



UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA E

HISTORIA DE LA CIENCIA

**TESIS DOCTORAL**

**ANÁLISIS MEDIANTE MICROMATRICES DE TEJIDO DE MARCADORES  
INMUNOHISTOQUÍMICOS DE UTILIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL  
DEL CARCINOMA DIFERENCIADO DE TIROIDES**

**JULIO MERINO MONTES  
GRANADA, 2012.**

Editor: Editorial de la Universidad de Granada

Autor: Julio Merino Montes

D.L.: GR 340-2012

ISBN: 978-84-9028-353-0

**D<sup>a</sup> Mercedes Gómez Morales**, Doctora en Medicina, Profesora asociada de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada

**D. Raimundo García del Moral Garrido**, Catedrático de Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada

**Certifican**

al firmar esta tesis doctoral, realizada por el doctorando **D. Julio Merino Montes**, que el trabajo titulado “**Análisis mediante micromatrices de tejido de marcadores inmunohistoquímicos de utilidad en el diagnóstico diferencial del carcinoma diferenciado de tiroides**” ha sido realizado por el doctorando bajo la dirección de los directores de la tesis y, hasta donde nuestro conocimiento alcanza, en la realización del trabajo se ha respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Y para que así conste, se expide el presente certificado, en Granada a \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2012.

Fdo.: Dra. D<sup>a</sup> Mercedes Gómez Morales

Fdo.: Dr. D. Raimundo García del Moral Garrido



**D<sup>a</sup> Mercedes Gómez Morales** Doctora en Medicina, Profesora asociada de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada

**D. Raimundo García del Moral Garrido**, Catedrático de Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada

**Certifican**

Que **D. Julio Merino Montes**, licenciado en Medicina, ha realizado bajo nuestra dirección el trabajo de Tesis Doctoral:

**“Análisis mediante micromatrices de tejido de marcadores inmunohistoquímicos de utilidad en el diagnóstico diferencial del carcinoma diferenciado de tiroides”**

ha sido revisada por nosotros y estimamos que está conforme para ser presentada y aspirar al grado de Doctor por la Universidad de Granada ante el Tribunal que en su día se designe.

Y para que así conste, se expide el presente certificado, en Granada a \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2012.

Dra. D<sup>a</sup> Mercedes Gómez Morales

Dr. D. Raimundo García del Moral Garrido



## ***Agradecimientos***

El camino que se ha recorrido para llegar a la conclusión de esta tesis ha sido largo, quizás demasiado, pero en él siempre he encontrado el apoyo y el aliento de mis directores, Dr. García del Moral y de la Dra. Gómez. Muchas gracias Raimundo por tu apoyo y consejo; Mercedes muchas gracias por tu paciencia, dedicación y generosidad, sin la cual este trabajo no habría podido concluirse.

Igualmente quiero agradecer de forma muy sincera a todo el personal del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Clínico de Granada, su apoyo y ánimo el cual me ha ayudado a continuar en este camino en los momentos más inciertos; al Dr. Nogales por su generosidad al hacerme partícipe de sus conocimientos y buenos consejos, al Dr. Aneiros por sus oportunos comentarios, a la Dra Caballero, Dr. Cámara y Dr. López por su absoluta disposición a enseñarme todo cuanto sé. Al Dr. Esquivias por introducirme en el mundo de la citología y la PAAF. Al Dr. Aguilar, Dr. O´Valle, Dr. Linares y al Dr. Alonso, que de una u otra forma me han prestado su incondicional apoyo. También quiero reflejar aquí mi muestra de gratitud a M<sup>a</sup> Dolores, pues sin ella ninguna de las preparaciones sería posible, gracias por tu dedicación y paciencia, igualmente quiero agradecer el trabajo, en la "sombra" y silencioso de Garrido, sin él el Servicio de Anatomía Patológica sería otro. De toda la plantilla del Servicio de Anatomía patológica, los mencionados y los no mencionados aquí (pero nunca olvidados), quisiera recordar de forma muy especial a "nuestra" Nati, que aunque ya no estés aquí, siempre nos quedará entre nosotros la luz de tu sonrisa.

Igualmente quiero expresar aquí mi agradecimiento al todo el personal de RBTA por su absoluta colaboración y su disposición a colaborar en todo cuanto fue preciso, en especial a Anabel y a Ana.

Quiero recordar aquí el importantísimo papel desempeñado por el Dr. Sánchez Cantalejo quien desde la Escuela Andaluza de Salud Publica nos asesoró, guió y ayudó en toda la dura y desafiante tarea estadística.

También quiero reflejar mi gratitud a mis compañeros del Hospital Rafael Méndez, Carmen, Martín y Víctor, por el ánimo y apoyo recibido en todo este tiempo.

A toda mi familia, que de una forma u otra me han posibilitado llegar hasta aquí, en especial a mi padre quien a su manera me inculcó su interés por la Medicina.





*A María,  
Julia y  
Marta,  
por su amor  
y sus sonrisas,  
gracias por vuestra infinita paciencia.*



## Resumen

Los tumores malignos de la glándula tiroidea son las neoplasias más comunes de los órganos endocrinos y dentro de ellos los carcinomas diferenciados son los más frecuentes. No existe ningún procedimiento diagnóstico capaz de distinguir entre ellos y los nódulos tiroideos benignos, que afectan a un porcentaje muy alto de la población general considerándose el método más útil la punción aspiración con aguja fina (PAAF). A pesar de que es el procedimiento de elección la PAAF tiene una serie de limitaciones importantes, especialmente que muchas veces no se puede alcanzar un diagnóstico definitivo en las lesiones con patrón histológico folicular (variante folicular del carcinoma papilar, hiperplasia adenomatosa, adenoma folicular y el carcinoma folicular). Estos casos muchas veces se diagnostican como lesión proliferativa folicular lo que lleva a una intervención quirúrgica, muchas veces innecesaria si se tiene en cuenta que sólo del 15 al 25% de estos casos van a ser un carcinoma. Por otra parte con excepción de la mutación de BRAF, característica del carcinoma papilar, pero que se encuentra sólo en un porcentaje de estas neoplasias no existe un perfil genético específico que distinga los casos malignos de los benignos.

## PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS

Por todo lo expuesto nuestro objetivo ha sido investigar 1) si existe un perfil molecular que distinga los carcinomas diferenciados de tiroidea de las lesiones benignas y que pueda ser aplicado preoperatoriamente. 2) Si el análisis molecular permite distinguir las distintas formas de carcinoma diferenciado de tiroidea y 3) Si hay un perfil molecular que se relacione con el pronóstico.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio retrospectivo de material incluido en parafina de distintos procesos benignos y malignos para compararlos entre sí. La serie incluye 18 tiroideas normales, 402 lesiones benignas (hiperplasias nodulares, adenomas foliculares, tiroiditis de Hashimoto y enfermedad de Graves Basedow) 87 carcinomas papilares, 31 carcinomas foliculares, cinco carcinomas medulares, 3 carcinomas anaplásicos y dos carcinomas pobremente diferenciados. Se construyeron micromatrices de tejido con estos casos seleccionando áreas representativas de cada uno, en un bloque de parafina, tras un examen histológico de todo el material disponible. Cada bloque de matrices incluía 40 muestras obtenidas con una aguja de 2mm de diámetro. De esta forma se construyeron 14 bloques de los que se obtuvieron secciones de 3 micras de espesor que se sometieron a estudio inmunohistoquímico usando un inmunoteñidor Autostainer 480 (Labvisión, California) usando anticuerpos frente a: IMP3, CITED1, Ciclina D1, Ciclina E, P27, P53, P63, PARP-1, TPO, COX2, Galectina 3, CD44s, CD44v6, CD57, E-cadherina,  $\beta$ -catenina, HBME-1, queratán sulfato, citoqueratina 19 y Ki67. Para el estudio estadístico se utilizó el paquete de análisis de datos R 2.15.0 (R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for

Statistical Computing, Vienna, Austria. V. 2.25.0, 2012). En la comparación de grupos se empleó el análisis de la varianza (ANOVA), el test de U Mann Whitney, test de Kruskal Wallis, Chi cuadrado así como la correlación de Spearman, según las variables analizadas. Para la construcción de un modelo de predicción de malignidad frente a benignidad se ha empleado el modelo de regresión logística binaria y análisis multivariante. Para cada anticuerpo empleado se han calculado los índices de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo y valor global o precisión.

## **RESULTADOS Y CONCLUSIONES**

Los resultados obtenidos más relevantes han sido:

Con respecto a la edad de los enfermos que integran la serie no hubo diferencias en cuanto a la expresión de marcadores en los mayores de 45 años y los menores de esta edad excepto para 4 de ellos: CD44s, CD44v6, CK19 y HBME1, siendo su expresión menor en el grupo de más edad.

En el grupo de patología benigna se observó que tres marcadores CD44s, CD44v6 y HBME-1 tuvieron menor expresión en el grupo de mayor edad (> de 45 años) con respecto al grupo de < de 45 años.

Al analizar la patología maligna se observaron diferencias con significación estadística entre ambos grupos de edad con respecto a tres marcadores: TPO, CD44v6 y CK19, con menor expresión de los tres en el grupo de enfermos de > de 45 años.

El análisis de la expresión de los distintos marcadores analizados en los grupos específicos de patologías ha permitido llegar a las siguientes conclusiones:

1 La aplicación de técnicas inmunohistoquímicas para detectar determinados antígenos celulares es un procedimiento útil y de ayuda en el diagnóstico de los carcinomas diferenciados de tiroides.

2. a) El estudio simultáneo de los marcadores Gal-3, HBME-1, ki67, CITED-1 y TPO ha resultado la combinación más útil en nuestro estudio para distinguir los carcinomas diferenciados de tiroides de las lesiones benignas.

b) Esta combinación resulta igualmente eficaz si se sustituye la determinación de HBME-1 por la de KS.

c) Las combinaciones reseñadas anteriormente son más eficaces para el diagnóstico de carcinoma diferenciado de tiroides que el uso simultáneo de CK19, Gal-3 y HBME-1.

3. Los marcadores que usados de forma individual presentan mayor precisión en el diagnóstico diferencial de los carcinomas diferenciados de tiroides, particularmente para el carcinoma papilar, son el HBME-1 y KS.

4. A pesar de que estos dos marcadores HMBE-1 y KS tienen una eficacia diagnóstica superponible, la distinta distribución celular que presentan indica que los Ac utilizados para su detección reconocen moléculas diferentes.

5. En el carcinoma papilar de tiroides la ausencia de TPO y la expresión de Gal 3 son característicos de las formas más agresivas y por tanto son marcadores de progresión tumoral.

6. En el carcinoma papilar de tiroides la pérdida de expresión de TPO en el tumor primario se relaciona significativamente con la existencia de metástasis ganglionares en el momento del diagnóstico. Este hecho puede ser de utilidad para replantear la necesidad de completar la cirugía en aquellos casos en que esta fuera incompleta de inicio.

7. En el carcinoma folicular la ausencia de TPO y la expresión de HBME-1 se relacionan con las formas más agresivas y por tanto son marcadores de progresión tumoral.

8. Un valor superior a 3 en nuestra escala, con la tinción inmunohistoquímica para Ki67 utilizando el anticuerpo monoclonal MIB 1, se relaciona con el diagnóstico de carcinoma folicular, un hecho a considerar en el diagnóstico diferencial de las neoplasias foliculares.

9. De nuestro propio estudio y de la revisión de la literatura científica al respecto se deduce la necesidad de establecer protocolos técnicos y de valoración homogéneos para el estudio de marcadores en el diagnóstico diferencial de las neoplasias de tiroides, de forma semejante a los que ya existen para otras neoplasias y que puedan ser reproducibles en los distintos laboratorios de Anatomía Patológica.

## Indice de abreviaturas

<b>AACE/AME</b>	<i>American Association of Clinical endocrinologists and Associazione Medici Endocrinologi</i>
<b>ADN</b>	Ácido dextrirribonucleico
<b>AF</b>	Adenoma folicular
<b>AGES</b>	<i>Age, Growth, Extension, Size</i>
<b>AJCC</b>	<i>American Joint on Cáncer committee</i>
<b>AMES</b>	<i>Age, Metastases, Extension, Size</i>
<b>AP-1</b>	Proteína activadora 1
<b>ARN</b>	Ácido ribonucleico
<b>ARNm</b>	Ácido ribonucleico mensajero
<b>ATA</b>	<i>American Thyroid Association</i>
<b>CAT</b>	Carcinoma anaplásico de tiroides
<b>CD</b>	<i>Cluster of differentiation (cluster of designation)</i>
<b>CDK</b>	Ciclina-cinasa dependiente de ciclinas
<b>CDT</b>	Carcinoma diferenciado de tiroides
<b>CFT</b>	Carcinoma folicular de tiroides
<b>CIP/KIP</b>	<i>CDK interacting protein/Kinase inhibitory protein</i>
<b>CK19</b>	Citoqueratina 19
<b>CMT</b>	Carcinoma medular de tiroides
<b>COX</b>	Ciclooxigenasa
<b>CPD</b>	Carcinoma pobremente diferenciado
<b>CPT</b>	Carcinoma papilar de tiroides
<b>CPTcc</b>	Carcinoma papilar de tiroides de células claras
<b>CPTc</b>	Carcinoma papilar de tiroides clásico
<b>CPTca</b>	CPT variante células altas
<b>CPTvf</b>	CPT Variante folicular
<b>DT</b>	Desviación típica
<b>ERK</b>	<i>Extracellular signal-regulated kinases</i>
<b>ETA</b>	<i>European Thyroid association</i>
<b>EUROCARE</b>	<i>European Cáncer Registry-based study on survival and care of cáncer patients</i>
<b>FN</b>	Falso negativo
<b>FP</b>	Falso positivo
<b>Gal-3</b>	Galectina-3
<b>GDP</b>	Guanosín difosfato
<b>GTP</b>	Guanosín trifosfato
<b>HCN</b>	Hiperplasia coloide nodular
<b>MACIS</b>	Metástasis a distancia, Edad, resección Completa, Invasión y tamaño
<b>MAPK</b>	Proteína cinasa activada por mitógenos
<b>MET</b>	Receptor del factor de crecimiento de hepatocitos
<b>MCPT</b>	Metástasis de carcinoma papilar de tiroides
<b>miCPT</b>	Microcarcinoma papilar de tiroides
<b>NIS</b>	Transportador sodio/yodo
<b>NTRK1</b>	<i>Neutrophic Tyrosine Kinase Receptor type1</i>
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>PAAF</b>	Punción-aspiración con aguja fina

<b>PI3k</b>	Fosfatidilinositol-3 cinasa
<b>PET</b>	Tomografía por emisión de positrones
<b>PKA</b>	Proteína cinasa A
<b>pRB</b>	Proteína del retinoblastoma
<b>PTEN</b>	<i>Phosphatase and tensin homolog</i>
<b>KS</b>	Queratán sulfato
<b>RAS</b>	<i>Rats sarcoma</i>
<b>RET</b>	<i>Rearranged during transfection</i>
<b>RT-PCR</b>	<i>Real time-PCR</i>
<b>SEER</b>	<i>Surveillance Epidemiology and End Results</i>
<b>TERT</b>	Telomerasa
<b>TNM</b>	<i>Tumor Node Metastasis</i>
<b>TPO</b>	Tiroperoxidasa
<b>TRAP</b>	Protocolo de amplificación repetida de la telomerasa
<b>TRKA</b>	<i>Tirosine kinase receptor A</i>
<b>TSH</b>	Hormona estimulante tiroidea
<b>UICC</b>	Unión internacional contra el cáncer
<b>VEGF</b>	Factor de crecimiento del endotelio vascular
<b>VN</b>	Verdadero negativo
<b>VP</b>	Verdadero positivo
<b>VPN</b>	Valor predictivo negativo
<b>VPP</b>	Valor predictivo positivo





## Índice de tablas y figuras

TABLA 1 FUENTE: REGISTRO DE CÁNCER DE GRANADA, PERIODO 2002-2006 (2011).	3
TABLA 2. SISTEMA BETHESDA 2007.	6
TABLA 3 PREVALENCIAS DE MUTACIONES GENÉTICAS.	1
TABLA 4. CASUÍSTICA POR AÑOS.	119
TABLA 5. CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS DE LOS MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS UTILIZADOS EN EL ESTUDIO	126
TABLA 6 BAREMO DE PUNTUACIÓN SEMICUANTITATIVA EN LOS DIFERENTES MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS EMPLEADOS.	128
TABLA 7 DISTRIBUCIÓN DE CASOS EN UNA TABLA 2x2.	130
TABLA 8. RESULTADOS DE LOS MARCADORES ESTUDIADOS EN EL CONJUNTO TOTAL DE CASOS Y SEGMENTADOS POR LA EDAD DE LOS PACIENTES EN EL MOMENTO DEL DIAGNÓSTICO.	136
TABLA 9 RELACIÓN ENTRE LA EXPRESIÓN DE LOS MARCADORES Y LA EDAD EN EL GRUPO DE P. BENIGNA	141
TABLA 10 RELACIÓN ENTRE LA EXPRESIÓN DE LOS MARCADORES Y LA EDAD EN EL GRUPO DE P. MALIGNA.	146
TABLA 11 PATRÓN DE EXPRESIÓN EN FUNCIÓN DEL SEXO EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA BENIGNA.	148
TABLA 12 PATRÓN DE EXPRESIÓN EN FUNCIÓN DEL SEXO EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA MALIGNA.	149
TABLA 13. RELACIÓN ENTRE EL TNM Y LA EDAD EN EL CPT	152
TABLA 14 RELACIÓN ENTRE EL TAMAÑO TUMORAL Y LA INVASIÓN CAPSULAR DE LOS CFT, SEGÚN EDAD	152
TABLA 15. RESUMEN DE FRECUENCIAS	154
TABLA 16 VALORACIÓN DEL IMP-3.	156
TABLA 17. VALORACIÓN DEL IMP-3 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA BENIGNA.	157
TABLA 18. VALORACIÓN DEL IMP-3 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA MALIGNA.	158
TABLA 19 VALORACIÓN DEL CITED-1.	160
TABLA 20. VALORACIÓN DEL CITED-1 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA BENIGNA.	160
TABLA 21. VALORACIÓN DEL CITED-1 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA MALIGNA.	161
TABLA 22 VALORACIÓN DE LA CICLINA D1	162
TABLA 23. VALORACIÓN DE LA CICLINA D1 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA BENIGNA.	163
TABLA 24. VALORACIÓN DE LA CICLINA D1 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA MALIGNA.	164
TABLA 25 VALORACIÓN DE LA CICLINA E	165
TABLA 26. VALORACIÓN DE LA CICLINA E EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA BENIGNA.	166
TABLA 27. VALORACIÓN DE LA CICLINA E EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA MALIGNA	167
TABLA 28 VALORACIÓN DE LA P27	168
TABLA 29. VALORACIÓN DE LA P27 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA BENIGNA	169
TABLA 30. VALORACIÓN DE LA P27 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA MALIGNA	170
TABLA 31 VALORACIÓN DE LA P53.	172
TABLA 32. VALORACIÓN DEL P53 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA BENIGNA	172
TABLA 33. VALORACIÓN DE P53 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA MALIGNA	173
TABLA 34 VALORACIÓN DE LA P63	174
TABLA 35. VALORACIÓN DE LA P63 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA BENIGNA.	175
TABLA 36. VALORACIÓN DE LA P63 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA MALIGNA	176
TABLA 37 VALORACIÓN DE LA PARP-1.	177
TABLA 38. VALORACIÓN DE LA PARP-1 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA BENIGNA.	178
TABLA 39. VALORACIÓN DE LA PARP-1 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA MALIGNA.	179
TABLA 40 VALORACIÓN CITOPASMÁTICA DE LA PARP-1.	180
TABLA 41. VALORACIÓN CITOPASMÁTICA DE LA PARP-1 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA BENIGNA	181
TABLA 42. VALORACIÓN CITOPASMÁTICA DE PARP-1 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA MALIGNA.	181
TABLA 43. VALORACIÓN DE LA TPO.	184
TABLA 44. VALORACIÓN DE LA TPO EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA BENIGNA	184
TABLA 45. VALORACIÓN DE LA TPO EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA MALIGNA	185
TABLA 46. VALORACIÓN DE LA COX-2.	188

## Índice

TABLA 47. VALORACIÓN DE LA COX-2 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA BENIGNA.....	188
TABLA 48. VALORACIÓN DE LA COX-2 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA MALIGNA .....	189
TABLA 49 VALORACIÓN DE LA GAL-3. ....	191
TABLA 50. VALORACIÓN DE LA GAL-3 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA BENIGNA .....	191
TABLA 51. VALORACIÓN DE LA GAL-3 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA MALIGNA.....	192
TABLA 52 VALORACIÓN DEL CD44s.....	194
TABLA 53 VALORACIÓN DEL CD44s EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA BENIGNA.....	194
TABLA 54. VALORACIÓN DEL CD44s EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA MALIGNA .....	195
TABLA 55 VALORACIÓN DEL CD44v6. ....	196
TABLA 56. VALORACIÓN DEL CD44v6 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA BENIGNA .....	197
TABLA 57. VALORACIÓN DEL CD44v6 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA MALIGNA .....	198
TABLA 58 VALORACIÓN DEL CD57. ....	199
TABLA 59. VALORACIÓN DEL CD57 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA BENIGNA .....	200
TABLA 60. VALORACIÓN DEL CD57 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA MALIGNA .....	201
TABLA 61 VALORACIÓN DE LA E-CADHERINA. ....	202
TABLA 62. VALORACIÓN DE LA E-CADHERINA EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA BENIGNA .....	203
TABLA 63. VALORACIÓN DEL E-CADHERINA EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA MALIGNA.....	204
TABLA 64 VALORACIÓN DE LA B-CATENINA. ....	206
TABLA 65. VALORACIÓN DE LA B-CATENINA EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA BENIGNA.....	207
TABLA 66. VALORACIÓN DE LA B-CATENINA EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA MALIGNA .....	207
TABLA 67 VALORACIÓN DE HBME-1. ....	210
TABLA 68. VALORACIÓN DE HBME-1 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA BENIGNA .....	210
TABLA 69. VALORACIÓN DE HBME-1 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA MALIGNA .....	211
TABLA 70 VALORACIÓN DEL KS. ....	212
TABLA 71. VALORACIÓN DEL KS EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA BENIGNA .....	213
TABLA 72. VALORACIÓN DEL KS EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA MALIGNA.....	214
TABLA 73 VALORACIÓN DE LA CK19.....	216
TABLA 74. VALORACIÓN DE LA CK-19 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA BENIGNA .....	216
TABLA 75. VALORACIÓN DE LA CK-19 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA MALIGNA .....	217
TABLA 76 VALORACIÓN DEL KI67.....	218
TABLA 77. VALORACIÓN DEL KI67 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA BENIGNA.....	219
TABLA 78. VALORACIÓN DEL KI67 EN EL GRUPO DE PATOLOGÍA MALIGNA.....	220
TABLA 79 TABLA RESUMEN DE LA EXPRESIÓN DE LOS MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS UTILIZADOS .....	221
TABLA 80 SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD, VPP, VPN Y PRECISIÓN DE LA TÉCNICA EN EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL ENTRE PATOLOGÍA BENIGNA Y MALIGNA.....	222
TABLA 81. EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA EN LOS TUMORES PAPILARES. ....	223
TABLA 82 EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA SEGÚN EL PATRÓN ENCAPSULADO DEL CPT .....	224
TABLA 83. EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA SEGÚN EL PERFIL METASTÁTICO.....	1
TABLA 84 RELACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE LOS MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS EN EL GRUPO DE CASOS DE CPTC FRENTE AL CPTvF RELACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE LOS MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS EN EL GRUPO DE CASOS DE CPTC FRENTE AL CPTvF.....	226
TABLA 85 RELACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE LOS MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS EN EL GRUPO DE CASOS DE mCPT FRENTE AL CPTvF.....	227
TABLA 86 RELACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE LOS MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS EN EL GRUPO DE CASOS DE AF FRENTE AL CPTvF .....	228
TABLA 87 TABLA RESUMEN DE LA SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD, VPP, VPN, Y PRECISIÓN DIAGNÓSTICA DE LOS MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS APLICADOS DE FORMA INDIVIDUAL EN EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL ENTRE CPT Y LA PATOLOGÍA BENIGNA. ....	229
TABLA 88 TABLA RESUMEN DE LA SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD, VPP, VPN, Y PRECISIÓN DIAGNÓSTICA DE LOS MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS APLICADOS DE FORMA INDIVIDUAL EN EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL ENTRE CPT Y TEJIDO TIROIDEO NORMAL. ....	230

