

PROGETTO DI RICERCA

STUDIO PROSPETTICO SULL'INFLUENZA PROGNOSTICA DELL'AUMENTO DI TSH IN CANI CON CARCINOMA DELLE GHIANDOLE APOCRINE DEI SACCHI ANALI TRATTATI CON TOCERANIB FOSFATO

INTRODUZIONE E RAZIONALE DELLO STUDIO

Nella pratica clinica oncologica umana, negli ultimi anni è aumentato sempre di più l'utilizzo di inibitori tirosin kinasici (TKI). Grazie alla ricerca, sono stati introdotti nel mercato diversi principi attivi, mirati a fornire armi diverse al clinico che deve confrontarsi con varie neoplasie.

È noto che i TKI possano interferire con l'asse ipotalamo – ipofisi – tiroide, causando quadri di ipotiroidismo clinico o subclinico. Tra tutti, il più comune TKI responsabile è il *sunitinib*, con prevalenze di sviluppo di ipotiroidismo che si attestano tra il 27 e l'85%, a seconda degli studi. (figura 1) I meccanismi con cui tali farmaci influiscono sull'asse sono svariati e ancora oggi oggetto di studio. Tra questi, ricordiamo la diminuzione della densità capillare nella tiroide, dovuta all'effetto antiangiogenico dell'inibizione del *vascular endothelial growth factor receptor* (VEGFR), l'induzione dell'attività della deiodinasi di tipo 3, l'inibizione dell'uptake di iodio, l'inibizione dell'attività perossidasi, l'alterazione dei meccanismi di trasporto ormonali e la diminuita sintesi di ormoni tiroidei. (Kappers, 2011; Mannavola, 2007; Wong, 2007; Braun, 2012)

Figura 1. Incidenza di disfunzione tiroidea indotta da trattamento con TKIs in diversi studi (da Brown, 2011)

Authors	TKI	Number of patients (n)	Tumor type	Patients with no thyroid abnormality (n) (%)	Patients with elevated TSH (n) (%)	Patients with suppressed TSH (n) (%)
Desai et al. [4]	Sunitinib	42	GIST	26 (38%)	Persistent=15 (36%) Transient=7 (17%)	Isolated=4 (10%) Prior to developing elevated TSH=6 (14%)
Mannavola et al. [5]	Sunitinib	24	GIST	7 (29%)	Total=17 (71%) Persistent=11(46%) Transient=6 (25%)	ND
Rini et al. [1]	Sunitinib	66	RCC	10 (15%)	56 (85%)	ND
Wong et al. [2]	Sunitinib	40	Solid (mostly GIST)	ND	21 (53%)	ND
Wolter et al. [6]	Sunitinib	59	RCC, GIST	20 (34%)	Total=36 (61%) Persistent=16 (27%) Transient=20 (34)	ND
Shinohara et al. [40]	Sunitinib	14	RCC	ND	11 (79%)	Prior to developing elevated TSH=3 (21%)
Riesenbeck et al. [42]	Sunitinib or sorafenib	66	RCC	ND	21 (31.8%)	ND
Schmidinger et al. [41]	Sunitinib or sorafenib	87	RCC	ND	30 (36,1%)	ND

Un dato interessante che emerge da diversi lavori è che lo sviluppo di ipotiroidismo, subclinico e non, sembra associarsi a migliori outcome oncologici e rappresenta un vero e proprio fattore prognostico positivo indipendente per la sopravvivenza. (Bailey, 2015; Sella, 2012; Riesenbeck, 2011; Schmidinger, 2011; Lechner, 2018) Una delle ipotesi per questo rilievo sostiene che gli ormoni tiroidei possano, direttamente o indirettamente, tramite la modulazione di fattori di crescita, stimolare lo sviluppo tumorale e che quindi da una loro carenza si possa trarre beneficio. (Garfield, 2007)

Inoltre, l'ormone tireotropo (TSH), quello che più comunemente si modifica in corso di terapia, sembra possa essere un biomarker della concentrazione di farmaco e l'eventuale sviluppo di ipotiroidismo potrebbe riflettere la suscettibilità farmacocinetica al TKI. (Brown, 2011; Schmidinger, 2011)

Non è noto se l'aumento della dose di TKI si rifletta in un aumento del rischio di sviluppo di ipotiroidismo, così come non è dato sapere se l'influenza positiva sull'outcome si verifichi nel momento in cui l'ipotiroidismo si manifesta all'inizio della terapia o dopo diversi cicli.

