$ 13.2
Sesso		
Maschi	11	6
Femmine	34	39
M:F	1:3	1:6.5
Caratteristiche istologiche	Classico, n=16 Variante follicolare, n=21 Variante oncocitaria, n=4 Variante sclerosante diffusa, n=4	Minimamente invasivo, n= 34 Estesamente invasivo, n= 11
Tumore primitivo pT <sup>[59]</sup>		
T1	34 (13 T1a e 21 T1b)	21 (9 T1a e 12 T1b)
T2	10	13
T3	1	11
T4	/	/
Metastasi linfonodali (NX/N0/N1) <sup>[59]</sup>		
pNX	12	20
pN0	23	25
pN1	10 (N1a)	/

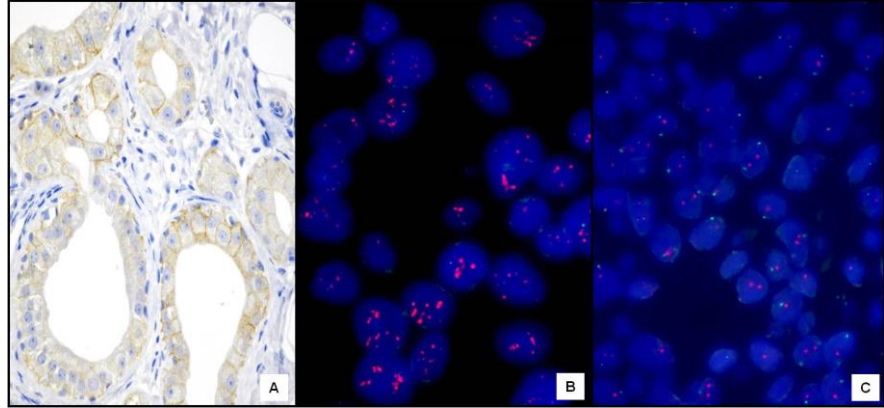
**Tabella 2.** Espressione di HER2 nei carcinomi tiroidei \*

<b>HER2 status</b>	<b>CTF</b> (n=45)	<b>CTP</b> (n=45)	<b>P</b>
<b>IHC</b>			
Negativo (0, 1+)	12 (26.6%)	30 (66.6%)	<b>0.020</b>
Equivoco (2+)	15	7	
Positivo (3+)	18	8	
<b>IHC/FISH</b>			
Casi positivi (3+ e amplificati)	20 (44.4%)	8 (17.7%)	<b>0.046</b>

\* determinata con l'utilizzo dell'immunoistochimica (IHC) per valutare l'espressione proteica. I casi valutati come 2+ all'IHC sono stati testati con tecniche di Ibridazione in situ a fluorescenza (FISH).



**Figura 1.** Diffusa, intensa e completa immunoreattività (3+) di HER2 in un caso di CTF (A, x400) e in un caso di CTP (B, X400) (colorazione nucleare con emallume di Mayer).



**Figura 2.** Caso FTC equivoco (2+) (A, X400) (colorazione nucleare con emallume di Mayer) con relativa amplificazione con metodica FISH (B, X660). Caso FTC HER2 equivoco non amplificato con metodica FISH (C, X460).