TABLA 89. PERFIL INMUNOHISTOQUÍMICO EN LAS LESIONES FOLICULARES.....	232
TABLA 90 EXPRESIÓN DE LOS DIFERENTES MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS EN RELACIÓN CON LAS LESIONES FOLICULARES INCLUIDAS EN EL ESTUDIO. ....	233
TABLA 91 TABLA RESUMEN DE LA SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD, VPP, VPN, Y PRECISIÓN DIAGNÓSTICA DE LOS MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS APLICADOS DE FORMA INDIVIDUAL EN EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL ENTRE CFT Y TEJIDO TIROIDEO NORMAL.....	234
TABLA 92 TABLA RESUMEN DE LA SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD, VPP, VPN, Y PRECISIÓN DIAGNÓSTICA DE LOS MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS APLICADOS DE FORMA INDIVIDUAL EN EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL ENTRE CFT Y TEJIDO TIROIDEO NORMAL.....	235
TABLA 93. MODELO DE REGRESIÓN LOGÍSTICA MULTINOMIAL PARA LA TPO.....	236
TABLA 94. MODELO DE REGRESIÓN LOGÍSTICA MULTINOMIAL PARA LA GALECTINA-3.....	236
TABLA 95. MODELO DE REGRESIÓN LOGÍSTICA MULTINOMIAL PARA LA E-CADHERINA.....	237
TABLA 96. MODELO DE REGRESIÓN LOGÍSTICA MULTINOMIAL PARA LA PARP.....	237
TABLA 97. MODELO DE REGRESIÓN LOGÍSTICA MULTINOMIAL PARA LA P63.....	237
TABLA 98. MODELO DE REGRESIÓN LOGÍSTICA MULTINOMIAL PARA LA CITOQUERATINA 19.....	238
TABLA 99. MODELO DE REGRESIÓN LOGÍSTICA MULTINOMIAL PARA EL KI-67.....	238
TABLA 100. MODELO DE REGRESIÓN LOGÍSTICA MULTINOMIAL PARA EL HBME-1.....	238
TABLA 101. MODELO DE REGRESIÓN LOGÍSTICA MULTINOMIAL PARA EL QUERATÁN SULFATO.....	239
TABLA 102. MODELO DE REGRESIÓN LOGÍSTICA MULTINOMIAL PARA EL CITED-1.....	239
TABLA 103. VALORACIÓN DE LA P53 EN LA PATOLOGÍA TIROIDEA.....	259
FIGURA 1 TISSUE ARRAYER 2.....	1
FIGURA 2 BLOQUES TMA CONSTRUIDOS PARA LA ELABORACIÓN DE ESTE TRABAJO.....	123
FIGURA 3 LÁMINAS PROCEDENTES DE LOS TMA CONSTRUIDOS EN ESTE TRABAJO.....	127
FIGURA 4 EXPRESIÓN DEL IMP-3.....	156
FIGURA 5 EXPRESIÓN DEL CITED-1.....	159
FIGURA 6 EXPRESIÓN DE LA CICLINA D1.....	162
FIGURA 7 EXPRESIÓN DE LA CICLINA E.....	165
FIGURA 8 EXPRESIÓN DE LA P27.....	168
FIGURA 9 EXPRESIÓN DE LA P53.....	171
FIGURA 10 EXPRESIÓN DE LA P63.....	174
FIGURA 11 EXPRESIÓN DE LA PARP-1.....	177
FIGURA 12 EXPRESIÓN DE LA PARP-1 CITOPLASMÁTICA.....	180
FIGURA 13 EXPRESIÓN DE LA TPO 47.....	183
FIGURA 14 EXPRESIÓN DE LA COX-2.....	187
FIGURA 15 EXPRESIÓN DE LA GALECTINA-3.....	190
FIGURA 16 EXPRESIÓN DE CD44s.....	193
FIGURA 17 EXPRESIÓN DE CD44v6.....	196
FIGURA 18 EXPRESIÓN DE CD57.....	199
FIGURA 19 EXPRESIÓN DE LA E-CADHERINA.....	202
FIGURA 20 EXPRESIÓN DE LA E-CADHERINA.....	206
FIGURA 21 EXPRESIÓN DEL HBME-1.....	209
FIGURA 22 EXPRESIÓN DEL QUERATÁN SULFATO (KS).....	212
FIGURA 23 EXPRESIÓN DE LA CITOQUERATINA 19.....	215
FIGURA 24 EXPRESIÓN DEL KI67.....	218



<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>3</b>
<b>1.1 EPIDEMIOLOGÍA</b>	<b>3</b>
<b>1.2 MANEJO DEL NÓDULO TIROIDEO</b>	<b>5</b>
<b>1.3 ETIOLOGÍA Y PATOGÉNESIS DEL CÁNCER DE TIROIDES</b>	<b>9</b>
1.3.1 FACTORES AMBIENTALES	9
1.3.2 GENÉTICA, EPIGENÉTICA Y GENÓMICA GENERAL DEL CÁNCER DE TIROIDES	11
1.3.3 FACTORES REGULADORES DEL CRECIMIENTO	14
1.3.3.1 FACTORES PROMOTORES DEL CRECIMIENTO Y PROGRESIÓN TUMORAL	14
1.3.3.1.1 TSH-R	14
1.3.3.1.2 GSP	15
1.3.3.1.3 EGF	15
1.3.3.1.4 IGF-1	15
1.3.3.1.5 VEGF	15
1.3.3.1.6 DAP-4	18
1.3.3.1.7 HMGI-1	18
1.3.3.1.8 CERULOPASMINA Y LACTOFERRINA	19
1.3.3.2 FACTORES INHIBIDORES DE LA PROLIFERACIÓN TUMORAL	19
1.3.3.2.1 REGULADORES DEL CICLO CÉLULAR	19
1.3.3.3 OTROS FACTORES	20
1.3.3.3.1 FACTORES DE DIFERENCIACIÓN Y ADHESIÓN CÉLULAR	20
1.3.3.3.2 FACTORES QUE AFECTAN A LA INMORTALIZACIÓN Y A LA APOPTOSIS	21
<b>1.4 CLASIFICACIÓN</b>	<b>24</b>
<b>1.4.1 CARCINOMA PAPILAR</b>	<b>24</b>
1.4.1.1 EPIDEMIOLOGÍA	24
1.4.1.2 ETIOLOGÍA	25
1.4.1.3 HALLAZGOS CLÍNICOS	25
1.4.1.3.1 DIAGNÓSTICO	26
1.4.1.4 HALLAZGOS MACROSCÓPICOS	26
1.4.1.5 HALLAZGOS MICROSCÓPICOS	27
1.4.1.6 IMMUNOHISTOQUÍMICA	28
<b>1.4.1.7 VARIANTES HISTOLÓGICAS DEL CARCINOMA PAPILAR DE TIROIDES</b>	<b>29</b>
1.4.1.7.1 VARIANTE FOLICULAR	29
1.4.1.7.2 VARIANTE MACROFOLICULAR	30
1.4.1.7.3 VARIANTE ONCOCÍTICA	30
1.4.1.7.4 VARIANTE DE CÉLULA CLARA	30
1.4.1.7.5 VARIANTE ESCLEROSANTE DIFUSA	31
1.4.1.7.6 VARIANTE CÉLULAS ALTAS	31
1.4.1.7.7 VARIANTE COLUMNAR	32
1.4.1.7.8 VARIANTE SÓLIDA	32
1.4.1.7.9 VARIANTE CRIBIFORME	33
1.4.1.7.10 VARIANTE DE CARCINOMA PAPILAR CON ESTROMA TIPO FASCITIS	33
1.4.1.7.11 VARIANTE DE CARCINOMA PAPILAR CON COMPONENTE INSULAR FOCAL	33
1.4.1.7.12 VARIANTE DE CARCINOMA PAPILAR CON COMPONENTE ESCAMOSO O MUCOEPIDERMÓIDE	34

1.4.1.7.13 VARIANTE DE CARCINOMA PAPILAR ASOCIADO CARCINOMA FUSIFORME O DE CÉLULAS GIGANTES	34
1.4.1.7.14 CARCINOMA PAPILAR-MEDULAR COMBINADO	34
1.4.1.7.15 MICROCARCINOMA PAPILAR	34
1.4.1.7.16 OTRAS VARIANTES DEL CPT NO INCLUIDAS EN LA ACTUAL CLASIFICACIÓN DE LA OMS (2004)	36
<b>1.4.1.8 ALTERACIONES GENÉTICAS DEL CARCINOMA PAPILAR</b>	<b>36</b>
1.4.1.8.1 ALTERACIONES EN RECEPTORES CON ACTIVIDAD TIROSININASA	37
1.4.1.8.2 REAGRUPAMIENTO <i>RET/PTC</i>	38
1.4.1.8.3 REAGRUPAMIENTOS <i>TRK</i>	41
1.4.1.8.4 OTROS RECEPTORES TIROSININASA <i>TRK</i>	41
1.4.1.8.5 MUTACIÓN <i>RAS</i>	41
1.4.1.8.6 MUTACIÓN <i>BRAF</i>	44
1.4.1.8.7 $\beta$ -CATENINA	47
<b>1.4.1.9 PRONÓSTICO</b>	<b>49</b>
<b>1.4.2 CARCINOMA FOLICULAR</b>	<b>49</b>
1.4.2.1 EPIDEMIOLOGÍA	49
1.4.2.2 ETIOLOGIA	50
1.4.2.3 HALLAZGOS CLÍNICOS	50
1.4.2.3.1 DIAGNÓSTICO	51
1.4.2.4 HALLAZGOS MACROSCÓPICOS	51
1.4.2.5 HALLAZGOS MICROSCÓPICOS	52
<b>1.4.2.6 VARIANTES HISTOLÓGICAS DEL CARCINOMA FOLICULAR DE TIROIDES</b>	<b>52</b>
1.4.2.6.1 VARIANTE ONCOCÍTICA	52
1.4.2.6.2 VARIANTE DE CÉLULAS CLARAS	53
1.4.2.6.3 OTRAS VARIANTES DEL CFT NO INCLUIDAS EN LA ACTUAL CLASIFICACIÓN DE LA OMS (2004)	54
<b>1.4.2.7 ALTERACIONES GENÉTICAS DEL CARCINOMA FOLICULAR DE TIROIDES</b>	<b>54</b>
1.4.2.7.1 DESEQUILIBRIO CROMOSÓMICO	54
1.4.2.7.2 VÍA FOSFATIDILINOSITOL 3-KINASA (PI3K)/AKT	55
1.4.2.7.3 REORDENAMIENTOS DE <i>PPAR GAMMA</i>	55
1.4.2.7.4 MUTACIONES DE <i>RAS</i>	57
1.4.2.7.5 <i>TP53</i> Y <i>PTEN</i>	57
<b>1.4.2.8 PRONÓSTICO</b>	<b>57</b>
<b>1.4.3 CARCINOMA POBREMENTE DIFERENCIADO</b>	<b>58</b>
<b>1.4.4 CARCINOMA INDIFERENCIADO (ANAPLÁSICO)</b>	<b>59</b>
<b>1.4.5 CARCINOMA ESCAMOSO</b>	<b>60</b>
<b>1.4.6 CARCINOMA MUCOEPIDERMÓIDE</b>	<b>61</b>
<b>1.4.7 CARCINOMA MUCOEPIDERMÓIDE ESCLEROSANTE CON EOSINOFILIA</b>	<b>62</b>
<b>1.4.8 CARCINOMA MUCINOSO</b>	<b>62</b>
<b>1.4.9 CARCINOMA MEDULAR</b>	<b>62</b>
1.4.9.1 EPIDEMIOLOGÍA	62
1.4.9.2 ETIOLOGIA	63
1.4.9.3 HALLAZGOS CLÍNICOS	63
1.4.9.3.1 DIAGNÓSTICO	64
1.4.9.4 HALLAZGOS MACROSCÓPICOS	64
1.4.9.5 HALLAZGOS MICROSCÓPICOS	64
1.4.9.6 ALTERACIONES GENÉTICAS DEL CARCINOMA MEDULAR	65
1.4.9.7 PRONÓSTICO	66
<b>1.4.10 CARCINOMA MIXTO MEDULAR Y FOLICULAR</b>	<b>66</b>
<b>1.4.11 TUMOR FUSOCÉLULAR CON DIFERENCIACIÓN TÍMICA (SETTLE)</b>	<b>67</b>

<b>1.4.12 CARCINOMA MOSTRANDO DIFERENCIACIÓN TÍMICA (CASTLE)</b>	<b>67</b>
<b>1.4.13 OTRAS VARIANTES NO RECOGIDAS EN LA ACTUAL CLASIFICACIÓN DE LA OMS</b>	<b>67</b>
<b>1.5 MARCADORES MOLECULARES CON APLICACIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA EN EL CARCINOMA DIFERENCIADO DE TIROIDES.</b>	<b>70</b>
<b>1.5.1 PROTEÍNAS CODIFICADAS POR ONCOGÉNES</b>	<b>72</b>
1.5.1.1 RECEPTORES DE FACTORES DE CRECIMIENTO	72
1.5.1.1.1 PROTEÍNA RET	72
1.5.1.1.2 PROTEÍNA MET	72
1.5.1.2 PROTEÍNAS IMPLICADAS EN LA TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES	74
1.5.1.2.1 PROTEÍNA RAS	74
1.5.1.3 PROTEÍNAS ACTIVADORAS Y COACTIVADORAS TRANSCRIPCIONALES	75
1.5.1.3.1 C-FOS	75
1.5.1.3.2 IMP-3 (INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR MRNA-BINDING PROTEIN 3)	76
1.5.1.3.3 CITED-1	76
1.5.1.4 PROTEÍNAS REGULADORAS DEL CICLO CÉLULAR	78
1.5.1.4.1 CICLINA D1	79
1.5.1.4.2 CICLINA D2	80
1.5.1.4.3 CICLINA E	80
1.5.1.4.4 P27	81
<b>1.5.2 PROTEÍNAS SUPRESORAS O DE COMPORTAMIENTO SUPRESOR</b>	<b>83</b>
1.5.2.1 PROTEÍNA DEL GEN DEL RETINOBLASTOMA	83
1.5.2.2 P53	85
1.5.2.3 P63	87
<b>1.5.3 PROTEÍNAS REPARADORAS DEL ADN</b>	<b>89</b>
1.5.3.1 PARP-1 (POLI (ADP-RIBOSA) POLIMERASA 1)	89
1.5.3.2 PTTG-1	92
<b>1.5.4 PROTEÍNAS REGULADORAS DE LA APOPTOSIS</b>	<b>93</b>
1.5.4.1 CASPASAS	93
<b>1.5.6 PROTEÍNAS REGULADORAS DE LA LONGITUD DE LOS TELÓMEROS</b>	<b>95</b>
1.5.6.1 TELOMERASA	95
<b>1.5.7 ENZIMAS</b>	<b>97</b>
1.5.7.1 TIROPEROXIDASA (TPO 47)	97
1.5.7.2 CICLOOXIGENASA (COX)	97
<b>1.5.8 PROTEÍNAS RELACIONADAS CON LA ADHESIVIDAD CÉLULAR</b>	<b>100</b>
1.5.8.1 GALECTINA-3	100
1.5.8.2 CD44	101
1.5.8.3 CD57	102
1.5.8.4 E-CADHERINA	103
1.5.8.5 P-CADHERINA	103
1.5.8.6 B-CATENINA	104
<b>1.5.8 PROTEÍNAS DE SUPERFICIE CÉLULAR</b>	<b>105</b>
1.5.8.1 AG HBME-1	105
1.5.8.2 QUERATÁN SULFATO	105
<b>1.5.9 PROTEÍNAS DEL CITOESQUELETO</b>	<b>107</b>
1.5.9.1 CITOQUERATINA 19	107
<b>1.5.11 MARCADORES DE PROLIFERACIÓN</b>	<b>108</b>
1.5.11.1 Ki67	108
<b>1.5.12 MATRIZ EXTRACÉLULAR</b>	<b>109</b>

1.5.12.1 FIBRONECTINA	109
<b>2. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS CIENTÍFICOS</b>	<b>113</b>
<b>OBJETIVOS CIENTIFICOS</b>	<b>114</b>
<b>3. ENFERMOS, MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>117</b>
<b>3.1 ENFERMOS Y MATERIAL</b>	<b>117</b>
<b>3.2 MÉTODOS</b>	<b>119</b>
3.2.1 SELECCIÓN DEL TEJIDO PARA LA REALIZACIÓN DE LAS MICROMATRICES	119
3.2.2 ELABORACIÓN DE LAS MICROMATRICES DE TEJIDO	119
3.2.3 INMUNOHISTOQUÍMICA	124
3.2.4 VALORACIÓN DEL PATRÓN DE TINCIÓN	126
3.2.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	128
<b>4. RESULTADOS</b>	<b>135</b>
<b>4.1 GENERALIDADES</b>	<b>135</b>
<b>4.2 HALLAZGOS CLINICOPATOLÓGICOS. FRECUENCIAS.</b>	<b>135</b>
4.2.1 EDAD	135
<b>4.3 HALLAZGOS INMUNOHISTOQUÍMICOS. FRECUENCIAS. ANALISIS DESCRIPTIVO.</b>	<b>155</b>
4.3.1 PROTEÍNAS CODIFICADORAS POR ONCOGÉNES	156
4.3.1.1 PROTEÍNAS ACTIVADORAS Y COACTIVADORAS TRANSCRIPCIONALES	156
4.3.1.1.1 IMP-3	156
4.3.1.1.2 CITED-1	159
4.3.1.2 PROTEÍNAS REGULADORAS DEL CICLO CÉLULAR	162
4.3.1.2.1 CICLINA D1	162
4.3.1.2.2 CICLINA E	165
4.3.1.2.3 P27	168
4.3.2 PROTEÍNAS SUPRESORAS O DE COMPORTAMIENTO SUPRESOR	171
4.3.2.1 P53	171
4.3.2.2 P63	174
4.3.3. PROTEÍNAS REPARADORAS DEL ADN	177
4.3.3.1 PARP-1	177
4.3.3.2. PARP-1 CITOPLASMÁTICA	179
4.3.4. MOLÉCULAS RELACIONADAS CON EL METABOLISMO, ADHESIVIDAD Y PROLIFERACIÓN CÉLULAR.	183
4.3.4.1 ENZIMAS	183
4.3.4.1.1. TIROPEROXIDASA (TPO 47)	183
4.3.4.1.2. CICLOOXIGENASA (COX-2)	187
4.3.4.2 MOLÉCULAS RELACIONADAS CON LA ADHESIVIDAD CÉLULAR	190
4.3.4.2.1 GALECTINA-3	190
4.3.4.2.2 CD44s	193
4.3.4.2.3 CD44v6	196
4.3.4.2.4 CD57	199
4.3.4.2.5 E-CADHERINA	202



4.3.4.2.6 B-CATENINA (EXPRESIÓN NUCLEAR Y CITOPLASMÁTICA)	205
4.3.4.2.7 B-CATENINA (EXPRESIÓN MEMBRANOSA)	205
4.3.4.3 PROTEÍNAS DE SUPERFICIE CÉLULAR	209
4.3.4.3.1 HBME-1	209
4.3.7.2 QUERATÁN SULFATO	212
4.3.4.4 CITOESQUELETO	215
4.3.5.1 CITOQUERATINA 19	215
4.3.4.5 MARCADORES DE PROLIFERACIÓN	218
4.3.4.5.1 KI67	218
4.4 HALLAZGOS POR GRUPOS DE PATOLOGÍA.	223
4.4.1 LESIONES PAPILARES	223
4.4.2 LESIONES FOLICULARES	232
4.4 ANALISIS LOGÍSTICO MULTINOMIAL.	236
4.5 ANALISIS MULTIVARIANTE.	240

## **5. DISCUSIÓN** **247**

---

<b>5.1 GENERALIDADES</b>	<b>247</b>
<b>5.2 HALLAZGOS CLÍNICO-PATOLÓGICOS</b>	<b>251</b>
5.2.1 EDAD Y SEXO	251
5.2.2 TIPOS HISTOLÓGICOS	252
<b>5.3 RESULTADOS INMUNOHISTOQUÍMICOS</b>	<b>253</b>
5.3.1 PROTEÍNAS CODIFICADORAS POR ONCOGÉNES	253
5.3.1.1.1 HALLAZGOS INMUNOHISTOQUÍMICOS DEL IMP-3	253
5.3.1.1.2 HALLAZGOS INMUNOHISTOQUÍMICOS DE CITED-1	254
5.3.1.2 PROTEÍNAS REGULADORAS DEL CICLO CÉLULAR	255
5.3.1.2.1 HALLAZGOS INMUNOHISTOQUÍMICOS DE LA CICLINA D1	255
5.3.1.2.2 HALLAZGOS INMUNOHISTOQUÍMICOS DE LA CICLINA E	256
5.3.1.2.3 HALLAZGOS INMUNOHISTOQUÍMICOS DE LA P27	257
5.3.2 PROTEÍNAS SUPRESORAS O DE COMPORTAMIENTO SUPRESOR	258
5.3.2.1 HALLAZGOS INMUNOHISTOQUÍMICOS DE LA P53	258
5.3.2.2 HALLAZGOS INMUNOHISTOQUÍMICOS DE LA P63	260
5.3.3 PROTEÍNAS REPARADORAS DEL ADN	262
5.3.3.1 HALLAZGOS INMUNOHISTOQUÍMICOS DE LA PARP-1	262
5.3.4. MOLÉCULAS RELACIONADAS CON EL METABOLISMO, ADHESIVIDAD Y PROLIFERACIÓN CÉLULAR.	262
5.3.4.1 ENZIMAS	262
5.3.4.1.1 HALLAZGOS INMUNOHISTOQUÍMICOS DE LA TPO	262
5.3.4.1.2 HALLAZGOS INMUNOHISTOQUÍMICOS DE LA COX-2	264
5.3.4.2 MOLÉCULAS RELACIONADAS CON LA ADHESIVIDAD CÉLULAR	265
5.3.4.2.1 HALLAZGOS INMUNOHISTOQUÍMICOS DE LA GALECTINA-3	265
5.3.4.2.2 HALLAZGOS INMUNOHISTOQUÍMICOS DEL CD44S	267
5.3.4.2.3 HALLAZGOS INMUNOHISTOQUÍMICOS DEL CD44V6	268
5.3.4.2.4 HALLAZGOS INMUNOHISTOQUÍMICOS DEL CD57	269
5.3.4.2.5 HALLAZGOS INMUNOHISTOQUÍMICOS DE LA E-CADHERINA	270
5.3.4.2.6 HALLAZGOS INMUNOHISTOQUÍMICOS DE LA B-CATENINA	271
5.3.4.3 PROTEÍNAS DE SUPERFICIE CÉLULAR	272
5.3.4.3.1 HALLAZGOS INMUNOHISTOQUÍMICOS DEL HBME-1	272

## Índice

5.3.4.3.2 HALLAZGOS INMUNOHISTOQUÍMICOS DEL QUERATÁN SULFATO	273
5.3.4.4 CITOESQUELETO	274
5.3.4.4.1 HALLAZGOS INMUNOHISTOQUÍMICOS DE LA CITOQUERATINA 19	274
5.3.4.5 MARCADORES DE PROLIFERACIÓN	275
5.3.4.5.1 HALLAZGOS INMUNOHISTOQUÍMICOS DEL KI67	275
5.3.5 ANALISIS LOGÍSTICO BINOMIAL Y ANALISIS MULTIVARIANTE	276
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>281</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>287</b>
<b>ANEXO 1. CLASIFICACIÓN HISTOLÓGICA DE LOS TUMORES MALIGNOS TIROIDEOS (OMS 2004).</b>	<b>287</b>
<b>ANEXO 2. CLASIFICACIÓN TNM 7ª EDICIÓN (2010).</b>	<b>288</b>
<b>ANEXO 3. ESTADIAJE TNM 7ª EDICIÓN (2010).</b>	<b>289</b>
<b>ANEXO 4. RELACIÓN DE MUESTRAS</b>	<b>290</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>300</b>

# Introducción

Introducción.

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 Epidemiología

El carcinoma tiroideo es la neoplasia endocrina más frecuente afectando al 1,8 por 100.000 personas a nivel mundial (Sipos *et al.*, 2010), a pesar de lo cual constituye aproximadamente el 1% de todos los tumores en los países desarrollados (DeLellis *et al.*, 2004), con una incidencia del 1,05% en la provincia de Granada (Registro del cáncer de Granada, 2011), experimentando un aumento de su incidencia desde la década de los setenta con un incremento de más del 5% entre 1975 al 2002 (Giusti *et al.*, 2010), y en la actualidad afecta a más de 10.000 hombres y a más de 27.000 mujeres en los EEUU (Davis *et al.*, 2006; Horner *et al.*, 2009), en consonancia con lo observado a nivel mundial (Kilfoy *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2011) y nacional, con un incremento del porcentaje anual de cambio para ambos sexos del 3,05% ( $p=0,008$ ) en España (Bernal *et al.*, 2009). En el periodo 2002-2006, la incidencia media anual de cáncer de tiroides en Granada presentó unas tasas brutas de 2,4 y 7,9 por 100.000 hombres y mujeres, respectivamente (Registro del cáncer de Granada, 2011) (Tabla 1). Este incremento se ha acompañado de una disminución drástica en el índice de mortalidad, que oscila entre el 0,4 al 2,8 por 100.000 en mujeres y del 0,2 al 1,2 por 100.000 en hombres (Giusti *et al.*, 2010), si bien se ha observado en el intervalo comprendido desde 1992 al 2002 en los EEUU un aumento de la mortalidad en hombres, con un porcentaje anual de cambio del 2,4% ( $p<0,05$ ), suponiendo el mayor incremento para cualquier tipo de tumor en los EEUU; hallazgos que por el contrario no se han observado en Europa en el estudio EURO CARE-3 (Sipos *et al.*, 2010).