Non esistono linee guida specifiche per la gestione di questa problematica nell'uomo. Non è noto se sia opportuno interrompere la terapia con TKI o se sia meglio supplementare la carenza con levotiroxina. Studi su modelli murini hanno messo in evidenza, tuttavia, che l'interruzione di TKI e la supplementazione con levotiroxina permettono al tumore di tornare a tassi di crescita pari a quelli prima della terapia. (Theodossiou, 1999)

In medicina veterinaria, sono registrati per l'uso due TKI, il *masitinib maleato* e il più utilizzato *toceranib fosfato*. Quest'ultimo è registrato per l'uso nel mastocitoma cutaneo canino, ma viene largamente utilizzato in modalità off – label per il trattamento di altre neoplasie, tra cui il carcinoma delle ghiandole apocrine dei sacchi anali (AGASAC). (London, 2012; Heaton, 2020; Yamazaki, 2020)

In letteratura, sono presenti due studi che hanno valutato l'interazione tra utilizzo di TKI e asse ipotalamo – ipofisi – tiroide nel cane. (Hume, 2018; Harper, 2019) Hume e colleghi, nel 2018, hanno registrato, in cani con tumori maligni trattati con *toceranib fosfato*, un aumento significativo della concentrazione di TSH canino (cTSH) e una riduzione significativa della concentrazione di tiroxina libera (fT4) ai giorni 30 e 90 del protocollo; al giorno 90, il 24% dei cani aveva un pannello ormonale compatibile con ipotiroidismo (cTSH maggiore del limite superiore del range di riferimento, fT4 o tiroxina totale [tT4] minori del limite inferiore del range di riferimento). Non è stata presa in considerazione, in tale lavoro, l'eventuale sintomatologia dei pazienti e non sono stati

esclusi i cani con TSH elevato alla diagnosi. Anche Harper e colleghi, nel 2019, hanno registrato, in cani con tumore maligno, un aumento significativo della concentrazione di cTSH alla sesta e dodicesima settimana di terapia con *toceranib fosfato*. Non evidenziavano alcuna variazione della concentrazione di tT4, né segni clinici compatibili con ipotiroidismo ai due time-point.

Ciò che manca in letteratura è una valutazione precisa dello sviluppo di ipotiroidismo, clinico e subclinico, su follow-up maggiori di 3 mesi. Nell'uomo, infatti, l'intervallo in cui questo può svilupparsi è ampio, con dati che vanno dalle poche settimane a molti mesi. Inoltre, non è noto se nel cane lo sviluppo di ipotiroidismo si associ a migliori outcome.

L'obiettivo primario dello studio è di valutare il tempo a progressione (TTP) e la sopravvivenza (ST) in cani con carcinoma delle ghiandole apocrine dei sacchi anali trattati con *toceranib fosfato*, confrontando i dati tra cani che sviluppano aumento di cTSH e cani che non lo sviluppano.

L'ipotesi è che i cani in cui si manifesta aumento delle concentrazioni sieriche di TSH mostrino TTP e ST maggiori rispetto ai cani in cui questo non si verifica. Obiettivo secondario è valutare se cTSH o altri parametri possano fungere da fattori predittivi per TTP, ST, sviluppo di effetti collaterali e sospensione della terapia.

MATERIALI E METODI

Animali.

Verranno inclusi in modo prospettico cani che abbiano diagnosi citologica e/o istologica di carcinoma delle ghiandole apocrine dei sacchi anali e che debbano ricevere *toceranib fosfato* come parte del trattamento oncologico.

Verranno applicati i seguenti criteri di esclusione:

- Malattie sistemiche acute gravi e potenzialmente fatali;
- Sopravvivenza attesa inferiore a 1 mese;
- Trattamento con farmaci noti per influire sulle concentrazioni sieriche di T4 e TSH (e.g., fenobarbitale e antibiotici sulfamidici);
- cTSH elevato all'inizio della terapia;
- Chemioterapia e/o radioterapia concomitanti.

I cani inclusi verranno quindi suddivisi in due gruppi sulla base della concentrazione di cTSH dopo un mese di terapia. Cani con cTSH aumentato entreranno a far parte del gruppo *thyroid* (T), mentre cani con cTSH normale o diminuito verranno assegnati al gruppo *normal* (N).

Struttura dello studio.

Al fine di valutare gli obiettivi dello studio, vengono individuati 4 time-point, individuati in prima dell'inizio della terapia con *toceranib fosfato* (T0) e dopo 1 (T1), 3 (T3) e 6 (T6) mesi dalla prima somministrazione. L'endpoint primario sarà rappresentato dalla progressione del tumore, mentre l'endpoint secondario sarà rappresentato dal decesso del cane.

A ogni time-point, verrà richiesto ai proprietari dei cani inclusi di compilare un questionario riguardo le possibili alterazioni cliniche tipiche di ipotiroidismo, verrà eseguito un esame fisico diretto accurato e verranno raccolti campioni di sangue (vd. *campionamento e metodi analitici*) per le analisi dei parametri clinico – patologici di interesse. A seconda delle preferenze del clinico responsabile del paziente, verranno eseguite, a time-point variabili, indagini di diagnostica per immagini per la valutazione della progressione tumorale. La risposta al trattamento verrà classificata, secondo i criteri per la valutazione della risposta di tumori solidi (RECIST), in remissione completa (CR), remissione parziale (PR), malattia stabile (SD) e malattia progressiva (PD).