	<b>Total localizaciones</b>	<b>T. estandarizada (pob. Eur.)</b>	<b>Tumores tiroideos</b>	<b>Tasa bruta</b>
<b>Hombres</b>	12078	580,2	49	<b>2,3</b>
<b>Mujeres</b>	8679	401,3	170	<b>7,7</b>
<b>Casos totales</b>	<b>20757</b>		<b>219</b>	

Tabla 1 Fuente: Registro de cáncer de Granada, periodo 2002-2006 (2011).

El incremento del número de cánceres de tiroides diagnosticados ha suscitado diversas interpretaciones, las cuales justifican su aumento debido, probablemente, al

## Introducción.

incremento en el hallazgo de lesiones pequeñas por la universalización de pruebas ecográficas ya por motivos endocrinológicos u otros (Davis *et al.*, 2006; Tan *et al.*, 1997), así como a la mayor exposición a radiaciones ambientales y a tóxicos carcinogénicos (difenil éter policromado) (Bernal *et al.*, 2009; Hughes *et al.*, 2011; Sipos *et al.*, 2010). Este aumento en el diagnóstico temprano del cáncer tiroideo, que en muchas ocasiones es asintomático, favorece la aplicación de un mejor tratamiento (Bernal *et al.*, 2006). A diferencia de las lesiones tiroideas benignas, los cánceres de tiroides son relativamente poco frecuentes aunque constituyen la lesión neoplásica más prevalente dentro de la patología endocrina.

El carcinoma de tiroides afecta principalmente a pacientes jóvenes y adultos de mediana edad (40-50 años), es más infrecuente en niños en los que muestra un curso más agresivo con mayor probabilidad de multicentricidad, afectación de ganglios cervicales así como mayor probabilidad de metástasis y recurrencias cuanto menor sea la edad (Cortázar *et al.*, 2008). Presenta una mayor incidencia en mujeres con respecto a los hombres, en las que es de 2 a 4 veces más frecuente (Horner *et al.*, 2009) con una razón de 1:3,3 en España para el periodo 2003-07 (Cabanes *et al.*, 2010), al igual que en la provincia de Granada (Registro del cáncer de Granada 2011), aunque la diferencia por sexos es mucho menor en la infancia y en la edad avanzada (1,5:1) (Giusti *et al.*, 2010). Este hecho sugiere que puede haber algún gen, relacionado con receptores para las hormonas sexuales, que esté implicado en la génesis del cáncer tiroideo (Rahbari *et al.*, 2010).

Desde el punto de vista étnico se ha comprobado una variabilidad entre diferentes áreas geográficas y grupos poblacionales con una mayor incidencia en países como Islandia, Filipinas, Japón e Israel. En los EEUU los tumores de origen tiroideo afectan de forma predominante a descendientes de origen caucásico en relación con afroamericanos, hispanos, chinos o japoneses, en los que la incidencia de cáncer es todavía dos veces superior a sus lugares de procedencia (Giusti *et al.*, 2010).

La mayoría de los casos registrados de CPT en los EEUU en la última década ha sido en población mayor de 45 años con las consiguientes implicaciones pronósticas y terapéuticas. Cerca de un 25% de todos los CPT registrados en este lapso corresponden a microcarcinomas papilares de tiroides en pacientes mayores de 45 años (Hughes *et al.*, 2011).

La mortalidad de los cánceres de tiroides en España representan el 0,15% en hombres y el 0,5% en mujeres con respecto al total de muertes por cáncer en el periodo comprendido entre los años 2003 al 2007 (Cabanes *et al.*, 2010). Con una disminución de la razón de mortalidad de más del 2% anual desde el año 1995 para el caso de las mujeres, en consonancia con la tendencia descendente en el resto de tumores en la población femenina (Ruiz-Ramos *et al.*, 2007).

## 1.2 Manejo del nódulo tiroideo

Los nódulos tiroideos representan un hallazgo frecuente dentro de la actividad clínica diaria, los cuales son el resultado tanto de lesiones benignas, en la mayoría de los casos, tales como bocio multinodular, lesiones quísticas o hemorrágicas, tiroiditis y adenomas. Por el contrario, las lesiones malignas representan entorno al 5% de los mismos, estando constituidas por neoplasias epiteliales primarias y menos frecuentemente por metástasis o linfomas (Calatayud-Gutiérrez *et al.*, 2008).

Como se ha comentado anteriormente, en las últimas décadas ha variado la forma de presentación del carcinoma diferenciado de tiroides, que ha ido cambiando de estadios avanzados a descubrimientos de lesiones más pequeñas, muchas de ellas hallazgos fortuitos, que precisan un tratamiento y seguimiento menos agresivo. Ante este nuevo panorama y teniendo en cuenta la relativa frecuencia de nódulos palpables en la población adulta (oscilando de un 7 al 10%) (Cortázar *et al.*, 2008) así como por la necesidad de unificar los criterios, tanto en el modo de diagnóstico como en el tratamiento y posterior seguimiento de estas neoplasias, han surgido en la última década varias propuestas con recomendaciones y directrices generales para el manejo del nódulo tiroideo. Especialmente importante, por su repercusión internacional son las elaboradas por las asociaciones para el estudio del tiroides tanto europea (European Thyroid Association (ETA) (Pacini *et al.*, 2006) como americana (American Thyroid Association (ATA) (Cooper *et al.*, 2006; Cooper *et al.*, 2009).

Según la American Thyroid Association (ATA) (Cooper *et al.*, 2006) se recomienda la realización de una ecografía a todos los pacientes sospechosos de presentar nódulos tiroideos, siendo la PAAF la técnica a aplicar para su valoración. La PAAF es actualmente el método de elección para el estudio inicial en pacientes con nódulos tiroideos (Carrera *et al.*, 2005; Gharib, 1994; Nikiforov *et al.*, 2009). Tanto la sensibilidad como la especificidad

## Introducción.

pueden variar en función del observador, aumentando si se asocia con estudios de imagen (ecografía) en el momento de la punción y, en este caso, sus valores pueden incrementarse del 65 al 95% y del 72 al 100% respectivamente (Cortázar *et al.*, 2008).

La valoración citológica del material obtenido a partir de la PAAF tiene un papel esencial en la evaluación del paciente eutiroideo con nódulo tiroideo. Dicha técnica ha aumentado el número de tiroidectomías en pacientes con nódulos con lesión maligna pasando del 14% a más del 50% (Cibas *et al.*, 2009).

En octubre de 2007 se adoptó por parte de un grupo de expertos una nueva clasificación para la interpretación de las citologías tiroideas, asociándolas a un porcentaje de riesgo de malignidad y a recomendaciones terapéuticas.

Este grupo de expertos, dirigidos por Z. Baloch, y reunidos en Bethesda estableció seis categorías (Tabla 2) dentro del "The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology" con la finalidad de homogeneizar la clasificación y diagnóstico citológico intra e interobservador, inspirados por la clasificación de Bethesda para la citología cervico-vaginal (Baloch *et al.*, 2008<sup>D</sup>).

Categoría diagnóstica	Riesgo de malignidad (%)	Manejo clínico recomendado
No diagnóstica o insatisfactoria	1-4	Repetir nueva PAAF con control ecográfico.
Benigno	0-3	Seguimiento clínico.
Atipia de significado indeterminado o lesión folicular de significado indeterminado	5-15	Repetir nueva PAAF.
Neoplasia folicular o sospechoso para neoplasia folicular	15-30	Lobectomía.
Sospechoso para malignidad	60-75	Lobectomía o tiroidectomía casi total.
Maligno	97-99	Tiroidectomía casi total.

Tabla 2. Sistema Bethesda 2007. Tomado de Baloch ZW. 2008<sup>D</sup>

Recientemente se ha evaluado el impacto del uso de esta clasificación en la rutina diagnóstica, obteniéndose una disminución de las tiroidectomías no terapéuticas en el manejo del nódulo tiroideo (Rabaglia *et al.*, 2010).



La realización de ecografía y posterior PAAF muestra una mayor sensibilidad en la detección de recurrencias tumorales que la PET, la gammagrafía de cuerpo completo y las mediciones de tiroglobulina (Cortázar *et al.*, 2008).

Por tanto, ha quedado establecido como un procedimiento consensuado por los diferentes grupos de expertos (Cooper *et al.*, 2006; Pacini *et al.*, 2006) que aquellos nódulos mayores o iguales de un centímetro de diámetro máximo deben ser estudiados por PAAF, a excepción de los nódulos hiperfuncionantes con disminución de la TSH; debe considerarse, no obstante, que la hiperfuncionalidad no descarta por completo la posibilidad de un proceso maligno, aunque su frecuencia sea baja, por lo que incluso en este supuesto debería realizarse igualmente una PAAF (Galofré *et al.*, 2010).

Para aquellos nódulos inferiores a 1 cm sólo se recomienda la PAAF si se asocian a antecedentes personales o familiares hallazgos ecográficos sospechosos (tales como hipoeogenicidad, microcalcificaciones, ausencia de halo periférico, bordes irregulares, hipervascularización intranodular, linfadenopatía regional asociada, altura mayor que anchura y crecimiento documentado) (Calatayud-Gutiérrez *et al.*, 2008; Cappelli *et al.*, 2007). Entrarían en el grupo de alta sospecha de patología tiroidea maligna aquellos individuos con:

- Historia familiar de carcinoma medular de tiroides o neoplasia endocrina múltiple.
- Rápido crecimiento del nódulo, especialmente durante la terapia de levotiroxina.
- Nódulos de consistencia muy aumentada o pétreo.
- Fijación a planos profundos.
- Parálisis de cuerdas vocales.
- Adenopatías regionales.
- Metástasis a distancia.

Asimismo, se encuadraría dentro del grupo de moderada sospecha a aquellos pacientes con:

- Edad inferior a 20 o superior a 70 años.
- Sexo masculino.
- Historia de radiación previa en cuello y cabeza.
- Nódulo de más de 4 cm de diámetro o parcialmente quístico.

## Introducción.

- Síntomas de compresión, incluida la disfagia, disfonía, ronquera, disnea o tos (Hegedüs, 2004).

En su revisión de 2009 la ATA recomienda la tiroidectomía para aquellas lesiones con diagnóstico citológico por PAAF claramente positivo para células malignas y para lesiones de gran tamaño (mayores a 4cm) con hallazgos sospechosos o con antecedentes de exposición a radiaciones ionizantes, reservando el tratamiento con  $^{131}\text{I}$  posterior a los pacientes con metástasis, afectación ganglionar o variantes histológicas de pronóstico adverso (Cooper *et al.*, 2009; Herránz González-Botas *et al.*, 2011; Wartofsky, 2009).

Existen diferentes clasificaciones para valorar, a partir de datos clínicos (edad y sexo) e histológicos (tamaño tumoral, volumen, tipo de invasión, afectación ganglionar o extratiroidea), el pronóstico del cáncer tiroideo tales como TNM, AGES, AMES y MACIS, sin que ninguno de ellos pueda proporcionar un pronóstico exacto para cada caso, aunque sí de forma global. La clasificación TNM (Anexo 2) es la más seguida por dar una información precisa y por su aplicación en todo tipo de tumores (Lin *et al.*, 2007).

## 1.3 Etiología y patogénesis del cáncer de tiroides

### 1.3.1 Factores ambientales

En el desarrollo del carcinoma tiroideo intervienen múltiples factores tanto ambientales, como genéticos y promotores del crecimiento celular, entre los que se encuentran diversas hormonas. Los factores ambientales se pueden clasificar como genotóxicos y no genotóxicos. Como el tiroides necesita obtener yodo del medio, es vulnerable al efecto genotóxico (con daño del DNA) del yodo radioactivo y al efecto no genotóxico (estímulo de TSH) que ocurre como consecuencia del déficit de yodo.

La radiación es un factor causal muy importante en la patología tiroidea, siendo la neoplasia sólida más frecuentemente relacionada a la exposición por radiación (Maenhaut *et al.*, 2011), su asociación está descrita desde hace ya muchas décadas tras los estudios observacionales en la población superviviente de las bombas atómicas (Parker *et al.*, 1974), así como en los pacientes que recibieron tratamiento con radioterapia durante la infancia. Dicha asociación tiene un mayor peso en poblaciones jóvenes, con un riesgo 7,7 veces superior de padecer cáncer de tiroides en niños expuestos a dosis de 1Gy, siendo la edad en el momento de la exposición el factor de riesgo modificable más importante (United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. 2000). Existe un incremento lineal dosis/riesgo desde 0,1 a 15 Gy, disminuyendo en dosis superiores en probable relación con la necrosis celular radioinducida (Giusti *et al.*, 2010). Se ha estimado que el riesgo de padecer cáncer tras una exposición radioactiva de 1 Gy aumenta hasta tres veces más en los individuos con una dieta pobre en yodo; disminuyendo con el aporte de suplementos de yodo potásico, incluso meses después de producirse la exposición (Cardis *et al.*, 2005). De las lesiones producidas por tal efecto, un tercio son malignas y, de ellas, el 90% son carcinomas papilares, principalmente variante sólida y folicular, sin diferencias sustanciales entre sexos (Leenhardt *et al.*, 2000). El desarrollo de carcinoma papilar puede ocurrir tanto tras radiación externa como interna; el efecto de esta última, por exposición a yodo radioactivo, ha quedado demostrado por el incremento tan notable de cáncer tiroideo en niños que ocurrió, principalmente en Bielorrusia, tras el desastre nuclear de Chernobyl en abril de 1986 (Williams, 2002), en el que la población se expuso principalmente a  $^{131}\text{I}$  y  $^{132}\text{I}$ . Los carcinomas papilares de tiroides originados a partir de una

## Introducción.

exposición por radiación ionizante no difieren morfológicamente de los de causa esporádica (LiVolsi, 2011), si bien muestran mayor tendencia a ser multifocales y bilaterales (Archille *et al.*, 2009). La razón por la que la radiación se asocia a carcinoma papilar probablemente estriba en que es capaz de producir roturas en la doble hélice del DNA y esto es un requisito necesario para que se produzcan reordenamientos de *RET* y *TRK*, que caracterizan a esta forma de carcinoma.

Se ha observado un cambio en las variantes diagnosticadas en la población expuesta tras el accidente nuclear de Chernobyl, constatándose una disminución de la variante sólida desde el 24% (casos diagnosticados en la primera década) al 6% (en la segunda década), así como un aumento de la variante folicular desde el 10% al 46%. Asimismo, se ha apreciado una disminución muy significativa de los casos diagnosticados con extensión extratiroidea y con metástasis linfáticas reduciéndose del 61 al 16% y del 64 al 28% respectivamente. Aunque esta variación puede estar motivada por el desarrollo de programas de detección precoz de cáncer de tiroides, el cambio del patrón morfológico observado no estaría justificado sólo por el desarrollo de programas de prevención y detección precoz, sugiriéndose que otros factores como el periodo de latencia desde la exposición a la aparición de la neoplasia estarían involucrados en este cambio (LiVolsi, 2011).

El carcinoma folicular tiene una estrecha relación con el déficit de yodo en la dieta y, probablemente, la razón de ello sea el efecto estimulador que tiene el nivel alto y mantenido de TSH que se produce en esta situación. Este hecho está avalado por la observación clínica en enfermos con carcinoma folicular, de antecedentes de bocio nodular, al que puede contribuir tanto el déficit de yodo como factores genéticos; de igual forma, en enfermos con dishormonogénesis, aunque es raro el desarrollo de carcinoma tiroideo, si se produce, suele ser de tipo folicular (Cooper *et al.*, 1981). Por otra parte, la frecuencia de carcinoma folicular es mayor en las zonas geográficas en las que hay un déficit de yodo y, por el contrario, en las áreas ricas en yodo la frecuencia relativa de carcinoma papilar es mayor. En las primeras sin embargo, después de la introducción de la profilaxis con sal yodada, la proporción de carcinomas papilares ha aumentado y ha disminuido la de los foliculares (Harach *et al.*, 2002).

### 1.3.2 Genética, epigenética y genómica general del cáncer de tiroides

Al igual que en otras neoplasias, en el desarrollo del cáncer tiroideo están implicados diferentes elementos que promueven mediante mecanismos de acción oncogénicos, paralelos o complementarios, el desarrollo y establecimiento de la neoplasia. Entre éstos se incluye la acción de hormonas, proteínas y eventos genéticos.

No cabe duda de que la influencia de la carga genética juega un papel importante en la génesis de cáncer de tiroides, identificándose numerosos loci con susceptibilidad genética en los últimos años (Tabla 3) (DeLellis *et al.*, 2004) (Kouniavsky *et al.*, 2010). La naturaleza familiar del mismo es muy bien conocida en el caso del carcinoma medular; una cuarta parte de los enfermos que lo padecen presentan un síndrome de Neoplasia Endocrina Múltiple tipo 2A, 2B o tipo carcinoma medular familiar. Casi todos estos casos tienen una mutación en el protooncogén *RET*. El factor familiar es también muy importante en el carcinoma papilar. La frecuencia del mismo es entre el 5 a 10 veces mayor en los descendientes de personas afectadas que en la población general (Kouniavsky *et al.*, 2010). Por otro lado se ha observado asociación entre carcinoma papilar, cáncer de mama y paraganglioma carotideo. Asimismo es posible la vinculación de carcinoma folicular en enfermos con síndrome de Cowden y la poliposis adenomatosa familiar, igualmente el síndrome de Gardner se asocian a una forma de cáncer tiroideo con histología bastante peculiar (patrón cribiforme). Se han descrito también formas familiares de tumores múltiples de células oxífilas debidas a un defecto genético en el cromosoma 19 (Kraimps *et al.*, 1999).

C. Hahn publicó un modelo experimental en el que recogía los mecanismos necesarios para el desarrollo del cáncer, los cuales pivotan sobre tres ejes tales como la acción de oncogénes, genes supresores tumorales y la telomerasa (Hanh *et al.*, 1999). Este modelo conceptual en la práctica es arbitrario, pues diferentes genes, como por ejemplo el *TP53*, pueden tener en función del tipo de mutación una acción contrapuesta (Segev *et al.*, 2003).

El modelo multietapa (o múltiples pasos) desarrollado en otros procesos oncológicos bien conocidos, como es el caso del cáncer de colon, es sin duda un mecanismo estimulante para aplicar en la oncogénesis tiroidea, donde se conoce la existencia de eventos iniciales tales como la activación de protooncogénes o de receptores

## Introducción.

de factores de crecimiento (entre los que se incluyen la *GSP*, *MET*, *NTRK*, *RAS*, *RET*, TSH-R) (Moretti *et al.*, 2000). Por otro lado, la alteración de genes supresores como la *TP53* o el *Rb*

Tipo tumoral	Prevalencia (%)
<b>Carcinoma papilar de tiroides</b>	
<i>BRAF</i>	45
<i>RET/PTC</i>	20
<i>RAS</i>	10
<i>TRK</i>	<5
<b>Carcinoma folicular de tiroides</b>	
<i>RAS</i>	45
<i>PAX8-PPAR<math>\gamma</math></i>	35
<i>PIK3CA</i>	<10
<i>PTEN</i>	<10
<b>Carcinoma pobremente diferenciado</b>	
<i>RAS</i>	35
$\beta$ -catenina ( <i>CTNNB1</i> )	20
<i>TP53</i>	20
<i>BRAF</i>	20
<i>AKT1</i>	15
<b>Carcinoma anaplásico de tiroides</b>	
<i>TP53</i>	70
$\beta$ -catenina ( <i>CTNNB1</i> )	60
<i>RAS</i>	50
<i>BRAF</i>	20
<i>PIK3CA</i>	20
<i>PTEN</i>	>10
<b>Carcinoma medular de tiroides</b>	
Mutación familiar <i>RET</i>	>95
Mutación esporádica <i>RET</i>	50

Tabla 3 Prevalencias de mutaciones genéticas. Tomado de Nikiforova *et al.*, 2009

estarían integrando la parte final del modelo multietapa al observarse en tumores pobremente diferenciados (Fagin *et al.*, 1993) (Segev *et al.*, 2003). Una característica adicional y única observada en los carcinoma tiroideos es la relativa frecuencia de reagrupamientos genéticos y translocaciones cromosómicas (*RET/PTC*, *NTRK*, *PAX8/PPAR $\gamma$* ) las cuales son raras en otras neoplasias epiteliales cuyo origen pueden estar propiciado por la especial susceptibilidad a las radiaciones ionizantes y a la arquitectura de la cromatina dentro del núcleo de las células foliculares tiroideas, así como a la resistencia a la apoptosis de las mismas (Nikoforov *et al.*, 2001).

A continuación se incluye un breve resumen de estas alteraciones en el cáncer de tiroides en general, aunque se comentarán de forma más detallada las alteraciones genéticas más relevantes en los apartados correspondientes de cada tipo de carcinoma.

En los últimos 30 años se ha incrementado de forma notable el conocimiento molecular del cáncer tiroideo identificándose numerosos genes implicados en el mismo tales como *MET*, *MYC*, *RAS*, *BRAF*, *RET*, *TRK* y *CNND1* que serán abordados más adelante.

Hay suficiente evidencia que indica que el carcinoma papilar requiere una activación constitutiva de la vía RTK/RAS//RAF/MAPK para la iniciación y progresión tumoral. De igual forma, hay cada vez más datos que indican que la vía PI3K/AKT es importante en la iniciación y progresión del carcinoma folicular. Es posible que algunos carcinomas foliculares puedan progresar de un adenoma, ya que en situaciones tales como la dishormonogénesis o el síndrome de Cowden el mismo defecto que conduce al desarrollo de múltiples adenomas lleva, en ocasiones, a que se produzca un carcinoma folicular (Harach, 2001).

La vía P53 parece estar implicada de forma exclusiva en la progresión tumoral de ambos fenotipos y la alteración de esta vía es característica del carcinoma anaplásico. (Riesco-Eizaguirre *et al.*, 2007). El tipo de mutación puede guardar relación con el fenotipo del tumor. Así la variante folicular de carcinoma papilar con frecuencia tiene mutaciones de *RAS*, la variante clásica y de células altas tienen en una proporción alta mutaciones de *BRAF*, y la variante sólida de carcinoma papilar de *RET/PTC3*. Los cambios genéticos, sin embargo, no están siempre restringidos a un fenotipo maligno y, por tanto y desafortunadamente, no pueden siempre aplicarse para el diagnóstico clínico de malignidad. Las mutaciones de *RAS* y el reordenamiento *PAX8/PPAR $\gamma$* , aunque frecuentes en el carcinoma folicular, no son específicos y carecen de utilidad para el diagnóstico de certeza del carcinoma folicular. Por el contrario las mutaciones de *BRAF*, frecuentes en el carcinoma papilar, son además específicas de este tipo tumoral y su determinación en la PAAF es un método útil y seguro de establecer este diagnóstico (Cañadas-Garre, 2010).

Las modificaciones epigenéticas tales como la deacetilación de histonas y la metilación del DNA juegan un papel importante en la regulación de la expresión génica estando por tanto involucradas en la carcinogénesis. En el cáncer humano es frecuente encontrar patrones anormales de metilación de DNA (Matsuo *et al.*, 1993). Varios grupos de investigación han demostrado metilación aberrante de DNA de diversos genes, tanto en tumores tiroideos benignos como malignos. Entre estos genes se encuentran el gen *TSHR*, el gen *SLC26A4* del síndrome de Pendred y el gen *NIS*. La observación de estas alteraciones epigenéticas de *NIS* ha abierto nuevas perspectivas para recuperar su

## Introducción.

expresión, de tal manera que se han ensayado con éxito, in vitro, agentes demetilantes para restaurar la capacidad de captar yodo de líneas de cáncer de tiroides (Riesco-Eizaguirre *et al.*, 2006).

La metilación de algunos genes tales como *TIMP3* (inhibidor tisular de la metaloproteínasa 3), *SLC5A8* (transportador de monocarboxilato sódico) y *DAPK* (proteín cinasa asociada a muerte celular) se asocia con agresividad biológica en el carcinoma papilar y puede ser de valor pronóstico (Hu *et al.*, 2006).

El análisis de expresión génica, mediante micromatrices de DNA, ha puesto de manifiesto diferencias de los tumores tiroideos con respecto al tiroides normal y diferencias también entre el carcinoma papilar y folicular. Así en el carcinoma papilar se ha encontrado una expresión alterada de los genes *MET*, *LGALS3* (galectina 3), *KRT19*, *DPP4*, *MDK*, *TIMP1* y *FN1* (fibronectina) (Huang *et al.*, 2001). En general, en el cáncer papilar existe sobreexpresión de genes relacionados con la adhesión celular mientras que se encuentran subexpresados genes supresores tumorales, los que codifican proteínas relacionadas con la función tiroidea y los que codifican proteínas de unión a los ácidos grasos (Huang *et al.*, 2001). Ninguno de ellos, sin embargo, puede considerarse un marcador único del carcinoma papilar. Se han detectado por otra parte diferencias entre el carcinoma papilar y folicular en cuanto a la expresión de cinco genes: *CITED1*, *CAV1*, *CAV2*, *IGFBP6* y *CLDN10* (Aldred *et al.*, 2004).

### 1.3.3 Factores reguladores del crecimiento

En el desarrollo neoplásico intervienen además de los factores genéticos y ambientales una serie de factores que promueven y facilitan la proliferación celular entre los que se encuentran hormonas y otras proteínas.

#### 1.3.3.1 Factores promotores del crecimiento y progresión tumoral

##### 1.3.3.1.1 TSH-R

La TSH juega un papel esencial en el crecimiento y diferenciación del tirocito, incluyéndose su capacidad para la producción hormonal a partir de su unión a los receptores tiroideos (TSH-R). El receptor TSH-R es un miembro de la familia de las proteínas G, cuya estimulación aberrante se asocia a patologías como el BMN o la



Enfermedad de Graves, originándose a partir de una mutación y la consiguiente activación constitutiva del mismo, encontrándose hasta en 25% de los casos (Parma *et al.*, 1993). Por el contrario la implicación del TSH-R parece tener un papel secundario en el desarrollo del cáncer tiroideo, observándose entre un 7 a un 14% de los cánceres diferenciados de tiroides (Segev *et al.*, 2003), donde parece que ocuparía un puesto en las etapas finales del mecanismo oncogénico (Shi *et al.*, 1993).

#### 1.3.3.1.2 GSP

La GSP es una integrante de la familia de las proteínas G que actúa como ligando de unión y activación de la adenil ciclasa facilitando el incremento del AMPc. Al igual que en el caso de las mutaciones del receptor TSH se ha observado un aumento de mutaciones de la GSP en adenomas hiperfuncionantes y, en menor medida, en carcinomas de tiroides (Zeiger *et al.*, 1997; Duh *et al.*, 1990).

#### 1.3.3.1.3 EGF

El factor de crecimiento epidérmico (EGF), ejerce su efecto como iniciador en la cascada de la MAPK estando comprobada su acción tanto en lesiones benignas de tiroides hiperfuncionantes como en neoplasias donde se ha observado un aumento de los niveles del mismo de mayor intensidad en el CPT y en el CAT correlacionándose su expresión con una mayor agresividad clínica (Mizukami *et al.*, 1991; Segev *et al.*, 2003).

#### 1.3.3.1.4 IGF-1

El factor de crecimiento tipo insulina (IGF-1), expresado por las células estromales del tiroides puede actuar como un promotor de crecimiento tirocitario con propiedades autocrinas, estando aumentado en lesiones adenomatosas y neoplásicas en el tiroides (Segev *et al.*, 2003).

#### 1.3.3.1.5 VEGF

El proceso de angiogénesis consiste en la gemación de nuevos vasos sanguíneos a partir de capilares preexistentes y requiere la multiplicación de células endoteliales, su emigración, el remodelamiento de la matriz extracélular,

formación de la luz y reclutamiento de estructuras que mantengan el vaso neoformado. Este proceso ocurre rara vez en la vasculatura adulta salvo en situaciones tales como la curación y reparación de heridas, ciclo menstrual y en ciertos procesos patológicos como la retinopatía diabética y en tumores (Ramsden *et al.*, 2000).

Aunque la angiogénesis no constituye un factor promotor en la oncogénesis tiroidea, su establecimiento resulta fundamental para la consolidación de la misma, pues la necesidad de nutrientes y oxígeno para lesiones superiores a 2mm de diámetro demandan un aporte extraordinario que sólo puede ser obtenido de esta forma.

En el cáncer de tiroides la relevancia de la angiogénesis tumoral ha sido demostrada por correlaciones significativas entre la formación de microvasos y el aumento del tamaño del tumor primario (Tuttle *et al.*, 2002).

Se han identificado diversos factores angiogénicos relevantes en la angiogénesis tumoral del tiroides, incluyendo el factor de crecimiento epidérmico, el factor transformante  $\alpha$  y  $\beta$ , el factor de crecimiento fibroblástico ácido y básico, el factor de crecimiento placentario (PIGF), el FNT $\alpha$ , la prostaglandina E1, y la prostaglandina E2, así como, IL-8, óxido nítrico, angiopoyetina 1 y 2, endotelina, PDGF y el VEGF. La acción de estos factores está contrarrestada por otros que inhiben la angiogénesis como trombospondina, angioestatina y endostatina (Ramsden *et al.*, 2000).

De todos los factores anteriormente expuestos el VEGF es el que juega un papel más importante en la angiogénesis y permeabilidad vascular tanto en procesos patológicos como en normales. El VEGF es quimiotáctico y mitogénico para las células endoteliales. Existen varias isoformas de VEGF (A, B, C y D), transcritas por un solo gen, que tienen distinta expresión tisular y que se unen a receptores tirosin cinasa (VEGFR-1, VEGFR-2 y VEGFR-3); en las células endoteliales se expresan VEGFR-1 y 2.

El VEGF-A ha sido descrito en células foliculares del tiroides y células endoteliales del parénquima tiroideo y, de igual forma, la producción del VEGF por las células tiroideas tumorales ha sido constatada tanto *in vitro* como *in vivo* (Klein *et al.*, 2001; Tuttle *et al.*, 2002). Se ha observado la presencia del VEGF-A en el

carcinoma papilar, folicular, y medular de tiroides así como en el carcinoma de células de Hürthle, adenoma folicular y en casos de hiperplasia relacionada con la enfermedad de Graves (Soh *et al.*, 1997; Tanaka *et al.*, 2002). Varios estudios sugieren que la expresión del VEGF por células tiroideas cancerígenas está asociada a un fenotipo más agresivo, tanto en modelos animales como en estudios clínicos, postulándose como un marcador pronóstico independiente (Bunone *et al.*, 1999; Klein *et al.*, 2001). Algunos autores, incluso han correlacionado la expresión del VEGF con la pérdida de diferenciación del tumor, si bien otros no han encontrado un aumento significativo de la expresión del VEGF en ganglios y metástasis pulmonares comparadas con el tumor primario. (Galofre *et al.*, 2002). En estudios realizados a pacientes con metástasis se han observado niveles séricos del VEGF más altos en éstos frente a los que estaban libres de enfermedad. (Klubo-Gwiedzinska *et al.*, 2007; Karaca *et al.*, 2011).

Las líneas celulares de cáncer de tiroides en cultivo producen más VEGF que los tirocitos normales y la producción aumenta por la acción de la TSH. Sin embargo en algunas líneas celulares hay una producción basal alta de VEGF que no se modifica por la TSH lo que sugiere que, en algunos tumores, la producción de VEGF puede estar activada de forma constitutiva (Ramsden *et al.*, 2000). La expresión in vitro de VEGF se correlaciona además con la agresividad in vivo de la neoplasia y son los carcinomas anaplásicos los que tienen una mayor expresión de VEGF (Ramsden *et al.*, 2000).

La expresión del VEGF es detectada rara vez por inmunohistoquímica en células foliculares normales, pero ha sido demostrada en casos de pacientes afectados de bocio, enfermedad de Graves, tiroiditis subaguda, y cáncer tiroideo diferenciado, y es generalmente más intensa en el caso de las lesiones neoplásicas (Lewy-Trenda *et al.*, 2002). En algunos estudios se ha observado aumento simultáneo de tinción para VEGF y Ki67 en tumores lo que puede indicar que las áreas con alta proliferación secretan mayor cantidad de VEGF para promover la angiogénesis (Klein *et al.*, 1999).

Se ha descrito la expresión del ARNm y de la proteína del VEGF-C tanto en el carcinoma folicular de tiroides como en el carcinoma papilar obteniendo una mayor expresión de ésta en el carcinoma papilar, correlacionándose con la

tendencia de éste a metastatizar por vía linfática (Fellmer *et al.*, 1999). El VEGF-C se sobreexpresa como consecuencia de la interacción de diversos factores, entre ellos la IL-1 $\alpha$ , la cual no se expresa en el carcinoma folicular, pero sí en el papilar, lo que explicaría, en parte, la predilección de éste por metastatizar por vía linfática (García de la Torre *et al.*, 2006).

Se ha observado en numerosos estudios el aumento de la expresión de diferentes proteínas en el cáncer tiroideo, sin que hasta el momento esté completamente dilucidado su papel dentro del proceso oncogénico, si bien sí parece que su expresión anormal otorga a las células que los manifiestan una ventaja adaptativa que les permite mayor grado de autonomía frente a los procesos de regulación.

Por otro lado, este patrón de expresión proteica propia es utilizado como herramienta diagnóstica y terapéutica de mucha utilidad.

#### 1.3.3.1.6 DAP-4

La dipeptidilaminopeptidasa IV (DAP-4 o DPP IV) es una glicoproteína tipo II de transmembrana con múltiples funciones e implicada en fenómenos de invasión y angiogénesis (Fröhlich *et al.*, 2011), la cual está aumentada en diferentes tumores como en el cáncer de mama, hígado y tiroides. Se ha propuesto como un marcador específico del cáncer bien diferenciado de tiroides (CPT y CFT) (Aratake *et al.*, 1991; González-Campora *et al.*, 1998).

#### 1.3.3.1.7 HMGI-1

Las proteínas de alta movilidad (llamadas así por su rápido desplazamiento durante la separación electroforética), constituyen una familia de proteínas nucleares que regulan la estructura y formación de la cromatina. Las HMGI son proteínas no histonas fijadoras del ADN, en cantidad superior a los factores de transcripción o de replicación, que aunque no poseen una actividad transcripcional inherente regulan a través de la unión con los factores de transcripción, estableciendo complejos multiproteicos que actúan sobre algún gen vecino (Lodish *et al.*, 2002). Su expresión en condiciones normales parece

estar relegada a la embriogénesis, evidenciándose su activación en diferentes neoplasias, entre ellas en el cáncer tiroideo (Segev *et al.*, 2003).

#### 1.3.3.1.8 Ceruloplasmina y lactoferrina

La ceruloplasmina y la lactoferrina son glicoproteínas con un comportamiento biológico similar entre ambas, cuyos niveles aumentados han sido observados en numerosos tumores, entre ellos en el cáncer tiroideo. Inmunohistoquímicamente se han obtenido resultados prometedores en el diagnóstico diferencial de las lesiones foliculares tiroideas (Kondi-Pafiti *et al.*, 2000; Segev *et al.*, 2003).

#### 1.3.3.2 Factores inhibidores de la proliferación tumoral

##### 1.3.3.2.1 Reguladores del ciclo celular

###### -TGF- $\beta$

El TGF- $\beta$  pertenece a una superfamilia de factores de crecimiento que incluye las tres isoformas del TGF- $\beta$  así como otras, tales como la activina, la proteína morfogenética ósea y la inhibina entre otras, las cuales afectan a una amplia variedad de procesos biológicos regulando la proliferación y diferenciación celular, la apoptosis y el desarrollo celular (Matsuo *et al.*, 2010).

El TGF- $\beta$  es una proteína homodimérica la cual regula los procesos celulares mediante la unión a un complejo serina-treonina cinasa compuesto por dos receptores transmembrana TGF- $\beta$  I y II, la formación de este nuevo complejo estimula la fosforilación de receptores citoplásmicos denominados SMADs (R-SMAD), los cuales son subsecuentemente transferidos al núcleo donde se unen al SMAD-4 y activan la transcripción de genes (*CDKI*, P21 y p15<sup>INK4b</sup>), reprimiendo la expresión de otros (*C-MYC*, *CDK2*, *CCDK4* y las ciclinas A y E).

El TGF- $\beta$  actúa como factor inhibitorio de la proliferación para numerosos tipos de células epiteliales incluyendo las tiroideas (Franzen *et al.*, 1999), en condiciones fisiológicas regula el crecimiento y la función tiroidea. Diferentes estudios han demostrado que el TGF- $\beta$  1 inhibe la proliferación celular así como otros procesos funcionales tales como la formación de AMPc, la captación y

organificación de yodo, la secreción hormonal y la expresión de tiroglobulina, tiroperoxidasa y el transportador  $NA^+/I^-$  (Pisarev *et al.*, 2009).

En muchos tipos tumorales los efectos inhibitorios del crecimiento de las vías TGF- $\beta$  están afectados por mutaciones en la propia vía de señalización. Estas mutaciones pueden afectar al receptor TGF- $\beta$  II o interferir con moléculas SMAD. En otros casos se producen en las etapas finales de la vía de señalización, con pérdida de la P21 o con la expresión persistente de la c-MYC (Robbins *et al.*, 2010).

En los tumores tiroideos la acción inhibitoria del TGF- $\beta$ 1 sobre la proliferación celular se pierde progresivamente en paralelo con la pérdida de la diferenciación celular (Matsuo *et al.*, 2003).

#### -P21

La P21 es una de las tres integrantes de la familia de los inhibidores de las cinasas dependientes de ciclinas, junto con la P27 y la P57. La sobreexpresión de esta proteína activa la detención del ciclo celular en la fase G1 de las células tumorales proliferantes. Varios estudios han mostrado la correlación entre la sobreexpresión de la P53 y la pérdida de expresión de la P21, consistente con su papel de molécula dependiente de la P53.

Se ha observado una expresión de la P21 en el 40% de los CPT bien diferenciados, disminuyendo al 7% en los pobremente diferenciados y perdiéndose completamente en los anaplásicos. Una correlación similar se ha observado en otros tumores de diferentes localizaciones (Saltman *et al.*, 2006).

Otros reguladores tales como la P27, P53, la proteína del retinoblastoma (Rb), así como las ciclinas serán tratadas más adelante.

### 1.3.3.3 Otros factores

#### 1.3.3.3.1 Factores de diferenciación y adhesión celular

Tanto el papel de la PAX-TFF-1, como de las cadherinas (E-cadherina y p-Cadherina), así como la galectinas y CD44 son abordados en puntos posteriores.

### 1.3.3.3.2 Factores que afectan a la inmortalización y a la apoptosis

#### Inmortalización celular

Telomerasa (ver apartado 1.5.6.1).

#### Reguladores de la apoptosis

##### Familia BCL

La mejora en el crecimiento en los linfomas B a través de la inhibición de los mecanismos de apoptosis, preservando la integridad de la membrana mitocondrial, fue inicialmente atribuido a la acción de la bcl-2, la cual fue la primera molécula identificada dentro de la familia de las Bcl, identificándose posteriormente diferentes proteínas homólogas antiapoptóticas (Bcl-x, Bcl-w) así como otras proapoptóticas (Bax, Bak, Bok, Blk).

Al igual que Fas/Fas-L, estas proteínas interactúan con las capas en la regulación de la apoptosis.

El papel de la BCL-2 en el cáncer tiroideo es contradictorio con resultados discordantes entre los diferentes grupos de trabajo, no mostrando ninguna ventaja en la valoración pronóstica actual en el cáncer de tiroides (Lodish H. 2002) (Segev DL. 2003).

##### Fas/Fas-L

Fas (CD95) es una proteína de transmembrana perteneciente a la superfamilia de los receptores del factor de necrosis tumoral, implicada en la vía extrínseca de la apoptosis, la cual se activa tras la unión con su ligando Fas-L (CD95L), produciéndose una trimerización del receptor y sus *dominios de muerte* citoplasmáticos, que atraen la proteína adaptadora intracélular FADD (Dominio de Muerte Asociado a Fas), conduciendo a la activación final de la caspasa 3 (Robins *et al.*, 2010).

Las interacciones Fas/FasL han sido implicadas en el desarrollo de la tiroiditis de Hashimoto, el carcinoma papilar y el carcinoma folicular (Segev *et al.*, 2003). En el caso del carcinoma papilar de tiroides se asocia a variantes de mayor

## Introducción.

agresividad (Mitsiades *et al.*, 2003), asimismo la presencia de Fas en las neoplasias les confiere una ventaja en la supervivencia (Mitsiades *et al.*, 2006).



### PTEN

PTEN (homólogo de la fosfatasa y la tensina) pertenece a un complejo regulador que controla las rutas de fosforilación, ubiquitinización, oxidación y acetilación. Es una fosfatasa asociada a membrana con una función supresora tumoral, al servir de freno en la vía de señalización de la PI3K/AKT.

Aunque las mutaciones somáticas del PTEN son raras en los carcinomas tiroideos primarios, se ha observado entre un 10 a un 20% de deleciones homocigotas en adenomas y carcinomas tiroideos ascendiendo a un 60% en los carcinomas anaplásicos. (Segev *et al.*, 2003).

### MDM-2

La activación del oncogén *MDM-2* mediante sobreexpresión o amplificación ha sido observada en diferentes tumores, principalmente en sarcomas, así como en carcinomas de tiroides, donde se ha demostrado su sobreexpresión junto con la de la P53 (ver apartado 1.5.2.2) (Segev *et al.*, 2003). La presencia de *MDM-2* se ha correlacionado con un papel pronóstico para determinados tumores, así como en el caso de los tumores tiroideos observándose una relación inversa entre su expresión y la agresividad tumoral (Saltman *et al.*, 2006); si bien para otros autores no han llegado a precisar tal correlación (Melck *et al.*, 2007).

## 1.4 Clasificación

Clásicamente los tumores epiteliales malignos de la glándula tiroides se han dividido en cuatro grandes grupos (papilar, folicular, medular y anaplásico) atendiendo a los hallazgos histológicos y a las manifestaciones clínicas. Los conocimientos actuales de la biología molecular y la genética de estas neoplasias no ha hecho más que subrayar la validez de esta división, ya que las vías genéticas implicadas en estos cuatro tipos son diferentes, con escaso solapamiento entre ellas. Sin embargo, existen dentro de estos grupos variantes que sí deben ser tenidas en cuenta debido a sus características morfológicas y/o su pronóstico.

A continuación se detallan las definiciones, características y subtipos de las neoplasias malignas del tiroides de acuerdo a la última clasificación de la OMS del 2004 (Anexo 1) (DeLellis *et al.*, 2004) y, en un último apartado, se hará mención de las perspectivas futuras de esta clasificación y de aspectos de la misma que necesitan clarificarse.

### 1.4.1 Carcinoma Papilar

Definición: La definición de la OMS para este tipo de carcinoma es la de: "Un tumor maligno epitelial mostrando evidencia de diferenciación folicular y con características nucleares específicas" (DeLellis *et al.*, 2004).

#### 1.4.1.1 Epidemiología

Aunque los carcinomas papilares son raros antes de los 15 años, constituyen la lesión maligna tiroidea más frecuente en la edad pediátrica. En adultos, los picos de incidencia se encuentran en los 20 y 50 años con predominio femenino (4:1). La supervivencia es excelente, particularmente en pacientes menores de 45 años.

La incidencia de este tipo de cáncer ha aumentado de forma global, aunque afortunadamente este incremento no se ha acompañado de una mayor mortalidad para los pacientes afectados. El hallazgo incidental del carcinoma papilar tanto en autopsias como en tiroides extirpados por lesiones no tumorales varía notablemente en función de la técnica de muestreo.

#### 1.4.1.2 Etiología

El carcinoma papilar de tiroides está fuertemente relacionado con la exposición a radiación. La mayoría de los tumores epiteliales se desarrollan tras una sucesión de alteraciones genéticas que se traducen en un cambio fenotípico con modificaciones morfológicas y arquitecturales, que progresan desde la hiperplasia y pasan por varios grados de displasia hasta alcanzar un patrón invasivo. Este modelo, aceptado para la mayoría de los tumores epiteliales, no se ha podido establecer en el caso de los carcinomas papilares de tiroides. Sin embargo existe un riesgo aumentado en aquellos pacientes afectados de bocio o nódulos tiroideos, así como en aquellos individuos con historia de radiación, lo que parece apoyar la idea de un acúmulo progresivo de daños genéticos para el desarrollo de este tipo de lesiones. Como lleva implícito la definición de la OMS (véase anteriormente), la mayoría de las células de esta neoplasia presentan alteraciones nucleares características tales como aclaramiento nuclear, aumento del tamaño, amontonamiento, membrana nuclear hipercromática con irregularidades, invaginaciones, hendiduras y pseudoinclusiones. Sin embargo, dichos cambios no se relacionan siempre con las modificaciones genéticas estudiadas en este carcinoma (Prasad *et al.*, 2004).

#### 1.4.1.3 Hallazgos clínicos

El carcinoma papilar se manifiesta, normalmente, como un nódulo único, con o sin linfadenopatía cervical y, típicamente, hipocaptante en la gammagrafía. En zonas con déficit de yodo, en las que el bocio multinodular sigue siendo frecuente, puede presentarse como un nódulo más llamativo en el contexto de un bocio multinodular. Los tumores muy pequeños, que no son palpables, pueden ser un hallazgo incidental de una técnica de imagen practicada por otra patología (resonancia magnética nuclear, tomografía axial computarizada, ecografía) o encontrarse en una pieza de tiroidectomía llevada a cabo por otra causa o en el curso de una autopsia. Estos carcinomas “preclínicos” se asocian en general a un excelente pronóstico.

## Introducción.

El carcinoma papilar de tiroides muy raramente interfiere en la función hormonal de la glándula. Los estudios bioquímicos rutinarios no son válidos para el diagnóstico, pero si para el seguimiento de la función hormonal.

### 1.4.1.3.1 Diagnóstico

El diagnóstico debe iniciarse con estudio citológico mediante punción-aspiración con aguja fina (PAAF), siendo este un método efectivo para el diagnóstico del carcinoma papilar. Las técnicas de imagen pueden ser especialmente útiles en tumores grandes y sintomáticos, que suelen ser más propios de enfermos de edad, para conocer el grado de extensión e infiltración previo a la cirugía.

### 1.4.1.4 Hallazgos macroscópicos

Los carcinomas papilares muestran una gran variedad de patrones morfológicos. La mayoría se presenta como una lesión blanquecino-grisácea de consistencia firme, con bordes irregulares, incluso infiltrando el parénquima glandular vecino aunque también pueden ser bien circunscritos y encapsulados. Algunos muestran calcificación distrófica y en algunos casos, de forma ocasional, presentan focos de osificación.

El tamaño oscila de menos de un milímetro a varios centímetros. La multicentricidad es un hallazgo frecuente en este tipo de lesiones así como la degeneración quística, aunque raramente ocupa toda la lesión; en algunos casos el tumor primario muestra imagen sólida característica, mientras que la metástasis ganglionar puede presentar cambios quísticos mayoritarios. En los casos más graves puede observarse invasión de tejidos adyacentes.

El carcinoma papilar de tiroides muestra tendencia a metastatizar por vía linfática y, por ello, es frecuente encontrar afectación de los ganglios linfáticos regionales en una proporción alta de enfermos (más del 30% de los enfermos) (Mazzaferri *et al.*, 2009). En algunos casos pueden observarse focos de tumor dentro de la glándula (16,2%) (Herránz *et al.*, 2011), separados de la masa tumoral principal, como resultado de esta diseminación linfática, o más raramente como consecuencia de un origen multicéntrico. Por otro lado, puede observarse invasión venosa, de forma ocasional.

La multifocalidad es un fenómeno frecuentemente observado en pacientes afectos de CPT, confiriendo un incremento del riesgo de afectación ganglionar y de recurrencia

regional (Kato *et al.*, 1992). Desde el punto de vista anatómico, el sistema de drenaje linfático de la glándula tiroidea favorecería este fenómeno, en el que ambos lóbulos junto con el istmo están delimitados por una cápsula y comunicados entre sí por una amplia red de vasos linfáticos intralobulares (Shattuck *et al.*, 2005), si bien para otros autores la existencia de una cápsula es un hecho discutible, donde no hay evidencias ni histológicas ni anatómicas de una cápsula fibrosa completa que envuelva la totalidad del tiroides, estando éste circundado por una banda de tejido fibroadiposo intermitente que constituye una pseudocápsula (Mete *et al.*, 2010<sup>A</sup>).

Estudios de mutaciones BRAF<sup>V600E</sup> y de determinación de la inactivación del cromosoma X por biología molecular han demostrado que la presencia de tumor con afectación en ambos lóbulos se originaría a partir de una célula progenitora común, considerándose por tanto como un fenómeno metastásico intratiroideo en el lóbulo contralateral (Wang *et al.*, 2010), si bien existen estudios previos con resultados discordantes en el análisis de la mutación BRAF en los carcinomas papilares multifocales (Giannini *et al.*, 2007; Shattuck *et al.*, 2005), probablemente originado a partir de la diferencia metodológica a la hora de obtener la muestra de estudio.

#### 1.4.1.5 Hallazgos microscópicos

Los hallazgos citológicos característicos del carcinoma papilar de tiroides incluyen aumento del tamaño nuclear, núcleos de forma oval y superposición nuclear. Asimismo, presenta de forma característica aclaramiento nuclear con imagen en vidrio esmerilado, junto con irregularidades del contorno nuclear que son responsables de las hendiduras y pseudoinclusiones que son tan típicas, aunque no específicas, de este tipo de carcinoma. Estos rasgos citológicos son la base del diagnóstico, tal y como se señala en la definición que la OMS ha establecido para esta neoplasia (DeLellis *et al.*, 2004; LiVolsi, 2011).

En algunos estudios se ha sugerido que el reagrupamiento RET/PTC puede ser el causante de dichos cambios nucleares específicos (Baloch *et al.*, 2002<sup>A</sup>).

La arquitectura de esta neoplasia es papilar y folicular generalmente y es raro, a pesar del nombre que se usa para designarla, encontrar un patrón papilar puro; también puede adoptar un patrón sólido o trabecular y a veces encontrarse un patrón puramente folicular (véase el apartado de variantes del carcinoma papilar). Las papilas muestran disposición compleja con arborización, el epitelio que las reviste tiene alteración de la

## Introducción.

polaridad y citoplasma eosinófilo y los ejes conjuntivo-vasculares pueden estar edematosos. Es frecuente encontrar metaplasia escamosa y, en el caso de tumores con degeneración quística, el revestimiento los quistes puede mostrar cambios metaplásicos escamosos extensos. Los cuerpos de psammoma son calcificaciones redondas, laminadas de forma concéntrica, muy características del carcinoma papilar, aunque no específicas que se encuentran asociados a las células tumorales, dentro de los espacios linfáticos, o en el estroma tumoral. Esta ubicación los distingue de las calcificaciones del coloide, que pueden ser morfológicamente muy similares pero están situadas en el interior de los folículos. Otras características frecuentes son la esclerosis intratumoral y la infiltración linfocítica peritumoral (Khanafshar *et al.*, 2011).