Verranno registrati gli effetti collaterali dovuti al trattamento con *toceranib fosfato*, eventuali sospensioni o riduzioni di dose della terapia e i motivi per cui queste si verificano. Verranno esclusi dallo studio i cani in cui il trattamento con *toceranib fosfato* verrà sospeso definitivamente o per più di 3 settimane, e la causa dell'interruzione verrà annotata.

Campionamento e metodi analitici.

Cinque ml di sangue periferico verranno prelevati a ogni time-point definito. I campioni verranno raccolti in provette contenenti EDTA per l'esame emocromocitometrico e in provette da siero per l'esame biochimico e la determinazione di tT4 e cTSH.

Dopo la formazione del coagulo a temperatura ambiente, il siero verrà separato tramite centrifugazione. L'esame emocromocitometrico e l'esame biochimico verranno effettuati nel laboratorio dei centri di arruolamento dei casi entro 1 ora dal prelievo. Il siero rimanente verrà utilizzato per la determinazione degli ormoni tiroidei o stoccato a -80°C per analisi successive.

Power Analysis

Verranno inclusi 11 cani nel gruppo T e 32 cani nel gruppo N, numeri necessari per evidenziare una differenza significativa fra i 2 gruppi, con α pari a 0,05 e potenza statistica pari a 0,8, assumendo una differenza media di TTP di 90 giorni fra i due gruppi e una deviazione standard di +/- 90 giorni in entrambi i gruppi.

Analisi dei dati.

I dati verranno analizzati tramite software commerciali (SPSS Statistics, Graph Pad). Verrà eseguita statistica descrittiva, verranno confrontati TTP e ST tra i due gruppi tramite log-rank test. Verranno inoltre eseguite analisi univariata e multivariata per valutare l'influenza prognostica di alcune variabili. La significatività è posta a $p < 0,05$.

Considerazioni etiche.

Ogni cane incluso seguirà un iter terapeutico scelto dal clinico responsabile del caso secondo evidenza. Ai cani inclusi non verrà prelevato più sangue di quello che normalmente verrebbe prelevato per i controlli di routine.

Bibliografia

- Bailey EB, Tantravahi SK, Poole A, et al., Correlation of degree of hypothyroidism with survival outcomes in patients with metastatic renal cell carcinoma receiving vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors. 2015, Clin Genitourin Cancer, 13:e131–137;
- Braun D, Kim TD, le Coutre P, et al. Tyrosine kinase inhibitors noncompetitively inhibit MCT8-mediated iodothyronine transport. 2012, J Clin Endocrinol Metab, 97:E100–E105;
- Brown R, Tyrosine kinase inhibitor-induced hypothyroidism: incidence, etiology, and management. 2007, Targ Oncol, 6:217–226;
- Garfield D, Hercbergs A, Davis P, Unanswered questions regarding the management of sunitinib-induced hypothyroidism. 2007, Nat Clin Pract, 4:674;
- Hume KR, Rizzo VL, Cawley JR, et al., Effects of Toceranib Phosphate on the Hypothalamic-Pituitary-Thyroid Axis in Tumor-Bearing Dogs. 2018, J Vet Intern Med, 32:377–383;
- Kappers MH, van Esch JH, Smedts FM, et al. Sunitinib-induced hypothyroidism is due to induction of type 3 deiodinase activity and thyroidal capillary regression. 2011, J Clin Endocrinol Metab; 96:3087–3094;
- Lechner MG, Vyas CM, Hamnvik OPR, et al., Hypothyroidism During Tyrosine Kinase Inhibitor Therapy Is Associated with Longer Survival in Patients with Advanced Nonthyroidal Cancers. 2018, Thyroid, 28:4;
- Mannavola D, Coco P, Vannucchi G, et al. A novel tyrosine-kinase selective inhibitor, sunitinib, induces transient hypothyroidism by blocking iodine uptake. 2007, J Clin Endocrinol Metab, 92:3531–3534;
- Riesenbeck LM, Bierer S, Hoffmeister I, et al., Hypothyroidism correlates with a better prognosis in metastatic renal cancer patients treated with sorafenib or sunitinib. 2011, World J Urol, 29:807–813;
- Schmidinger M, Vogl UM, Bojic M, et al., Hypothyroidism in patients with renal cell carcinoma: blessing or curse? 2011, Cancer, 117:534–544;

- Sella A, Hercbergs AH, Hanovich E, et al., Does sunitinib-induced hypothyroidism play a role in the activity of sunitinib in metastatic renal cell carcinoma? 2015, *Chemotherapy*, 58:200–205;
- Theodossiou C, Skrepnik N, Robert EG, et al., Propylthiouracil-induced hypothyroidism reduces xenograft tumor growth in athymic nude mice. 1999, *Cancer*, 86:1596–1601;
- Wong E, Rosen LS, Mulay M, et al. Sunitinib induces hypothyroidism in advanced cancer patients and may inhibit thyroid peroxidase activity. 2007, *Thyroid*; 17:351–355;