Las características citológicas, que se han comentado anteriormente, son clave para diferenciar las papilas neoplásicas del carcinoma papilar de las papilas, de carácter benigno, que pueden observarse en el bocio nodular, adenoma folicular y en la hiperplasia difusa.

### 1.4.1.6 Inmunohistoquímica

Los carcinomas papilares muestran positividad para citoqueratinas (Baloch *et al.*, 1999), tiroglobulina, y TTF-1 (Bejarano *et al.*, 2000), pero no para sinaptofisina y cromogranina A. Se ha propuesto un número de marcadores inmunohistoquímicos útiles para confirmar, en determinados casos, la sospecha de carcinoma papilar. Los marcadores estudiados incluyen desde la proteína S-100 (McLaren *et al.*, 1996), HLA-DR, receptor de estrógeno, 34βE12 (Cheung *et al.*, 2001), CK19 hasta RET. Otros marcadores sugeridos para las lesiones con rasgos papilares sospechosos, incluyen HBME-1 y la galectina 3 que, aunque se expresan en un altísimo porcentaje de carcinomas papilares, no son totalmente específicos (Fernández *et al.*, 1997; Prasad *et al.*, 2004; Rosai *et al.*, 2004; Zhu *et al.*, 2010); de igual forma la sobreexpresión de citoqueratina 19 es muy característica del carcinoma papilar pero puede darse en el caso de las tiroiditis linfocitarias crónicas. La tinción de RET sirve para identificar la expresión del reagrupamiento de RET/PTC, la cual ofrece información pronóstica relevante (Zafon *et al.*, 2007).

Los tumores con metástasis muestran de forma característica ausencia de la P27, y sobreexpresión de la ciclina D1, mientras que los no metastáticos expresan el perfil inverso

(positividad para la P27 y negatividad para la ciclina D1) (Khoo *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2010).

#### 1.4.1.7 Variantes histológicas del carcinoma papilar de tiroides

##### 1.4.1.7.1 Variante folicular

Constituye el patrón más frecuente de todas las variantes de carcinoma papilar, excluyendo al carcinoma papilar convencional y al microcarcinoma papilar (Lam *et al.*, 2005; Passler *et al.*, 2003). Fue destruido en la década de los 50 del siglo pasado, incluyéndose originariamente dentro del grupo de los carcinomas foliculares, y posteriormente reclasificado en el grupo de los CPT por S. Lindsay (Chem *et al.*, 1977; Lindsay, 1960). Macroscópicamente muchos de estos tumores recuerdan a los carcinomas foliculares, compuestos por folículos de contorno bien delimitado de tamaño pequeño o mediano sin estructuras papilares evidentes. Pueden contener cantidades moderadas de coloide que puede aparecer hipereosinófilico. La mayoría de las células que tapizan los folículos muestran núcleos aumentados, claros con pseudoinclusiones e invaginaciones. Pueden observarse células gigantes multinucleadas en esta variante, mientras que los cuerpos de psammoma y la esclerosis estromal se aprecian de forma ocasional. Aproximadamente un tercio de los tumores se encuentran encapsulados. A pesar de estar completamente encapsulados, pueden producirse a veces metástasis ganglionares o permeación vascular. El pronóstico de esta entidad es semejante a carcinoma papilar puro. Una excepción la constituye la variante multifolicular, que es más agresiva (Sobrinho-Simoes *et al.*, 2010).

Algunos estudios recientes de esta variante señalan que, a pesar de presentar unas características morfológicas que vinculan a esta variante con el carcinoma papilar clásico, se diferencia de él por el perfil inmunohistoquímico (Lloyd *et al.*, 2011), con expresión de anticuerpos propios del carcinoma papilar de tiroides más débiles, como en el caso del HBME-1, o por el contrario con expresión de reagrupamiento PAX-PPARgamma, mutación *RAS* (Castro *et al.*, 2006; Scognamiglio *et al.*, 2006; Smith *et al.*, 2011) o tinción positiva para IMP-3 (Slosar *et al.*, 2009).

#### 1.4.1.7.2 Variante macrofolicular

Constituye probablemente la variante más infrecuente de todas. Está constituida mayoritaria o exclusivamente por macrofolicúlos (más del 50%), y a menudo se puede confundir con nódulos coloides o hiperplásicos e incluso con un adenoma macrofolicular, ya que esta variante es generalmente encapsulada. Otra razón para confundir este subtipo de carcinoma papilar con lesiones benignas es que las características citológicas propias del carcinoma papilar pueden ser sólo focales, estando muchos de los folicúlos neoplásicos tapizados por un epitelio de núcleos hipercromáticos; el coloide puede presentar vacuolización periférica. En esta variante las metástasis ganglionares son infrecuentes pero cuando ocurren es habitual que mantengan el patrón macrofolicular (Albores-Saavedra *et al.*, 1991; Fukushima *et al.*, 2009).

#### 1.4.1.7.3 Variante oncocítica

Son tumores que se pueden diferenciar macroscópicamente por su coloración marrón-caoba característica. Histológicamente pueden formar papilas o folicúlos. Los tumores con arquitectura papilar se caracterizan por la disposición de papilas ramificadas con células oncocíticas sobre un eje fibrovascular. La variante tipo Whartin muestran un abundante infiltrado linfocitario frecuentemente asociado a tiroiditis de Hashimoto (Apel *et al.*, 1994).

Los tumores con arquitectura folicular pueden estar constituidos por macro o microfolicúlos con variable cantidad de coloide. El tumor puede estar bien delimitado e incluso encapsulado, pero si se hace un estudio minucioso suele encontrarse algún grado de invasión; algunas lesiones pueden presentar una invasión franca. El diagnóstico de esta variante se basa en el reconocimiento de las características nucleares (Sobrinho-Simões *et al.*, 2005).

#### 1.4.1.7.4 Variante de célula clara

Descrito por primera vez por D. Variakojis en 1975 como un tumor con un patrón de células con citoplasmas claros que afectaba predominantemente a mujeres entre la 6ª y la 7ª década (Variakojis *et al.*, 1975). Tanto el carcinoma papilar convencional como la variante folicular pueden presentar de forma mayoritaria células claras. En ocasiones



coexisten en la misma neoplasia células oncocíticas y claras, e incluso, los citoplasmas de algunas células pueden tener rasgos oncocíticos y claros simultáneamente, si bien cuando los cambios de células claras exceden el 75% del total de la lesión, debe ser clasificada dentro de la variante de células claras (Mete *et al.*, 2010<sup>B</sup>). A veces pueden presentar mucina intra y extracelular. Cuando el tumor es metastático, puede plantear problemas de diagnóstico diferencial con neoplasias de células claras de otro origen (Civantos *et al.*, 1984), siendo de utilidad técnicas inmunohistoquímicas tales como la TTF-1 y la tiroglobulina (Lloyd *et al.*, 2011).

#### 1.4.1.7.5 Variante esclerosante difusa

Es un tumor más propio de pacientes jóvenes (Koo *et al.*, 2009), con predominio por el sexo femenino (1:4), que se caracteriza por la tendencia a afectar de forma difusa a uno o ambos lóbulos de la glándula tiroidea, normalmente sin una masa dominante, descrito por A. Vickery en 1985. Los rasgos característicos de esta neoplasia son: crecimiento dentro de los espacios vasculares linfáticos, extensa metaplasia escamosa, numerosos cuerpos de psammoma, intenso infiltrado linfocítico y fibrosis estromal. Cuando se observa un nódulo dominante, éste muestra los datos típicos del carcinoma papilar convencional, o muestra un citoplasma claro rico en glucógeno. El tejido tiroideo de fondo muestra tiroiditis linfocitaria crónica y a veces los enfermos tienen un título elevado de anticuerpos antitiroideos (De Lellis. *et al.*, 2004; Gómez Morales *et al.*, 1991). En el momento del diagnóstico puede encontrarse extensión tiroidea en más del 40%, metástasis linfáticas (68%) y metástasis a distancia en más del 19% de los casos (Sywak M. 2004). A pesar de los hallazgos clínicos agresivos, la mortalidad es similar al CPT convencional (Sadow *et al.*, 2011).

#### 1.4.1.7.6 Variante células altas

Es una variante muy poco frecuente, publicada en 1976 por primera vez por WA. Hawk y JB. Hazard. Está constituido por células con altura al menos tres veces superior a su anchura. Esta forma de tumor ha sido pobremente definida debido a la variabilidad de altura de las células neoplásicas en función del plano de corte, y también a la significativa proporción de células altas que se observa en otros tipos de carcinomas papilares. Por otra parte este tipo de tumores puede mostrar patrones de tipo papilar, trabecular o patrón

cordonal, sin embargo el patrón folicular es mucho menos frecuente. Las células muestran citoplasma eosinófilo, y núcleo de características similares al patrón papilar convencional, si bien presentan más pseudoinclusiones y hendiduras, debido a que este patrón puede verse junto con otros, tales como el CPT convencional, se requiere al menos que represente el 50% del total de las células tumorales para que pueda ser catalogado como tal (LiVolsi, 2010).

Es frecuente encontrar necrosis, mitosis y extensión extratiroidea. Asimismo este tipo de tumor se presenta sobre todo en pacientes de mayor edad, mostrando un peor pronóstico y comportamiento clínico más agresivo que la forma clásica de carcinoma papilar (Ghossein *et al.*, 2008; Ostrowski *et al.*, 1996).

### 1.4.1.7.7 Variante columnar

Este tipo está compuesto por células pseudoestratificadas columnares, algunas de las cuales pueden contener vacuolas supra o subnucleares semejantes a las del endometrio secretor. En ellas predomina el núcleo hipercromático, observándose sólo de forma aislada los hallazgos característicos del carcinoma papilar convencional. Al igual que en otras variantes, pueden coexistir mezcla de patrones papilar, folicular, trabecular y sólido (Ferreiro *et al.*, 1996). Aunque no hay un criterio definido, debido a su escasa frecuencia, se estima que al menos el 50% de las células tumorales deben mostrar estos rasgos para ser clasificadas dentro de esta variante (Sadow *et al.*, 2011).

Estos tumores suelen manifestarse de forma local avanzada, tendiendo a afectar al tejido extratiroideo y poseen en general peor pronóstico. Los que presentan encapsulación parcial o completa tienen menor incidencia de metástasis (Lloyd *et al.*, 2011; Wenig *et al.*, 1998).

### 1.4.1.7.8 Variante sólida

Están compuestos por células dispuestas en sábana con un patrón de crecimiento sólido/trabecular/insular en más del 70% del nódulo tumoral primario, con los rasgos típicos del carcinoma papilar, sin necrosis (Cameselle-Tejeiro *et al.*, 2003). En un tercio de los casos se observa invasión vascular y extratiroidea. Esta variante es más frecuente entre la población infantil incluyendo a los que han estado expuestos a irradiación a

edades tempranas y con un sustrato de dieta pobre de yodo (LiVolsi, 2011; Nikiforov *et al.*, 1994).

En el caso de tumores de tipo sólido que presenten un patrón de crecimiento con marcado pleomorfismo y necrosis celular debería ser considerado la posibilidad de la variante pobremente diferenciada del carcinoma papilar de tiroides. (Nikiforov *et al.*, 2001) (Sakamoto *et al.*, 2004), con la precaución de valorar adecuadamente los hallazgos nucleares a fin de evitar un sobrediagnóstico (García-Rostan *et al.*, 2011).

#### 1.4.1.7.9 Variante cribiforme

Algunos autores consideran al carcinoma cribiforme como una variante de carcinoma papilar mientras que otros piensan que se trata de una entidad independiente (De Lellis *et al.*, 2004). Se caracteriza por una arquitectura papilar, con rasgos cribiformes junto con áreas sólidas, fusocelulares y mórulas escamosas. Los núcleos muestran hipercomatismo, si bien en algunas áreas pueden observarse rasgos citológicos de papilar. Este tumor se desarrolla de forma característica en pacientes con FAP (Poliposis adenomatosa familiar) o síndrome de Gardner, de tal modo que cualquier paciente diagnosticado con esta variante debe ser explorado para descartar tal asociación (presente en un tercio de los pacientes). En estos casos el tumor tiende a ser multifocal y se da más en mujeres. La positividad inmunohistoquímica para tiroglobulina es sólo focal en la mayoría de casos (Cameselle-Teijeiro *et al.*, 1999), con una tinción nuclear para la  $\beta$ -catenina (Lloyd *et al.*, 2011).

#### 1.4.1.7.10 Variante de carcinoma papilar con estroma tipo fascitis

Este tipo infrecuente de tumores no ha mostrado un pronóstico significativamente peor que el carcinoma papilar convencional. Se caracteriza por la presencia de reacción fibrosa del estroma de tipo peculiar (Chan *et al.*, 1991).

#### 1.4.1.7.11 Variante de carcinoma papilar con componente insular focal

Una pequeña proporción de carcinomas papilares de tiroides puede mostrar componente insular, trabecular y sólido, las cuales presentan una celularidad similar al componente papilar convencional. El significado clínico de este hallazgo no es conocido hasta la fecha (DeLellis *et al.*, 2004).

#### 1.4.1.7.12 Variante de carcinoma papilar con componente escamoso o mucoepidermoide

El carcinoma papilar raramente coexiste con el carcinoma epidermoide. Esta variante no debe ser confundida con la presencia de metaplasia escamosa dentro de la variante papilar convencional, debido a que este subtipo muestra un peor pronóstico. El carcinoma papilar también puede mostrar áreas de carcinoma mucoepidermoide, que no se suele asociar a eosinofilia ni tiroiditis de Hashimoto (DeLellis *et al.*, 2004).

#### 1.4.1.7.13 Variante de carcinoma papilar asociado carcinoma fusiforme o de células gigantes

Raramente el carcinoma papilar tiene asociado un área indiferenciada. Si el componente fusocélular o indiferenciado predomina debería clasificarse como carcinoma indiferenciado (DeLellis *et al.*, 2004).

#### 1.4.1.7.14 Carcinoma papilar-medular combinado

En esta forma combinada, el componente de carcinoma papilar constituye menos del 25% del total (DeLellis *et al.*, 2004).

#### 1.4.1.7.15 Microcarcinoma papilar

Es la forma de carcinoma papilar más frecuente. Se encuentran entre el 5-36% de las autopsias en adultos y hasta en un 24% de las piezas de tiroidectomía llevadas a cabo por otras patologías. Característicamente no son detectables en la exploración clínica pero cada vez más se detectan al practicar técnicas de imagen del cuello o del tiroides por otras causas. En las últimas décadas ha habido un incremento notable en la incidencia del cáncer tiroideo, de tal forma que en los últimos 30 años su incidencia se ha multiplicado por dos; este incremento a sido a expensas principalmente del carcinoma papilar y, especialmente, de los microcarcinomas papilares. A este incremento es muy probable que haya contribuido la detección cada vez mayor de pequeños carcinomas papilares, por el uso creciente de ecografías cervicales y posterior punción aspiración con aguja fina y a un estudio más exhaustivo de las piezas quirúrgicas por parte de los patólogos, con análisis de mayor número de bloques de tejido (Grodski *et al.*, 2009). El término microcarcinoma

papilar debe usarse para aquellos tumores papilares que son un hallazgo incidental y midan 1 cm o menos de dimensión máxima (DeLellis *et al.*, 2004). Debido a su pequeño tamaño, pueden pasar desapercibidos en el examen macroscópico. En pacientes jóvenes pueden tener un comportamiento biológico más agresivo, por el contrario en adultos raramente muestran metástasis ganglionares. El grupo de Chernobyl (Chernobyl Pathologist Group), que estudió los tumores de tiroides de los niños afectados por este accidente nuclear, al observar que algunos carcinomas papilares de menos de 1 cm mostraban en estos niños extensión extratiroidea o se habían asociado a metástasis sugirieron no usar un límite de tamaño arbitrario para definir el microcarcinoma papilar en niños y que la definición de la clasificación de la OMS vigente se utilizara sólo para los tumores del adulto (Williams, 2000).

De forma ocasional una neoplasia papilar menor de 1 cm puede dar lugar a una gran metástasis ganglionar; generalmente estos casos muestran un perfil inmunohistoquímico con pérdida de la P27 y sobreexpresión de la ciclina D1, que denota su mayor agresividad biológica, en comparación con la forma común y muy frecuente de microcarcinoma (Khanafshar *et al.*, 2011; Khoo *et al.*, 2002).

Frecuentemente se encuentran en la región subcapsular, generalmente no son encapsulados, aunque pueden observarse variantes encapsuladas. Las lesiones menores de un milímetro suelen tener un patrón folicular y carecer de esclerosis; por el contrario las mayores presentan un estroma desmoplásico.

Desde el punto de vista conceptual a este tipo de lesión, que mide menos de un centímetro, se le considera generalmente como una variante de carcinoma papilar aunque se han utilizado términos diversos para designarla en la literatura científica tales como carcinoma papilar oculto, solitario, mínimo, latente, pequeño, carcinoma tiroideo no encapsulado y carcinoma esclerosante oculto. El término microtumor papilar (Rosai *et al.*, 2003) es otra de las variantes terminológicas propuestas para designar a aquellas formas de mejor pronóstico dentro del microcarcinoma papilar; se excluyen específicamente de esta designación a los tumores de pacientes menores de 19 años, a los que presenten en el momento del diagnóstico metástasis ganglionares y a los que tengan alguna característica asociada a peor pronóstico como el estar formado por células altas (Asioli *et al.*, 2009).

#### 1.4.1.7.16 Otras variantes del CPT no incluidas en la actual clasificación de la OMS (2004)

En enero de 2010 el grupo de R. Lloyd publicó una serie de ocho casos a partir de una revisión de 2534 CPT con un patrón histológico, inmunohistoquímico y molecular propio, los cuales mostraban un pronóstico adverso (Asioli *et al.*, 2010<sup>A</sup>).

Los hallazgos histológicos propios mostraban una arquitectura papilar con predominio de estructuras micropapilares, agrupado (un caso) y de forma menos frecuente con un patrón folicular (dos casos), con escaso o ausencia de componente coloide. En ningún caso se identificaron áreas de necrosis. Citológicamente presentan pérdida de la polaridad y la cohesividad, con un incremento de la proporción núcleo-citoplasma, donde característicamente el núcleo se encuentra en la mitad apical de la célula dando una imagen en "tachuela" en más del 30% de las células tumorales. Además del patrón inmunohistoquímico habitual para el CPT expresaban P53 (más del 25% de las células tumorales) y  $\beta$ -catenina. Asimismo el índice proliferativo fue superior al 20%. No se han identificado reagrupamientos RET/PTC (Lloyd *et al.*, 2011; Sadow *et al.*, 2011).

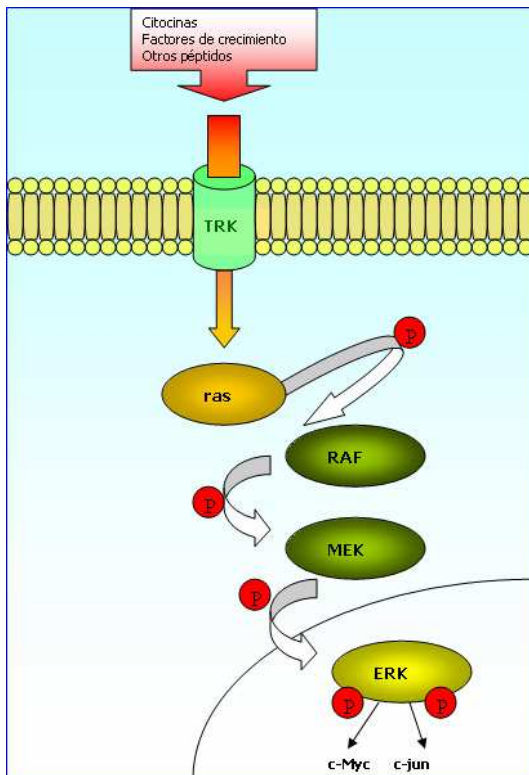
Aunque W. Tang fue el primero en describir los hallazgos histológicos diferenciales en un caso de CPT vinculándolo a peor pronóstico, y posteriormente K. Kakudo alertó sobre este patrón y su agresividad, no ha sido hasta ahora, a apartir del trabajo del grupo de R. Lloyd, cuando se ha podido reunir la primera serie y realizar su estudio morfológico e histoquímico, si bien será necesario aportar más casos para valorar este patrón como una verdadera entidad diferenciada.

#### 1.4.1.8 Alteraciones genéticas del carcinoma papilar

Desde hace años se ha constatado la implicación de la vía de señalización dependiente de la proteínacinas MAPK (mitogen-activated protein kinase) en diferentes tipos de tumores, entre éstos se encuentra de forma singular el carcinoma papilar de tiroides, en el que una activación patológica de esta ruta de señales es decisivo en la promoción tumoral (Fagin *et al.*, 2004). Esta vía de señalización constituye una de las cascadas moleculares más importantes en la regulación de funciones tan importantes como la diferenciación, proliferación, apoptosis y migración celular (Avruch *et al.*, 2007).

La activación de esta ruta transmite señales desde distintos tipos de receptores de la membrana celular hasta factores de transcripción nuclear a los que activa. La proteína

RAS, que es una pequeña proteína de unión a guanosintrifosfato (GTP), actúa como transductor inicial y común de las señales producidas por la activación de los distintos receptores de membrana. La proteína RAS tiene dos estados conformacionales, uno activo y otro inactivo. La forma activa produce la activación de la MAP-cinasa-cinasa-cinasa que se conoce también como RAF; a su vez RAF activa por fosforilación a MAP-cinasa-cinasa o MEK. Por último MEK activa a MAP-cinasa o ERK. Por tanto la estructura básica de MAPK está formada por tres cinasas (RAF, MERK, ERK) que se activan de forma secuencial. RAF y MERK son de localización citoplásmica mientras que ERK puede translocarse al núcleo donde puede fosforilar un gran número de factores de transcripción como c-jun o c-Myc (Zafón *et al.*, 2009) (Esquema 1).



Esquema 1. Vía MAPK.

Se conoce en la actualidad que la alteración de la vía MAPK es un evento precoz y necesario en la carcinogénesis del carcinoma papilar de tiroides (Fagin *et al.*, 2004). La alteración de esta vía es bastante singular en el sentido de que sólo hay un elemento de la vía mutado en un determinado tumor o, lo que es lo mismo, las mutaciones de la vía MAPK son mutuamente excluyentes (Riesco-Eizaguirre *et al.*, 2007). Hay tres elementos de esta vía que se encuentran implicados en un 70% de los casos de carcinoma papilar: el receptor tirosincinasa RET, la proteína RAS y la cinasa RAF (Melillo *et al.*, 2005).

#### 1.4.1.8.1 Alteraciones en receptores con actividad tirosincinasa

La vía MAPK se puede activar por varias señales extracelulares tales como citoquinas y factores de crecimiento, a través de la acción que ejercen sobre receptores de membrana. Entre las distintas familias de receptores capaces de activar RAS se encuentran los receptores con actividad tirosincinasa (TRK). Todos los receptores de esta familia poseen una estructura común formada por tres regiones: un dominio extracelular,

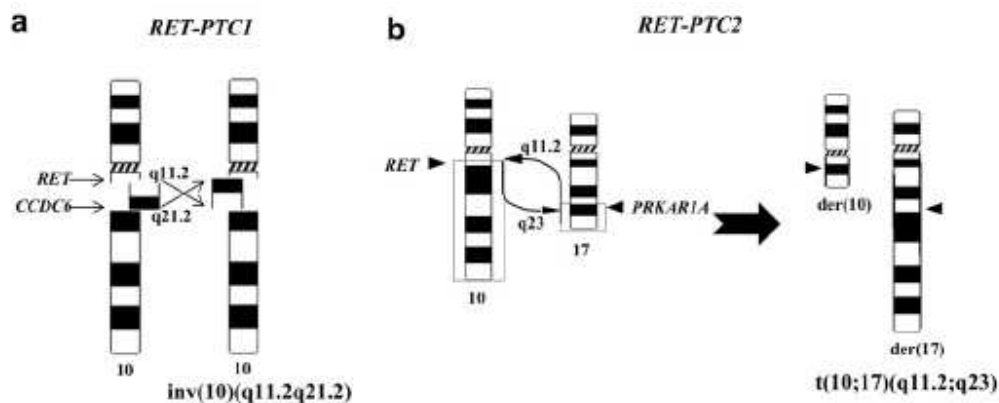
que es el lugar de unión con el ligando, un dominio transmembrana y uno intracélular, en el citoplasma celular, que posee la actividad enzimática tirosincinasa.

#### 1.4.1.8.2 Reagrupamiento RET/PTC

Un miembro de esta familia de receptores está codificado por el gen *RET*. El receptor codificado por *RET* se expresa primariamente en neuronas sensoriales del sistema simpático y del plexo entérico, así como en la yema ureteral durante la embriogénesis y es importante en la diferenciación de los espermatogonios. Las alteraciones de este gen son responsables de diferentes enfermedades humanas. La mutación de *RET* con inactividad funcional causa la agangliosis intestinal o enfermedad de Hirschprung, mientras que las mutaciones que conducen a activación producen la neoplasia endocrina múltiple tipo 2 (MEN 2A, MEN 2B), así como el carcinoma medular familiar (Arighi *et al.*, 2005; Zafon *et al.*, 2009).

En el año 1987 Fusco y cols (Fusco *et al.*, 1987) describen por primera vez la presencia, en el carcinoma papilar y sus metástasis, de una alteración cromosómica del gen *RET*, perteneciente a la familia de receptores TRK. La alteración que describen estos autores consiste en una recombinación pericentromérica del cromosoma 10, por la que se produce la fusión del dominio tirosincinasa de *RET* con el extremo 5' terminal de un gen denominado *H4* (*CCDC6*). Al gen quimérico resultante se le ha denominado *RET/PTC* y el efecto de esta alteración es la activación constitutiva de *RET* (Knauf *et al.*, 2003). Existen diferentes tipos de reagrupamientos de *RET/PTC*, contabilizándose hasta la fecha 15 variantes (Maenhaut *et al.*, 2011), todos formados por la fusión de los dominios de la tirosín cinasa del *RET* en el 10q11.2 con la secuencia terminal 5' de diferentes cromosomas, tanto en el 10q o en otros. La reagrupación más frecuente es la *RET/PTC1*, seguida por la *RET/PTC3* (por fusión con el gen *NCOA4*), mientras que el *RET/PTC2* y otros subtipos recientes son muchos más infrecuentes, representando menos del 5% del total. (Schlumberger, 1998). En general las alteraciones genéticas consistentes en translocaciones de un gen son frecuentes en las neoplasias hematolinfoides y sarcomas pero constituyen una rareza en las neoplasias epiteliales y, en este sentido, el carcinoma papilar es una excepción.





Esquema 2. Reagrupación RET/PTC.

Tomado de: P. Caria, R. Van. *Cancer Genetics and Cytogenetics* 203 (2010) 21-29.

En las últimas décadas se han realizado numerosos estudios para intentar demostrar la presencia de este reagrupamiento en tumores no tiroideos sin encontrar evidencia del mismo (Fusco *et al.*, 2007).

Los reagrupamientos que afectan al gen RET se encuentran en una alta proporción de carcinomas papilares con diferente distribución geográfica y entre las variantes histológicas (0-80%) (Nikiforov, 2002). La incidencia de esta alteración alcanza el 20-30% de los tumores papilares esporádicos, es más frecuente en los pacientes jóvenes, donde llega a ser del 45-60% y asciende al 50-80% en pacientes sometidos a irradiación (DeLellis *et al.*, 2004). La fusión del RET/PTC se produce por la proximidad espacial de los loci en los cromosomas, donde según el trabajo realizado por el grupo de M. Nikiforova, la separación entre RET y H4 en el cromosoma 10 es de 30 megabases, las cuales están frecuentemente yuxtapuestas en los núcleos de las células tiroideas, pero no en otras (Nikiforova *et al.*, 2000). Además de la proximidad espacial como factor predisponente para los reagrupamientos, se ha propuesto otra vía complementaria a la anterior, como la tendencia del tirocito a responder tras una agresión del ADN mediante la reparación del mismo, en lugar de activar la vía de la apoptosis, lo que incrementa la posibilidad de la aparición de reagrupamientos (Greco *et al.*, 2009; Pierotti *et al.*, 2006).

El tipo de reordenamiento puede tener relación con el fenotipo del tumor de tal forma que *RET/PTC1* es más frecuente en el microcarcinoma y en la forma clásica de cáncer papilar mientras que *RET/PTC3* predomina en las formas sólida y de células altas así como en los carcinomas papilares que se desarrollaron en niños, con un periodo de latencia inferior a 10 años, después de la radiación ocurrida en el accidente nuclear de

## Introducción.

Chernobyl (DeLellis RA. 2004). El carcinoma papilar oncocítico presenta reordenamientos *RET/PTC*, con una frecuencia similar a las formas no oncocíticas.

La proteína quimérica que se produce por el reordenamiento de *RET* contiene la región implicada en la transmisión de la señal de crecimiento, pero no los sitios que permiten la recepción de la señal y de anclaje a la membrana; el dominio tirosin cinasa del receptor *RET* queda intacto, lo que permite la activación de la cascada MAPK (Knauf *et al.*, 2003). Asimismo, produce la activación de la vía PI3k/ NFkB (Arighi *et al.*, 2005), además el reagrupamiento *RET/PTC1* induce la translocación hacia el núcleo de la  $\beta$ -catenina en los tirocitos del CPT (Cassinelli *et al.*, 2009).

La mayor frecuencia del reagrupamiento *RET/PTC* en el microcarcinoma papilar con respecto a las otras variantes, así como la ausencia de asociación entre éste y características de agresividad (tamaño tumoral aumentado, extensión extratiroidea, presencia de metástasis), sugieren que su función se centra en un papel promotor en la oncogénesis tiroidea, el cual no es requerido para etapas posteriores (Corvi *et al.*, 2001; Tallini *et al.*, 1998).

Las alteraciones de *RET* se consideran un evento precoz en el proceso de carcinogénesis, ya que se encuentran con frecuencia en el microcarcinoma papilar y son más frecuentes en las formas diferenciadas de carcinoma papilar que en el carcinoma pobremente diferenciado o en el anaplásico (Zafon *et al.*, 2009).

Por último, las mutaciones de *RET*, a pesar de ser tan características del carcinoma papilar, no están restringidas a un fenotipo maligno ya que también se han observado en lesiones de naturaleza benigna tales como hiperplasia nodular, adenoma folicular o tiroiditis de Hashimoto (Riesco-Eizaguirre *et al.*, 2007).

Una de las hipótesis que explicaría la asociación entre la tiroiditis de Hashimoto y la presencia de *RET/PTC* estaría sustentada en la inducción de tal expresión sobre el sistema inmunológico, el cual respondería con el infiltrado linfoide característico; y tras un segundo evento molecular posterior se desarrollaría el CPT, como se ha observado en ratones transgénicos portadores de *RET/PTC*, o bien, se originaría a partir de eventos asociados con la TH, la cual activaría el reagrupamiento *RET/PTC* en las células foliculares predispuestas (Fosco *et al.*, 2007).

#### 1.4.1.8.3 Reagrupamientos *TRK*

El gen *NTRK1* (también conocido como *TRKA*) está localizado en el cromosoma 1q21-22 (Weier HU. 1995) y codifica al receptor de alta afinidad para el NGF (factor de crecimiento neural) que regula la diferenciación y el desarrollo neural. Dicho receptor activa la ruta RAF-MEK-ERK.

Los reagrupamientos somáticos formados por el gen del receptor tirosin cinasa neurotrópico tipo 1 (*NTRK1*) (1q23) con la proteína TPR o con la tropomiosina 3 (TPM3), ambos en el cromosoma 1q25 producen oncogénes quiméricos con actividad tirosin-kinasa alterada; se han detectado en el carcinoma papilar de tiroides (Tallini, 2002) encontrándose aproximadamente en el 10% de los casos. Todos los tipos de reagrupamientos *TRK* ocurren con una frecuencia semejante, predominando el TRK-TPM3 en los casos asociados con radiación. Cabe destacar que no se han detectado alteraciones de RET y NTRK1 coexistiendo en un mismo tumor (Zafon *et al.*, 2009).

No se ha observado, hasta la fecha, la asociación entre un patrón histológico determinado y la reagrupación TRK (Greco A. 2009). Asimismo, se ha constatado que la presencia del reagrupamiento NTRK1 se relaciona con un peor pronóstico, comparados con pacientes con reagrupamientos RET o sin ningún reagrupamiento (Musholt TJ. 2000), datos experimentales sugieren que el oncogén *TRK* ejerce un papel directo y representa un evento inicial en el proceso de la oncogénesis tiroidea, precisando la cooperación de genes oncosupresores (tales como el déficit de la P27<sup>kip1</sup>) para la transformación del epitelio tiroideo (Fedele *et al.*, 2009; Greco *et al.*, 2009).

#### 1.4.1.8.4 Otros receptores Tirosincinasa TRK

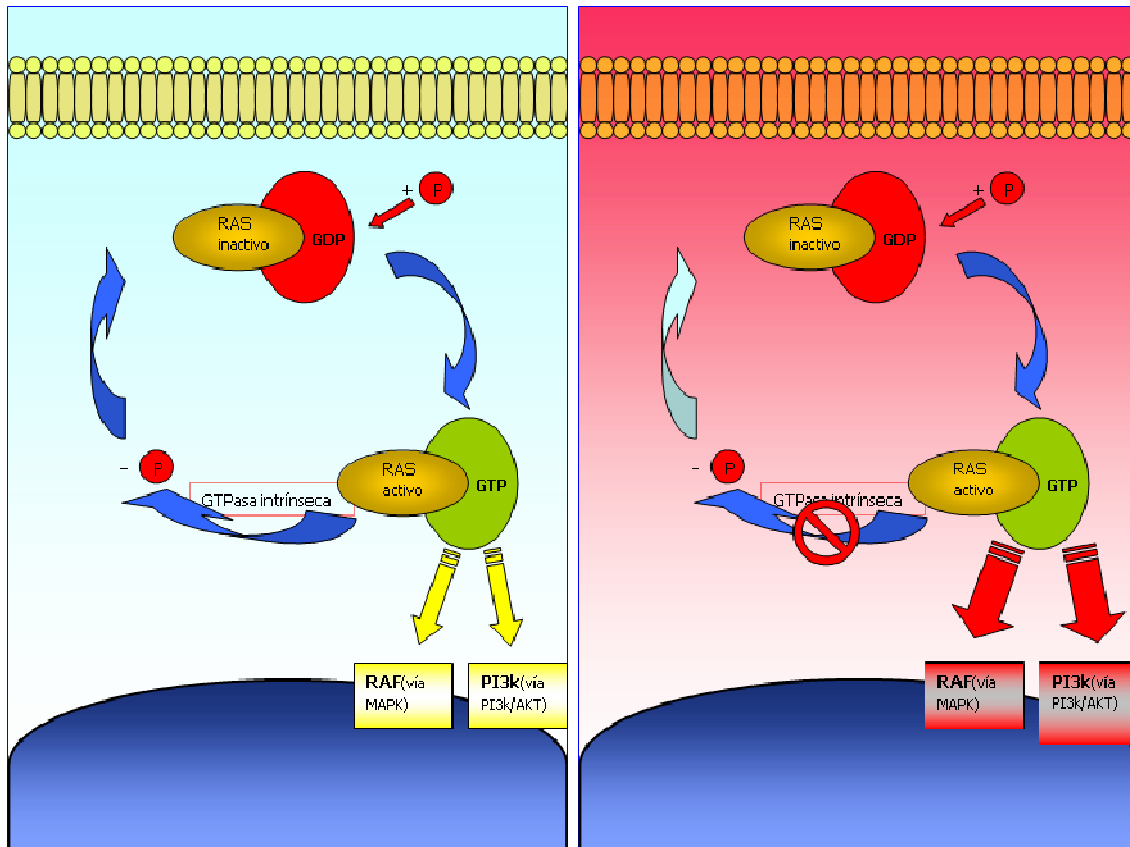
Se han implicado otros receptores en la carcinogénesis del carcinoma papilar tales como el receptor para el factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y c-met; la sobreexpresión de estos dos receptores se ha relacionado con formas más agresivas de carcinoma (Zafón *et al.*, 2009).

#### 1.4.1.8.5 Mutación *RAS*

Los oncogénes *RAS* fueron los primeros en asociarse con el cáncer de tiroides. El protooncogén *RAS* codifica una proteína, de 21 kDa, que actúa como transductor de las señales que se originan de receptores de factores de crecimiento, especialmente de los

## Introducción.

pertenecientes a la familia tirosín-cinasa. Las mutaciones de este gen condicionan una alteración en la secuencia de aminoácidos de la proteína, que tiene como consecuencia su activación constitutiva (Esquema 3). Entre sus efectos reguladores se encuentra la acción inhibitoria que ejerce sobre P27, proteína de la familia CIP/KIP que regula el ciclo celular. Así el efecto de *RAS* es un estímulo en la progresión del ciclo celular.



Esquema 3. Actuación del gen *RAS*.

Por tanto, la activación del oncogén *RAS* promueve la oncogénesis tiroidea a través de la vía MAPK o de la vía del PI3k/AKT (Greco *et al.*, 2009). La mutación de *RAS* constituye una de las alteraciones genéticas más frecuentes en el cáncer humano, encontrándose en el 30% de las neoplasias (Bos *et al.*, 1989). Los estudios más recientes han revelado una mayor frecuencia de esta mutación en los carcinomas foliculares en relación con los adenomas foliculares a diferencia de lo expuesto en estudios iniciales (Lemoine *et al.*, 1990), siendo la mutación en el codón 61 del *N-RAS* la más prevalente (Nikiforova *et al.*, 2003).

Existen tres genes dentro de la familia *RAS*: *H-RAS*, *K-RAS*, y *N-RAS*. La activación de uno de los tres protooncogénos se produce en el 10-20% de los carcinomas papilares, especialmente en la variante folicular donde se encuentra hasta en un 43% de los casos (Zhu *et al.*, 2003). Por tanto, las mutaciones de *RAS* no están restringidas a un tipo específico de tumor tiroideo; son muy frecuentes además en los carcinomas pobremente diferenciados y anaplásicos (Riesco-Eizaguirre *et al.*, 2007), si bien no puede ser usado como un marcador pronóstico general para todos los tipos de carcinomas tiroideos (Nikiforova *et al.*, 2009) (Santarpia *et al.*, 2010).

En el estudio de J. Cristofaro la mutación del *N-RAS* no tuvo correlación con indicadores pronóstico tales como la pérdida de expresión del ARNm de la TPO ni con otros datos clínicos; aunque sí fue mas frecuente en los casos de CFT que en los AF (Di Cristofaro *et al.*, 2006). Por otro lado, la asociación entre la sobreexpresión del oncogén *RAS* y la presencia de metástasis presenta un resultado controvertido entre los autores, siendo observado por unos (Fukahori *et al.*, 2012) y discutida por otros (Kim *et al.*, 2003).

Se ha argumentado que la existencia de mutación del gen *RAS* en lesiones benignas (AF) implicaría que ésta es un evento inicial en la tumorigénesis tiroidea (Namba *et al.*, 1990), sin embargo, en estudios más recientes se señala que las mutaciones de *RAS* estarían implicadas en el proceso de progresión tumoral, encontrándose más frecuentemente en los carcinomas pobremente diferenciados y en los carcinomas anaplásicos, donde llega a alcanzar el 60% de los casos (García-Rostán *et al.*, 2003; Kondo *et al.*, 2006; Riesco-Eizaguirre *et al.*, 2007).

Las mutaciones *RAS* tienen una incidencia mayor en áreas con déficit de yodo (Shi *et al.*, 1991) y son especialmente frecuentes en lesiones con patrón morfológico folicular, es decir, el AF y CF así como en la CPTv (Kondo *et al.*, 2006); por el contrario no se ha observado una frecuencia tan elevada en el CPT ni tampoco en neoplasias radioinducidas del área de Chernobyl (Suchy *et al.*, 1998).

Los patrones de las mutaciones activadoras del oncogén *RAS* son diferentes en los casos de CFT y en los CPT; así las mutaciones en el primer exón de *K-RAS* han sido observadas en el CPT, mientras que las mutaciones en el codón 61 del *H-RAS* y *N-RAS* han sido encontradas en tumores foliculares (Vasko *et al.*, 2003). Di Cristofaro encontró una prevalencia aumentada en la mutación del *N-RAS* en el codón 61 tanto en el CPTvf, como en el AF y en el CFT, lo que le indujo a pensar en un proceso biológico común en el

desarrollo de estas proliferaciones foliculares (Di Cristofaro *et al.*, 2006). Por el contrario se han encontrado mutaciones del *N-RAS* en el CPTc en muy bajo porcentaje (Namba *et al.*, 1990; Capella *et al.*, 1996).

En diferentes estudios se ha sugerido su determinación a partir de material citológico obtenido mediante PAAF con el propósito de aumentar la especificidad del diagnóstico, contribuyendo de esta forma a un mejor manejo del paciente con nódulo tiroideo, confiriendo un VPP del 87,5%, que asociado a otros marcadores moleculares tales como el RET, BRAF o PAX8/PPAR logran un VPP del 100% con una sensibilidad y especificidad para las lesiones con diagnóstico citológico indeterminado (FLUS) del 100% (Nikiforov *et al.*, 2009).

### 1.4.1.8.6 Mutación BRAF

La familia de las proteínas RAF son efectoras intercélulares de la ruta de señalización MAPK; de las tres isoformas conocidas (A-RAF, B-RAF y C-RAF – ó RAF-1- ) B-RAF es el activador más potente y predominante de dicha ruta (Mercer *et al.*, 2003).

Las mutaciones de BRAF fueron asociadas a eventos carcinogénicos desde el año 2002, a partir de los trabajos desarrollados por H. Davies *et al.*, demostrando su presencia en melanomas, cáncer de colon y ovario (Davies *et al.*, 2002), también se encuentran en una alta proporción de carcinomas papilares de tiroides, en torno al 45% (oscilando según las series del 20-83%) (Smith *et al.*, 2011); de los más de 40 tipos de mutaciones que han sido identificadas, en el 95% de los casos se produce a expensas de un solo tipo de alteración, que implica la transversión de la timina, situada en la posición 1799 de la secuencia del gen, por una adenina (T1799A); esto tiene como resultado la sustitución del aminoácido valina, localizado en la posición 600 de la proteína, por un glutamato (V600E) (Bansal *et al.*, 2010). Esta mutación, BRAF<sup>T1799A</sup> o BRAF<sup>V600E</sup>, es la principal alteración genética del carcinoma papilar, siendo detectada entre el 29 al 69% de los casos (Kimura *et al.*, 2003; Nikiforova *et al.*, 2009; Xing, 2005). La mutación BRAF<sup>V600E</sup> induce inestabilidad genómica, facilitando la adquisición de eventos genéticos secundarios, que son responsables de la progresión tumoral ulterior. Por otro lado, se asocia frecuentemente con metilaciones aberrantes de varios tipos de genes supresores (tales como *TIMP3*, *DAPK*, *SLC5A8*, *RAR β2*) (Hu *et al.*, 2006). En estudio *in vitro* se ha

constatado su capacidad para promover la resistencia a la apoptosis, favoreciendo la proliferación celular, angiogénesis, invasión y las metástasis (Araujo *et al.*, 2011).

La asociación de la expresión aumentada de BRAF en los CPT con estadio más avanzado podría estar justificada por la acción que ejerce sobre los genes reguladores del remodelamiento de la matriz extracelular, especialmente de las metaloproteínas a quienes sobrerregula (Mesa *et al.*, 2006).

A diferencia de las mutaciones de *RAS* y de las translocaciones de *RET/PTC*, las mutaciones de BRAF son casi exclusivas, dentro de la patología tiroidea, del carcinoma papilar, identificándose hasta la fecha en un único caso de CFT (Pennelli *et al.*, 2011). Los carcinomas pobremente diferenciados y anaplásicos que surgen de carcinomas papilares preexistentes también tienen con frecuencia mutaciones de BRAF, pero no los que se originan a partir de carcinomas foliculares previos. Algunos estudios (Kim *et al.*, 2012) (Nikiforova *et al.*, 2003; Trovisco *et al.*, 2006), pero no todos (Cañadas-Garre *et al.*, 2011; Lee *et al.*, 2012), han encontrado asociación de la mutación BRAF con un curso agresivo de la enfermedad, relacionándose con la variante de células altas, donde es especialmente prevalente, extensión extratiroidea, estadio avanzado en el momento del diagnóstico y presencia de afectación ganglionar o metástasis a distancia, incluso en aquellos con un estadio I o II (Kim *et al.*, 2011; Vasko *et al.*, 2005). La determinación de la mutación del BRAF se ha señalado además, en algunos estudios, como predictor independiente de recidiva tumoral incluso, en estadios iniciales (Kim *et al.*, 2006).

Uno de los mecanismos que pueden explicar el peor pronóstico de los carcinomas papilares con mutación BRAF es la menor captación de  $I^-$ , la cual está originada por la represión del transportador de yodo (NIS), que bloquea la entrada del radioyodo con una disminución patente de la efectividad del tratamiento (Hershman *et al.*, 2011).

El transportador de  $I^-/Na^+$  es una glucoproteína intrínseca de la membrana plasmática (643 aminoácidos) encargada del transporte simultáneo del  $I^-$  y el  $Na^+$  hacia el interior de la célula, el cual está presente en la glándula tiroidea, glándulas salivares, estómago y en la glándula mamaria lactante.

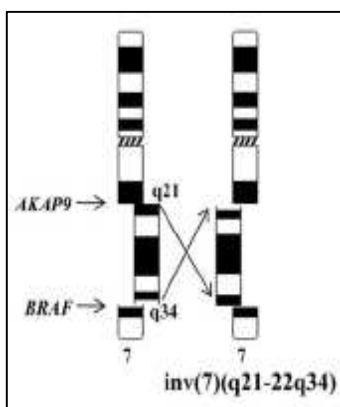
La mutación BRAF produce un aumento de la secreción del factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF  $\beta$ ) que conduce a una represión del transportador de yoduro (Riesco-Eizaguirre *et al.*, 2009).

## Introducción.

Inmunohistoquímicamente la presencia del NIS se encuentra aumentada en comparación con el tejido normal circundante, aunque pasa de tener una localización en la membrana plasmática basolateral al interior del citoplasma, perdiendo su capacidad funcional (Dohan *et al.*, 2001; Riesco-Ezaguirre *et al.*, 2007), si bien la expresión inmunohistoquímica de ésta no puede ser utilizada para predecir la capacidad funcional de captación del radioyodo (Kollecker *et al.*, 2012).

Asimismo se ha observado una mayor frecuencia de esta mutación cuando los enfermos son varones o de más edad (Cañadas-Garre *et al.*, 2011; Kebebew *et al.*, 2007; Riesco-Eizaguirre *et al.*, 2007). Sin embargo, en el carcinoma papilar infantil y juvenil así como en los casos de carcinomas papilares en niños ocurridos tras el accidente nuclear de Chernobyl, hay muy baja incidencia de mutaciones de BRAF (Nikiforova *et al.*, 2004).

Las mutaciones de BRAF se consideran un evento iniciador del proceso neoplásico



Esquema 4 Representación de la translocación BRAF-AKAP9. Tomado de: Caria P. *Cáncer Genetics and Cytogenetics* 203 (2010) 21-29

ya que se encuentran en microcarcinomas papilares (Nikiforova *et al.*, 2003). Además de la mutación BRAF<sup>T1799A</sup>, con mucho la más frecuente, pueden existir otras como la BRAF<sup>K601E</sup> la cual ha mostrado un frecuencia del 7% en el CPT variante folicular (Trovisco *et al.*, 2006) y, todas ellas, son casi siempre mutuamente excluyentes con respecto a las mutaciones de RAS y los reordenamientos RET/PTC.

La proteína BRAF también puede ser activada por reagrupamiento AKAP9-BRAF, originado a partir de una inversión paracéntrica en el cromosoma 7q, encontrada en el 7% de los CPT con historia de exposición a radiación (Esquema 4). La oncoproteína AKAP9-BRAF contiene el dominio proteincinasa sin el dominio amino-terminal autoinhibitorio, lo que confiere una elevada actividad cinasa y transformante comparable a la oncoproteína BRAF<sup>V600E</sup> (Ciampi *et al.*, 2005; Greco *et al.*, 2009).

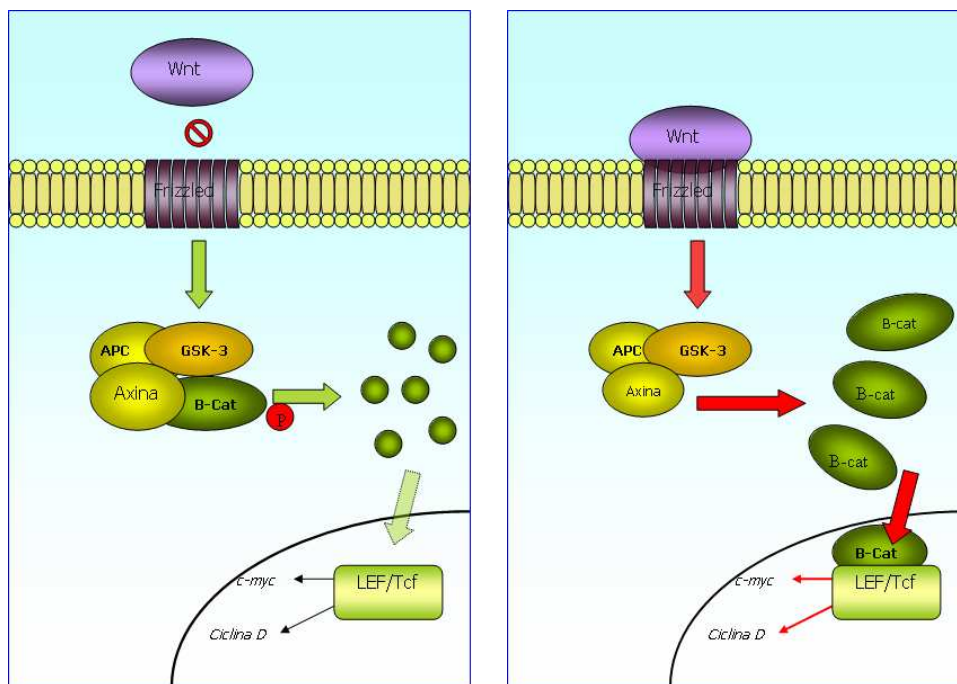
Aunque la determinación de la BRAF<sup>T1799A</sup> en la rutina diagnóstica, en material obtenido por PAAF puede no ser coste-efectivo en la población general, su valoración en aquellos pacientes seleccionados con un nódulo sospechoso sin duda aporta un mayor rendimiento y facilita la valoración y el manejo preoperatorio, con la consiguiente



disminución del número de PAAFs no diagnósticas, recurrencias, reintervenciones y morbilidad (Mekel *et al.*, 2010; Nikiforov *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2011; Xing *et al.*, 2009).

#### 1.4.1.8.7 $\beta$ -Catenina

Es una proteína de 92 kDa, codificada por el gen *CTNNB1* (cromosoma 3P21) (Xu *et al.*, 2003) con una actividad dual. En primer lugar juega un papel crítico en el mantenimiento de la adhesión celular y por otro participa en la promoción del crecimiento tumoral. Se encuentra distribuida en tres compartimentos celulares distintos; en membrana (formando parte del complejo de adhesión celular cadherina-catenina); en el citoplasma (en forma libre o asociada a otras proteínas como la APC, axina y GSK3 $\beta$ ); o en el núcleo (unida a factores de transcripción de la familia LEF-Tcf) (Lodish *et al.*, 2002).



Esquema 5. Vía de señalización de la  $\beta$ -catenina

Diferentes caminos pueden conducir a un aumento de la  $\beta$ -catenina a nivel citoplasmático tales como anomalías de la vía de degradación, activación de la vía Wnt, mutaciones en los genes APC,  $\beta$ -catenina o TRK (Rezk *et al.*, 2004).

En ausencia de señales de WNT, la  $\beta$ -catenina es capturada y fosforilada a través de un complejo macromolecular formado por cinasas GSK3 (Glucógeno sintasa cinasa-3),

## Introducción.

APC (proteína de la poliposis adenomatosa coli) y axina que la conducen hacia su degradación mediante la ubiquitinización y posterior destrucción por el proteasoma (Behrens *et al.*, 1999). Por el contrario, ante la presencia de señales WNT que a través de los receptores de superficie celular frizzled (FRZ) inhiben la acción de la GSK3/APC dando como resultado el bloqueo de esta vía de degradación, por lo que se acumula en el citoplasma migrando hacia el interior del núcleo donde actúa como un factor de transcripción bipartito con los miembros de la familia de las proteínas LET-Tcf (Abbosh *et al.*, 2005) actuando como efector transcripcional de Wnt (Fagin *et al.*, 2008); asimismo, interactúa con otros factores de transcripción tales como el PITX2, para activar la expresión de genes implicados en la proliferación celular (*c-Myc*, *ciclina D1*, entre otros) (Esquema 5) (Huang *et al.*, 2010; Kiousi *et al.*, 2002). La sobreexpresión de la  $\beta$ -catenina es el resultado de mutaciones genéticas tales como la RET y TR $\beta$ PV (Castellone *et al.*, 2009; Guigon *et al.*, 2008).

La localización nuclear y, por tanto, la actividad transcripcional promotora del crecimiento de  $\beta$ -catenina puede aumentarse cuando no se produce la unión a caderina, por ejemplo por disminución en la expresión de cadherina, o cuando la señalización para ser ubiquitinizada a través de GSK-3-axina-APC es defectuosa (por mutaciones en *APC* o por mutaciones en *CTNNB1* que alteran los lugares de fosforilación y conducen a la estabilización de la proteína) o por mayor actividad de la vía Wnt. Las mutaciones de línea germinal en el gen *APC* son responsables de la poliposis adenomatosa familiar y síndrome de Gardner que confiere un marcado aumento en el riesgo de desarrollar carcinoma papilar de tiroides (Cetta *et al.*, 2000).

El tejido tiroideo normal tiene una expresión alta de E-cadherina, pero disminuye en los carcinomas tiroideos indiferenciados (von Wasielewski *et al.*, 1997). De igual forma, las mutaciones de  $\beta$ -catenina que conduzcan a la localización nuclear de la proteína se observan en los carcinomas pobremente diferenciados y en el anaplásico (25 y 65% de los casos). Estos dos cambios parecen estar asociados por tanto a desdiferenciación y progresión tumoral.

En los carcinomas diferenciados se han observado mutaciones somáticas del gen *CTNNB1* que codifica la  $\beta$ -catenina y del gen *APC* solamente en la variante cribiforme de carcinoma papilar, asociado a poliposis adenomatosa familiar pero no en el carcinoma papilar convencional (Cameselle-Teijeiro *et al.*, 2001). La localización aberrante

citoplásmica y nuclear de  $\beta$ -catenina se correlaciona en líneas celulares de cáncer de tiroides con la sobreexpresión de sus genes diana, tales como *c-MYC* o ciclina D1 (Ishigaki *et al.*, 2002) y es característico del carcinoma papilar asociado a poliposis adenomatosa familiar (Kurihara *et al.*, 2000; Lloyd *et al.*, 2011).

En los cánceres la vía de la  $\beta$ -catenina está fuertemente activada por mutaciones, relacionándose con la pérdida de la adhesión y potencial metastásico. Esta mutación somática se ha observado en la variante cribiforme pero no en otros tipos del carcinoma papilar (Xu *et al.*, 2003).

#### 1.4.1.9 Pronóstico

El carcinoma papilar presenta un pronóstico excelente con una supervivencia del 90% a los 10 años, ascendiendo al 98% en pacientes jóvenes. La presencia de áreas foliculares dentro del carcinoma papilar de tiroides no implica cambio en el pronóstico.

Los datos clínicos que se correlacionan con el pronóstico, son: la edad, el tamaño tumoral, la afectación extratiroidea, la extirpación quirúrgica completa y la presencia de metástasis a distancia. Desde el punto de vista histológico las variantes de células altas y columnares son las que tienen peor pronóstico; la observación, en el examen histológico, de invasión vascular y/o atipia puede tener también un significado pronóstico adverso. El efecto negativo que tiene la edad avanzada sobre el pronóstico se acentúa por el hecho de que en los enfermos mayores los tumores suelen ser más grandes y es frecuente la extensión extratiroidea (DeLellis *et al.*, 2004).

#### 1.4.2 Carcinoma Folicular

La definición que para este tipo de carcinoma establece la OMS es la de "tumor maligno epitelial mostrando evidencia de diferenciación folicular y sin las características nucleares diagnósticas del carcinoma papilar" (DeLellis *et al.*, 2004).

##### 1.4.2.1 Epidemiología

El carcinoma folicular constituye el 10-15% de todos los tumores tiroideos, es más frecuente en mujeres, con un pico de incidencia sobre la quinta década. El pico de

incidencia del carcinoma folicular oncocítico es unos 10 años más tarde. A diferencia del carcinoma papilar, el carcinoma folicular no suele presentarse en la infancia.

#### 1.4.2.2 Etiología

En la génesis de esta forma de carcinoma se implican factores genéticos, irradiación y el déficit de yodo. Como se ha comentado en el apartado 1.1 de epidemiología, se ha constatado un aumento de su frecuencia en aquellas áreas con déficit de yodo y, en este mismo sentido, se ha observado que después de la introducción de profilaxis con sal yodada, en las áreas endémicas de bocio, se produce una modificación en la frecuencia relativa de los distintos tipos de carcinomas tiroideos, con aumento de los carcinomas papilares y disminución de los foliculares (Williams *et al.*, 1977), disminuyendo su frecuencia desde el 25-40% en las áreas con déficit de yodo hasta el 5% del total de tumores tiroideos en las regiones con aporte de yodo en la dieta (LiVolsi *et al.*, 2004).

#### 1.4.2.3 Hallazgos clínicos

Lo más habitual es que se presente clínicamente como una masa intratiroidea, sin otros síntomas, y como un nódulo frío en la gammagrafía. Con frecuencia las lesiones iniciales son de mayor tamaño que en el caso del carcinoma papilar y, a diferencia de este, no suele haber metástasis en los ganglios linfáticos. En caso de tumores ampliamente invasivos (ver más adelante) pueden darse síntomas tales como ronquera, disfagia y disnea. Puede haber metástasis a distancia, en el momento de la presentación clínica, hasta en un 20% de los enfermos, en algunas series, que afectan principalmente al pulmón y hueso. Los carcinomas oncocíticos tienen una presentación clínica semejante pero en ellos es más frecuente la afectación ganglionar, es mayor la propensión a sufrir recidivas locales y es más probable que se produzca la muerte del enfermo por invasión local. La incidencia acumulativa de metástasis es también ligeramente mayor para el tipo oncocítico (DeLellis *et al.*, 2004).

#### 1.4.2.3.1 Diagnóstico

A diferencia de lo que ocurre con las otras formas de carcinomas tiroideos, no es posible hacer un diagnóstico de certeza del carcinoma folicular de tiroides en la PAAF. Los aspirados citológicos son generalmente hipercélulares y las células presentan habitualmente disposición microfolicular (grupos de 6 a 12 células dispuestas en anillo) con escaso coloide. No presentan rasgos nucleares característicos, a diferencia del carcinoma papilar, y la atípia citológica no constituye un criterio de malignidad, ya que muchos carcinomas foliculares carecen de ella y, por el contrario, puede estar presente en lesiones benignas. El diagnóstico de malignidad depende de la demostración de invasión, capsular y/o vascular, algo que sólo puede hacerse en el estudio histológico.

En la nomenclatura de Bethesda, propuesta por El Instituto Nacional del Cáncer (NCI), las lesiones con patrón folicular en la PAAF pueden dividirse en dos categorías: lesión folicular de significado incierto/atípia de significado indeterminado y sospechoso de neoplasia folicular/neoplasia folicular. Los enfermos con el primer diagnóstico pueden beneficiarse de PAAFs repetidas, para intentar conseguir un diagnóstico definitivo. En el segundo caso los enfermos deben ir a cirugía para establecer un diagnóstico histológico de adenoma frente carcinoma folicular (Baloch *et al.*, 2008<sup>c</sup>; Faquin *et al.*, 2010).

#### 1.4.2.4 Hallazgos macroscópicos

Los carcinomas foliculares son generalmente sólidos y bien delimitados con contornos netos, de forma redondeada u ovoide, y de más de un centímetro de dimensiones máximas.

La variante mínimamente invasiva (ver más adelante) es indistinguible macroscópicamente del adenoma folicular, con la salvedad de que el carcinoma folicular tiende a tener una cápsula más irregular y gruesa. En las formas ampliamente invasiva (ver más adelante) puede a veces reconocerse macroscópicamente invasión de la cápsula o de vasos aunque algunas veces estas formas carecen de cápsula. A diferencia del carcinoma papilar la multifocalidad es infrecuente así como la afectación de ganglios regionales (DeLellis *et al.*, 2004).

#### 1.4.2.5 Hallazgos microscópicos

A microscopia óptica muestran un patrón morfológico variable que va desde folículos bien formados que contienen coloide hasta un patrón de crecimiento sólido o trabecular. Pueden a veces coexistir patrones distintos y algunos de ellos pueden ser atípicos, pero ni la existencia de atípicidad citológica ni arquitectural son criterios suficientes de malignidad, ya que también puede observarse en lesiones benignas, como se ha comentado anteriormente en el apartado de diagnóstico.

Los criterios principales para diagnosticar este tipo de tumores son la invasión capsular, que debe ser valorada en aquellas zonas con clara penetración del tumor sin estar asociadas a zonas de punción previa, y la invasión vascular, definida como la presencia de células tumorales dentro de una estructura vascular completamente rodeadas por endotelio o asociadas a la presencia de un trombo. Los vasos afectados deben estar dentro de la cápsula o por fuera de la misma (DeLellis *et al.*, 2004).

Los carcinomas foliculares se han dividido clásicamente de acuerdo al grado de invasión en dos grandes categorías denominadas como carcinoma folicular mínimamente invasivo y carcinoma folicular ampliamente invasivo. El primero muestra una invasión limitada a la cápsula y/o a los vasos de la misma. El carcinoma ampliamente invasivo muestra fenómenos de invasión claros al parénquima tiroideo adyacente y a las estructuras vasculares. La probabilidad de comportamiento agresivo incrementa con el grado de invasión vascular. Los tumores que sólo tienen invasión capsular conllevan un riesgo prácticamente inexistente de recidiva o metástasis (Piana *et al.*, 2010), este riesgo es bajo en los que tienen mínima invasión vascular y se incrementa mucho para los que tienen una importante invasión vascular (DeLellis *et al.*, 2004).

#### 1.4.2.6 Variantes histológicas del carcinoma folicular de tiroides

##### 1.4.2.6.1 Variante oncocítica

En la clasificación de la OMS el carcinoma oncocítico se considera como una variante de carcinoma folicular, se aconsejan los mismos criterios para distinguirlo de su variante benigna -adenoma oncocítico- y se subdivide en las mismas formas mínimamente invasiva y ampliamente invasiva que la forma clásica (DeLellis *et al.*, 2004). Se incluyen en la categoría de carcinoma folicular oncocítico (carcinoma de células de Hürthle o de células

oxífilas) los que están formados, exclusiva o mayoritariamente por células oncocíticas (más del 75%). Para otros autores constituye una entidad diagnóstica diferenciada con un comportamiento clínico y biológico propio (Rosai, 2011).

Suponen el 3-4% de todos los tumores malignos del tiroides, son más frecuentes en mujeres y la edad media de presentación está alrededor de los 60 años. Esta variante oncocítica muestra una mayor incidencia de metástasis ganglionares, 30%, a diferencia de la variante clásica.

En el examen macroscópico esta neoplasia tiene un color marrón caoba muy característico y es muy frecuente que sufran infarto, especialmente después de realizar una PAAF. En el estudio microscópico el patrón de crecimiento puede ser folicular, sólido o trabecular; las formas sólidas o trabeculares muestran escaso o nulo coloide. En general, los núcleos son hipercromáticos y pleomórficos con nucleólos prominentes eosinófilos; cuando hay coloide, es frecuente que sea basófilo y que se formen en él anillos concéntricos de material cálcico, que le dan una apariencia semejante a los cuerpos de psammoma. Los citoplasmas son intensamente eosinófilos y de apariencia granular y algunos tumores pueden tener áreas de células claras. Esta apariencia es consecuencia del incremento en el número y tamaño de las mitocondrias, como se puede observar en el análisis ultraestructural (DeLellis *et al.*, 2004).

#### 1.4.2.6.2 Variante de células claras

Algunos carcinomas foliculares pueden estar formados mayoritariamente por células claras que deben esta apariencia a su contenido en glucógeno, mucina, lípidos o mitocondrias dilatadas. Estas células claras pueden ser especialmente prominentes en los tumores oncocíticos (DeLellis *et al.*, 2004). De igual forma, se pueden observar células en anillo de sello como componente focal o difuso de lesiones foliculares, sin que su observación implique, necesariamente, malignidad. La apariencia en anillo de sello se debe a la formación de luces intracitoplasmáticas (Schröder *et al.*, 1985).

#### 1.4.2.6.3 Otras variantes del CFT no incluidas en la actual clasificación de la OMS (2004)

##### Variante glomeruloide

Tumor parcialmente encapsulado con imágenes de angioinvasión netas, constituido por un patrón de crecimiento arquitectural peculiar, que se caracteriza por la presencia de folículos con células redondeadas u ovals con una disposición en penacho con un eje fibrovascular que imita morfológicamente la arquitectura glomerular.

Los folículos están llenos de coloide con una disposición tubular o elongada y tapizados por células columnares alargadas pseudoestratificadas con citoplasma claro mostrando vacuolas subnucleares. Los núcleos son redondeados u ovals con una distribución uniforme, de cromatina finamente dispersa y nucleolos ocasionalmente visibles o ausentes. Muestra escasa atipia y un bajo índice proliferativo, asimismo, tampoco muestra focos de necrosis (Cameselle-Teijeiro *et al.*, 2008).

#### 1.4.2.7 Alteraciones genéticas del carcinoma folicular de tiroides

##### 1.4.2.7.1 Desequilibrio cromosómico

El estudio por hibridación genética comparativa y citogenética ha sugerido la implicación de varios cromosomas, tales como: 2, 3p, 6, 7q, 8, 9, 10q, 11, 13q, 17p y el cromosoma 22 en el carcinoma folicular (DeLellis *et al.*, 2004; Nikiforova *et al.*, 2003).

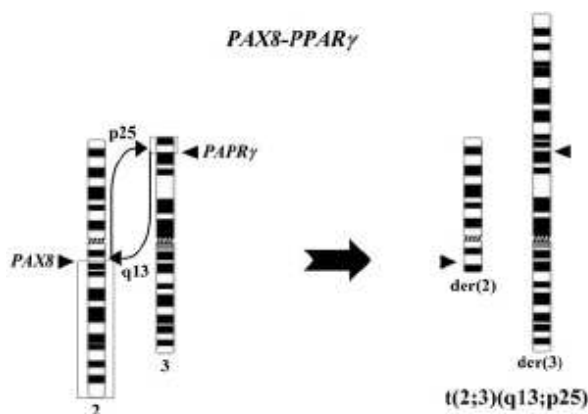
En las neoplasias foliculares de tipo oncocítico se han observado con frecuencia desequilibrios en el DNA cromosómico consistentes sobre todo en modificaciones en el número de cromosomas (DeLellis *et al.*, 2004) y, de igual forma, la existencia de mutaciones somáticas y variaciones secuenciales en el DNA mitocondrial. Estos cambios se han demostrado también en el tejido tiroideo no tumoral lo que sugiere que estas alteraciones pueden estar condicionadas por determinados polimorfismos (DeLellis *et al.*, 2004).



#### 1.4.2.7.2 Vía fosfatidilinositol 3-kinasa (PI3K)/AKT

La activación de *AKT* regula la función de muchas proteínas y, por tanto, es crucial para muchas de las funciones celulares tales como la proliferación y supervivencia celular. Las alteraciones de la vía PI3K/AKT son frecuentes en los tumores humanos. La activación constitutiva de esta vía puede ocurrir por mutaciones de los genes *PIK3CA* o *AKT*, que codifican respectivamente a PI3K y AKT, o por mutaciones con resultado de inactivación de componentes de la vía que inhiben a AKT tales como PTEN. El incremento en el riesgo de padecer carcinoma de tiroides, sobre todo folicular, que ocurre en el síndrome de Cowden es una prueba de que esta vía puede, en algunas ocasiones, estar implicada en el desarrollo del carcinoma de tiroides. Este síndrome está caracterizado por hamartomas que pueden ocurrir en diversos órganos, lesiones benignas del tiroides como adenomas y bocio así como mayor riesgo para el desarrollo de diversos tipos de cáncer tales como los de mama y tiroides entre otros; se produce por una mutación de línea germinal del gen PTEN. En los carcinomas tiroideos esporádicos no se ha demostrado que las mutaciones de este gen estén implicadas en su génesis pero si se ha demostrado, tanto en adenomas como en las distintas formas de carcinoma de tiroides delección homocigótica de PTEN, especialmente en el carcinoma anaplásico (Greco *et al.*, 2009; Segev *et al.*, 2003).

La expresión y activación de AKT está aumentada en el carcinoma de tiroides especialmente en la variante folicular (Ringel *et al.*, 2001). Igualmente, se han demostrado mutaciones somáticas de la subunidad catalítica de PI3K, *PI3KCA*, en el carcinoma anaplásico y con menor frecuencia en el carcinoma folicular (Garcia-Rostan *et al.*, 2005; Hou *et al.*, 2007).



Esquema 6 Modelo de translocación PAX8-PPAR $\gamma$

#### 1.4.2.7.3 Reordenamientos de *PPAR $\gamma$*

El reordenamiento *PAX8-PPAR $\gamma$* , identificado a inicios de 1989 (Bondeson *et al.*, 1989), surge como consecuencia de la translocación equilibrada  $t(2;3)(q13;p25)$  (Esquema 6), cuyo efecto carcinogénico ocurre por la pérdida de la función

transcripcional propia de *PAX8* (gen de homeosecuencia pareado) y *PPAR $\gamma$*  (gen del

## Introducción.

receptor activado por el proliferador del peroxisoma) en su forma reordenada (Kroll *et al.*, 2000).

El *PAX8* es un regulador esencial en la diferenciación final de las células tiroideas, controlando la expresión de NIS, tiroglobulina y del receptor de TSH (Araujo *et al.*, 2011). Por su parte *PPAR $\gamma$*  es un integrante de la familia de los receptores nucleares esteroideos/ti-roideos, de los que hay tres subtipos ( $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\delta$ ). El *PPAR $\gamma$*  actúa como regulador de la adipogénesis y juega un papel principal en la sensibilización de la insulina, además se le ha adjudicado recientemente un papel potencial en la oncogénesis (Eberhardt *et al.*, 2010; Krishnan *et al.*, 2007).

En un 25-50% de los carcinomas foliculares se producen reordenamientos de *PPAR $\gamma$*  (peroxisome proliferators-activated receptor gamma) que dan lugar a varias proteínas de fusión, la más frecuente de las cuales es *PAX8-PPAR $\gamma$*  (Dwight *et al.*, 2003). Esta alteración se encuentra en una altísima proporción de casos de carcinoma folicular con antecedentes de exposición a radiaciones ionizantes (Nikiforova *et al.*, 2002). La reagrupación *PAX8/PPAR $\gamma$*  también ha sido detectada en el CPT variante folicular (Castro *et al.*, 2006).

En los últimos años se ha identificado otro reagrupamiento, *CREB3L2-PPAR $\gamma$* , resultante de la translocación entre el cromosoma 3p25 y el cromosoma 7q34 (Lui *et al.*, 2008), que al igual que la proteína de fusión *PAX8/PPAR $\gamma$*  (PPFP) incluye la fracción completa de la *PPAR $\gamma$* .

Varios estudios han puesto de manifiesto el papel oncogénico de la PPFP en el CFT, reduciendo la apoptosis, aumentando el crecimiento, la viabilidad y la proliferación celular (Gregory Powell *et al.*, 2004; Lui *et al.*, 2008). La sobreexpresión tanto de la PPFP como de la *CREB3L2/PPAR $\gamma$*  estimulan la proliferación de la células tiroideas, sugiriendo que la fracción común a ambas, *PPAR $\gamma$* , es un componente esencial en el mecanismo de acción del dominio oncogénico de éstos genes de fusión (Eberhardt *et al.*, 2010).

En el trabajo de Nikiforova y cols (Nikiforova *et al.*, 2003), en el que se hace un estudio comparativo entre los tumores foliculares con reordenamientos de *PPAR $\gamma$*  y aquellos con mutaciones de RAS, se encuentra que los primeros se dan en enfermos más jóvenes y son más pequeños, aunque más invasivos que los segundos, que tienen en cambio un tamaño mayor y ocurren en personas de más edad. Los tumores con reordenamientos *PPAR $\gamma$*  suelen ser positivos inmunohistoquímicamente para galectina y

negativos para HBME-1 mientras que en los que albergan mutaciones de RAS ocurre lo contrario (Nikiforova *et al.*, 2003).

El reagrupamiento PAX8-PPAR $\gamma$  se ha propuesto como marcador para el carcinoma folicular aunque carece de una adecuada sensibilidad, encontrándose en el 25-63% de los casos; asimismo se ha observado en el 0-31% de los adenomas foliculares (Kondo *et al.*, 2006; Nikorofova *et al.*, 2002; Rezk *et al.*, 2005) y en la variante folicular del carcinoma papilar (37,5%) (Riesco-Eizaguirre *et al.*, 2007).

Otro miembro de la familia de la PPAR, PPAR $\delta$ , puede estar implicado como regulador en la proliferación de las células tiroideas y estaría sobrerregulado en muchos tumores tiroideos (AF, CPT, CAT), en los que induciría la proliferación celular a través de mecanismos dependientes de la ciclina E1 (Zeng *et al.*, 2008).

#### 1.4.2.7.4 Mutaciones de *RAS*

Las mutaciones puntuales de *RAS* se encuentran en un 20-50% de los carcinomas foliculares pero también en adenomas foliculares y en carcinomas papilares. Estas mutaciones y los reordenamientos de *PPAR $\gamma$*  parecen definir vías independientes en la carcinogénesis de las neoplasias foliculares (DeLellis *et al.*, 2004) (ver apartado anterior: Alteraciones genéticas del CPT).

#### 1.4.2.7.5 *TP53* Y *PTEN*

Las mutaciones de estos genes pueden contribuir a la progresión de las formas bien diferenciadas a formas pobremente diferenciadas (DeLellis *et al.*, 2004) (ver apartado anterior 1.3.3.3.2).

#### 1.4.2.8 Pronóstico

Depende del tipo macroscópico e histológico. En general los carcinomas minimamente invasivos tienen una mortalidad muy baja y las curvas de supervivencia se aproximan a la de la población general, ajustada por edad y sexo (DeLellis *et al.*, 2004). La mortalidad a largo plazo para las formas ampliamente invasivas es del 50% y la probabilidad de metástasis mucho más alta. Como en el carcinoma papilar los factores pronósticos negativos son edad mayor de 45 años, tamaño tumoral, extensión local y

metástasis. El efecto adverso sobre el pronóstico de la presencia de cambio oncocítico es sin embargo discutido (DeLellis *et al.*, 2004)

### 1.4.3 Carcinoma Pobrementemente Diferenciado

Es una entidad poco frecuente con un curso clínico agresivo, la cual posee unas características histológicas, biológicas y clínicas distintivas, reconocida como entidad propia por primera vez en la actual clasificación de la OMS (De Lellis *et al.*, 2004). Parece tener una mayor incidencia en áreas con déficit de yodo, con una oscilación de entre el 1% en Japón al 15% en el norte de Italia (Asioli *et al.*, 2010). Clínicamente se presentan en el momento del diagnóstico con extensión extratiroidea en el 60% de los casos, metástasis linfáticas o a distancia relativamente frecuentes (García-Rostan *et al.*, 2011), y tendencia a la recurrencia, presentando una supervivencia a los 5 años del 50%.

Macroscópicamente muestran límites expansivos con bordes infiltrativos, extensión extratiroidea e invasión vascular, oscilando su tamaño entre 1,5 a 8,5 cm.

Se define como una combinación de hallazgos arquitecturales y citomorfológicos. Los criterios diagnósticos lo definen como un carcinoma tiroideo no papilar ni folicular, productor de tiroglobulina, con rasgos citológicos de alto grado (presencia de necrosis y mitosis) junto con la existencia de un patrón de crecimiento trabecular o sólido que pueden coexistir con un patrón insular. La proporción del patrón arquitectural varía según los autores entre el 20 a más del 50% para catalogar a un tumor tiroideo dentro de este grupo.

Junto al patrón arquitectural debe sumarse, además de la ausencia de los hallazgos nucleares propios del carcinoma papilar, al menos, unos de los tres criterios citomorfológicos siguientes que incluyen: núcleos convolutos tipo "pasa", actividad mitótica igual o superior a 3 por 10 campos de gran aumento y presencia de necrosis (Volante *et al.*, 2007). Para algunos autores la positividad frente a la P53 o un índice proliferativo superior al 15% podría ser un complemento en el caso de no presentar ninguno de estos tres criterios citomorfológicos.

Aunque con el algoritmo del Consenso de Turín se ha disipado parte de las dudas que permanecían desde la clasificación de la OMS, en cuanto al diagnóstico diferencial con la variante sólida del CPT, aún permanece un área borrosa entre el carcinoma pobremente

diferenciado y la variante ampliamente invasiva del CFT con patrón de crecimiento sólido/trabecular (García-Rostan *et al.*, 2011).

Desde el punto de vista inmunohistoquímico no muestra unos rasgos característicos que permitan diferenciarlo del resto de las lesiones neoplásicas foliculares. El uso de estas técnicas puede ser útil para el diagnóstico diferencial con el carcinoma medular o con carcinomas metastásicos.

Desde el punto de vista histopatológico está ampliamente aceptado que el carcinoma de tiroides pobremente diferenciado puede desarrollarse de novo o a partir de la dediferenciación de un CPT o CFT previamente existente. Asimismo se ha confirmado que éste puede progresar hasta una forma indiferenciada.

En los estudios realizados en los últimos años mediante técnicas de biología molecular se han identificado alteraciones en la vía MAPK y PI3K/AKT. Por otro lado se ha constatado una alta prevalencia de mutaciones del oncogén *RAS* oscilando del 18-63%, lo que se relaciona con un peor pronóstico (García-Rostan *et al.*, 2003). Asimismo, se ha observado muy escasa prevalencia de mutaciones *BRAF*, y de reagrupamientos *RET/PTC*, apoyando la idea de que estos eventos no forman parte protagonista en el desarrollo de esta neoplasia y que probablemente están restringidos a aquellos tumores originados a partir del CPT (García-Rostan *et al.*, 2011). Por otro lado, no se han evidenciado reagrupamientos *PAX8/PPAR $\gamma$* .

El carcinoma pobremente diferenciado puede albergar, adicionalmente, mutaciones genéticas de la *P53* y la  $\beta$ -catenina (*CTNNB1*) así como del gen *PTEN*, que conduce a la inactivación de su actividad supresora tumoral (Gianoukakis *et al.*, 2011).

#### 1.4.4 Carcinoma Indiferenciado (Anaplásico)

Neoplasia de origen folicular altamente maligna constituida parcial o totalmente por células indiferenciadas con rasgos inmunohistoquímicos y ultraestructurales de diferenciación epitelial (DeLellis *et al.*, 2004). Afecta a poblaciones de edad avanzada y tiene un discreto predominio en el sexo femenino. Su frecuencia es mayor en regiones de bocio endémico y también mayor en Europa que en América. La tasa de mortalidad para esta forma de carcinoma es superior al 90% y la supervivencia media desde el diagnóstico es de unos 6 meses (DeLellis *et al.*, 2004).

## Introducción.

Se caracteriza por un crecimiento rápido, expansivo, con signos de dificultad respiratoria, disfagia, parálisis de las cuerdas vocales, presentando en el momento del diagnóstico metástasis en el 43% de los casos (Wiseman *et al.*, 2007).

El estudio microscópico revela que se trata de un tumor ampliamente invasivo con áreas de necrosis y hemorragia frecuentes, con ocupación de todo el parénquima tiroideo y, en muchos casos, de las estructuras vecinas. Está formado por una mezcla de células fusiformes, pleomórficas, células gigantes y epitelioides que a veces pueden mostrar diferenciación escamosa. Son frecuentes las mitosis y la invasión vascular. Si predominan las células fusocelulares pueden adoptar una apariencia sarcomatoide y, dependiendo del patrón que adopten, plantear el diagnóstico diferencial con diversos sarcomas (DeLellis *et al.*, 2004).

Datos clínicos, patológicos y experimentales han demostrado la evolución del carcinoma anaplásico a partir de un carcinoma diferenciado preexistente, si bien los mecanismos moleculares que subyacen en este camino están en gran parte por definir (Wiseman *et al.*, 2007).

El carcinoma indiferenciado de tiroides muestra sobreexpresión de ciclina D1, disminución de P27 e inactivación de PTEN y p16. La mutación más frecuente es la de TP53 en el 52% de los casos (Lam *et al.*, 2000) aunque también se ha descrito otras como de  $\beta$  catenina (*CTNMB1*) (Wiseman *et al.*, 2006).

Igualmente se ha identificado la sobreexpresión de otros marcadores en este tipo de tumores, comparados con los carcinomas de tiroides bien diferenciados, como el Ki67 y la topoisomerasa II $\alpha$  donde la expresión de esta última se correlaciona con la respuesta clínica frente a los agentes quimioterápicos empleados en el tratamiento (Wiseman *et al.*, 2007).

Por otro lado, la proteína inhibidora de la cinasa Raf-1 (RKIP) está implicada como modulador de varias vías de transducción (entre ellas la vía MAPK), así como en el control del crecimiento, diferenciación, apoptosis y migración celular, se encuentra completamente inhibida en este tipo de tumores (a diferencia de los carcinomas bien diferenciados y del tejido tiroideo normal donde sí se expresa) (Kim *et al.*, 2010).

### 1.4.5 Carcinoma Escamoso

Tumoración compuesta por células de hábito escamoso malignas que afecta mayoritariamente a ancianos y predomina en el sexo femenino. Muestra un crecimiento

rápido y síntomas compresivos asociados. Puede afectar a uno o a los dos lóbulos tiroideos. Macroscópicamente suele presentar coloración blanquecino-grisácea y áreas de necrosis.

Para clasificar a una neoplasia como perteneciente a esta categoría se requiere que todo el tumor esté constituido exclusivamente por células escamosas malignas.

Inmunohistoquímicamente suele ser positivo para citoqueratina 19, a veces focalmente positivo para CK7 y CK18 así como un alto índice proliferativo y expresión aumentada de P53. El pronóstico es semejante al del carcinoma anaplásico (DeLellis *et al.*, 2004).

#### 1.4.6 Carcinoma Mucoepidermoide

Neoplasia epitelial que muestra una combinación de componentes epidermoide y mucinoso (DeLellis *et al.*, 2004). Es más frecuente en el sexo femenino y, a semejanza de lo que ocurre en el carcinoma papilar, con el que comparte la mayoría de sus rasgos epidemiológicos, se asocia con exposición a la radiación en edades tempranas. Macroscópicamente se caracteriza por mostrar un límite bien definido sin cápsula y con ocasionales espacios quísticos o mucoides en su espesor.

En el examen histológico destaca la presencia de grupos anastomosados de células epidermoides y mucosecretoras rodeados de un estroma fibroso. Las células cuboideas o caliciformes tapizan los espacios glandulares y ductos. Los espacios quísticos contienen material mucoide o restos escamosos que pueden llegar a ser abundantes. Asociado a este patrón se observa, en más de un 50%, focos de carcinoma papilar de tiroides. El material mucinoso es positivo para el PAS y resistente a la diastasa y es frecuente encontrar tiroiditis linfocitaria sin metaplasia oncocítica (DeLellis *et al.*, 2004). Mediante inmunohistoquímica se puede demostrar positividad para citoqueratinas de bajo y alto peso molecular así como para CEA y la mayoría son focalmente positivos para TTF-1 y tiroglobulina y negativos para calcitonina. Se ha sugerido que esta neoplasia se origina a partir de los nidos epiteliales sólidos (Preto *et al.*, 2004) pero la presencia de queratinización y de espinas intercélulares, la positividad para tiroglobulina y negatividad para calcitonina y su asociación con tiroiditis linfocítica, en la que la metaplasia escamosa es frecuente, apoya más su origen a partir de epitelio folicular metaplásico (DeLellis *et al.*, 2004; Katoh *et al.*, 1990).

#### 1.4.7 Carcinoma Mucoepidermoide esclerosante con eosinofilia

Tumoración que muestra diferenciación epidermoide y glandular con esclerosis importante e infiltración linfocítica y eosinofílica. Afecta al sexo femenino casi exclusivamente, con alta asociación a tiroiditis, especialmente con la variante fibrosante de la tiroiditis de Hashimoto.

Se caracteriza por la presencia de un estroma esclerótico rico en un infiltrado por eosinófilos, linfocitos y células plasmáticas. Las células tumorales forman cordones anastomosantes y nidos poligonales con escasa o moderado pleomorfismo nuclear, pudiendo adoptar una apariencia pseudoangiomatosa debido a la pérdida de cohesión. Los nidos escamosos se entremezclan con células mucinosas y lagos de moco. Tanto la invasión perineural como la obliteración vascular son fenómenos frecuentes. La asociación con focos de carcinoma papilar habitual es rara. Desde el punto de vista inmunohistoquímico esta neoplasia es negativo para tiroglobulina y calcitonina y el 50% expresan TTF-1 (Baloch *et al.*, 2000; DeLellis *et al.*, 2004).

#### 1.4.8 Carcinoma Mucinoso

Neoplasia muy infrecuente constituida por grupos de células neoplásicas rodeadas por lagos de mucina extracélular. Las células muestran núcleos con aumento de su tamaño y nucleolos evidentes y se pueden observar mitosis y necrosis así como fenómenos de invasión vascular o capsular. Este tumor muestra positividad focal para tiroglobulina y TTF-1, para queratinas de bajo peso molecular y MUC2 (DeLellis *et al.*, 2004; Kondo *et al.*, 2005).

#### 1.4.9 Carcinoma Medular

El carcinoma medular se define como un tumor maligno con diferenciación de células C (DeLellis *et al.*, 2004).

##### 1.4.9.1 Epidemiología

Representa del 5 al 10 % de los tumores malignos del tiroides y en un 25% de los casos son hereditarios, con un tipo de herencia autosómica dominante. En los casos esporádicos la edad media de presentación son 50 años, con ligero predominio femenino y



su frecuencia es similar en las distintas zonas geográficas. La edad de presentación, para el carcinoma medular familiar, es semejante al del esporádico mientras que en los enfermos con MEN 2B suele aparecer en la infancia y en los afectados de MEN 2A aparece en la adolescencia o en la edad adulta precoz (DeLellis *et al.*, 2004).

#### 1.4.9.2 Etiología

En el caso del carcinoma medular esporádico es desconocida. Los casos familiares se producen como consecuencia de una mutación de línea germinal del protooncogén *RET*, lo que da lugar a los síndromes de neoplasia endocrina múltiple (MEN) tipo 2A, 2B y carcinoma medular familiar.

#### 1.4.9.3 Hallazgos clínicos

La forma de presentación más habitual es la de un nódulo solitario indoloro y frío en la gammagrafía. Aproximadamente la mitad de los enfermos pueden tener en el momento del diagnóstico metástasis ganglionares y hasta un 25% metástasis a distancia. Si el tumor es muy grande o a sobrepasado la cápsula tiroidea se pueden producir síntomas por compresión o infiltración de órganos vecinos tales como disfagia, parálisis recurrential o disnea. Prácticamente siempre se produce elevación sérica de calcitonina segregada por el tumor; además de calcitonina y, a semejanza de lo que ocurre con otros tumores neuroendocrinos, el carcinoma medular puede producir otros péptidos y aminas lo que es la causa de los síndromes paraneoplásicos que pueden acompañarlo. Entre ellos el más frecuente es el síndrome de diarrea acuosa y rubor (flushing) por la secreción de la propia calcitonina y otros péptidos, pero también se pueden producir otros síndromes tales como un síndrome de Cushing por producción de ACTH.

En los casos de MEN 2 el carcinoma medular puede ser la única manifestación del transtorno genético, como es el caso del carcinoma medular familiar, o estar asociado con feocromocitoma e hiperparatiroidismo (MEN 2A) o con feocromocitoma y neuromas mucosos (MEN 2B).

#### 1.4.9.3.1 Diagnóstico

Desde que se conoce que la mutación de *RET* es responsable del síndrome MEN 2 el diagnóstico del mismo se basa en su demostración. Por este motivo, en todos los enfermos en los que se diagnostique un carcinoma medular debe investigarse la mutación, independientemente de la edad, de si hay otras lesiones acompañantes o antecedentes familiares. Esto mismo es recomendable para los pacientes con feocromocitoma. (DeLellis *et al.*, 2004).

#### 1.4.9.4 Hallazgos macroscópicos

La localización típica del carcinoma medular es el tercio medio de los lóbulos tiroideos, ya que esta es la zona donde se concentran las células C y este hecho se aprecia bien cuando los tumores son pequeños. En general se observa como una masa bien delimitada, no encapsulada de color blanco-grisáceo a pardo; el tamaño es variable y a veces pueden ser inferiores a 1 cm (microcarcinomas) y en este caso suelen ser un hallazgo incidental en tiroides operados por una hiperplasia nodular (DeLellis *et al.*, 2004; Mizukami *et al.*, 1992). Los casos esporádicos suelen afectar a un solo lóbulo mientras que los familiares característicamente son bilaterales y múltiples.

#### 1.4.9.5 Hallazgos microscópicos

Son muy variables tanto desde el punto de vista arquitectural como citológico. El patrón puede ser en sábanas, nidos o trabéculas y las células de morfología poligonal, redondeada, plasmocitoide o fusiforme; los citoplasmas suelen ser eosinófilos y granulares y los núcleos de cromatina dispersa, característica de los tumores neuroendocrinos, con nucleólo poco evidente, salvo en las formas oncocíticas y, en general, con baja actividad mitótica. Algunas neoplasias pueden ser muy parecidas a los tumores carcinoides. El estroma es variable y es muy característico del carcinoma medular que contenga amiloide (que se origina a partir de la procalcitonina) aunque este hecho se observa sólo en el 25% de los casos. Se pueden ver a veces calcificaciones concéntricas de tipo cuerpo de psamoma y es frecuente observar infiltración de los vasos linfáticos (DeLellis *et al.*, 2004).

En la mayoría de los casos muestran argirofilia y positividad inmunohistoquímica para calcitonina y CEA; además son típicamente positivos para marcadores

neuroendocrinos generales tales como cromogranina A y sinaptofisina y, así mismo, son positivos para TTF-1 y queratinas de bajo peso molecular. El índice proliferativo suele ser bajo con la tinción para MIB-1 (Ki-67). Como es lo habitual en los tumores neuroendocrinos, el carcinoma medular puede producir una gran variedad de péptidos que pueden detectarse con técnicas inmunohistoquímicas (Holm *et al.*, 1985; Kaufmann *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 1996).

Las formas hereditarias de carcinoma medular se originan a partir de una hiperplasia de células C que se considera la lesión precursora (Wolfe *et al.*, 1973). Esta forma de hiperplasia "neoplásica" (también denominada carcinoma medular in situ) se puede observar en las secciones de hematoxilina-eosina mientras que las formas reactivas que se producen en las áreas vecinas a otros tumores tiroideos, cuando hay tiroiditis linfocítica, en el envejecimiento, hiperparatiroidismo, hipergastrinemia o en zonas próximas a nidos epiteliales sólidos, suelen requerir de tinciones inmunohistoquímicas para poder ser observadas (Perry *et al.*, 1996). La hiperplasia neoplásica puede ser difusa o nodular y tiende a obliterar la luz de los folículos. El criterio general para diagnosticar una hiperplasia de células C es observar más de 50 células C por campo de bajo aumento, en las zonas glandulares donde la concentración de estas células es máxima (Albores-Saavedra *et al.*, 2001).

#### 1.4.9.6 Alteraciones genéticas del carcinoma medular

Se conoce poco acerca de la etiología del carcinoma medular esporádico. Se ha observado pérdida de heterocigosidad de marcadores distintos así como mutaciones somáticas de RET, especialmente la M918T, observadas en más del 70% de los casos (Eng, 1999).

Las tres formas de MEN 2 se heredan de forma autosómica dominante y están causadas por mutación del protooncogén *RET*, situado en el cromosoma 10q11.2. El gen *RET* comprende 21 exones y codifica un receptor transmembrana con actividad tirosín-cinasa de los que hay tres isoformas que difieren en su porción C terminal. Todos los receptores RET poseen una porción extracélular, que reconoce y se une a los ligandos de RET, una porción transmembrana y una intracélular, con actividad tirosín-cinasa, que se requiere para la fosforilación del receptor y la iniciación de la cascada de señales celulares (Arighi *et al.*, 2005). Las mutaciones de *RET* se encuentran en más del 95% de los

## Introducción.

enfermos con MEN 2, son generalmente de tipo sentido erróneo y condicionan la ganancia de función del receptor RET, en ausencia de ligando. Existe una fuerte correlación entre el fenotipo de la enfermedad y el tipo de mutación. Así, en la mayoría de enfermos con MEN 2A hay mutaciones de residuos cisteína en la porción extracélular de RET (codones 609, 611, 618, 620, 630 y 634), que están estrechamente relacionadas con la presencia de feocromocitoma y de hiperparatiroidismo. Los casos de carcinoma medular familiar se pueden producir igualmente por mutaciones de estos residuos de cisteína extracélulares o por mutaciones de residuos intracélulares. En este último caso la mutación altera la unión de RET al ATP y se relaciona con una presentación clínica más tardía y menos agresiva. El fenotipo MEN 2B está en la mayoría de los casos asociados a mutaciones de codones intracélulares, especialmente del codón 918, pero también del 883 (Eng *et al.*, 1996; Smith *et al.*, 1997).

### 1.4.9.7 Pronóstico

Se consideran factores pronósticos la edad de presentación, sexo masculino la extensión de la invasión local y metástasis a distancia. Desde el punto de vista histológico los parámetros asociados a un peor comportamiento son la necrosis, metaplasia escamosa, positividad para calcitonina en menos de la mitad de las células y positividad para CEA en ausencia de positividad para calcitonina (Barbet *et al.*, 2005).

Los enfermos con carcinoma medular hereditario parecen tener en general mejor pronóstico que los que tienen formas esporádicas. Sin embargo, esto podría ser debido a un diagnóstico precoz secundario al seguimiento estrecho al que son sometidos los familiares de personas afectas. Se ha mantenido que los pacientes con MEN 2B tienen las formas más agresivas de carcinoma medular aunque hay estudios que lo contradicen (Leboulleux *et al.*, 2002).

### 1.4.10 Carcinoma Mixto Medular y Folicular

Neoplasia constituida por un patrón mixto de carcinoma folicular o papilar junto con un carcinoma medular. Su incidencia es extremadamente excepcional afectando más a mujeres. Desde el punto de vista histológico puede mostrar una amplia diversidad de patrones con predominio del carcinoma medular sobre el folicular o papilar. En el caso de la asociación con un carcinoma folicular es imprescindible excluir la posibilidad de folículos no tumorales atrapados (DeLellis *et al.*, 2004; Hales *et al.*, 1982).

#### 1.4.11 Tumor fusocélular con diferenciación tímica (SETTLE)

Afecta habitualmente a niños y adolescentes con predominio en la población masculina, desarrollándose en un amplio grupo de pacientes como masa de crecimiento rápido. Este tipo de tumores se caracteriza por una alta celularidad con un patrón lobulado con septos fibrosos. En la mayoría de los casos muestra un patrón bifásico pero puede estar representado exclusivamente por células fusiformes o componente glandular, en ambos casos muestra positividad para citoqueratinas (Su *et al.*, 1997). Es difícil distinguir esta neoplasia del sarcoma sinovial para lo que puede ser muy útil el estudio de la translocación t (X; 18), característica de ésta última (Folpe *et al.*, 2009).

#### 1.4.12 Carcinoma mostrando diferenciación tímica (CASTLE)

Esta rara forma de carcinoma afecta a pacientes de mediana edad con ligero predominio femenino. Se presenta como una masa indolora que puede verse acompañada por síntomas compresivos y afectación ganglionar temprana. La tumoración muestra una arquitectura similar a la de los tumores tímicos, con la presencia de islas de apariencia sincitial-escamoide con citoplasmas eosinófilos penetrados por unos pequeños vasos y separados unos de otros por bandas amplias de estroma desmoplásico. El inmunofenotipo es idéntico al del carcinoma tímico y la demostración de positividad inmunohistoquímica para CD5 apoya su diagnóstico frente a otros tumores con los que hay que establecer el diagnóstico diferencial tales como carcinoma indiferenciado o escamoso (DeLellis *et al.*, 2004; Ito *et al.*, 2007).

#### 1.4.13 Otras variantes no recogidas en la actual clasificación de la OMS

##### Carcinoma tiroideo de célula pequeña basaloide

Recientemente se ha descrito por parte del grupo de Sobrinho-Simões un nuevo patrón de neoplasia tiroidea la cual está constituida por una tumoración no encapsulada en la que se observan elementos celulares dispuestos con un patrón de crecimiento en nidos bien definidos, con áreas trabeculares unas y sólidas otras de tamaño variable, las

## Introducción.

cuales están representadas por células de pequeña talla, uniformes, con núcleos regulares, redondeados y fina cromatina, con nucleolos poco evidentes y escaso citoplasma de límites pobres sobre un estroma hialinizado mal definido, otorgando un aspecto basaloide. Asimismo, se observan áreas quísticas centrales conteniendo células en sombra a imagen de las halladas en el pilomatrixoma. El índice proliferativo fue bajo sin evidencia, en el caso descrito, de áreas de necrosis; por el contrario, sí se evidenciaron focos de invasión vascular peritumoral. Inmunohistoquímicamente esta neoplasia muestra negatividad frente a la tiroglobulina, CEA, y TTF-1; siendo positiva ante diferentes queratinas así como también mostró positividad para la p63 (Cruz *et al.*, 2011).

Nuevas propuestas en la terminología de los tumores tiroideos.

El grupo de patólogos que examinó los tumores tiroideos de niños y adultos jóvenes que estuvieron expuestos a radiación, tras el accidente nuclear de Chernobyl (Chernobyl Pathologist Group) tuvieron dificultades al intentar aplicar la clasificación de la OMS al material que estaban estudiando y, para sortear estos problemas, hicieron una propuesta de terminología (Williams, 2000).

Las dificultades diagnósticas se encontraron principalmente en los tumores encapsulados con patrón folicular y fueron principalmente de dos tipos: en primer lugar decidir si la observación muy focal de los cambios nucleares, característicos de carcinoma papilar, justificaba el diagnóstico de variante folicular de carcinoma papilar y, en segundo lugar, decidir si la observación de grados menores de infiltración de la cápsula justificaba el diagnóstico de malignidad. Para el primer supuesto proponen, en vez de llamar a estos tumores de forma arbitraria papilares o foliculares, denominarlos **tumores bien diferenciados de potencial maligno incierto** cuando no se observa invasión clara y **carcinomas bien diferenciados NOS** (*no otherwise specified*) cuando hay invasión. Este último término ya había sido propuesto con anterioridad en la edición de 1990 del fascículo de la AFIP (*Armed Forces Institute of Pathology*) sobre tumores tiroideos (Rosai *et al.*, 1990). El segundo problema se plantea en el caso de lesiones encapsuladas, sin características citológicas de papilar y, por tanto, que entran en la categoría de lesiones foliculares y en las que hay que determinar su malignidad o benignidad en base a la presencia o ausencia de invasión capsular y/o vascular. Hay un grupo de estos tumores que carecen de invasión vascular y en los que la invasión capsular no es completa pero es

más de lo que puede explicarse por una interfase irregular de la cápsula con el tumor o por atrapamiento de tumor por fibrosis, en la porción interna de la cápsula. Es un hecho conocido que estos tumores tienen muy bajo potencial maligno (Carcangiu *et al.*, 1997) y, para ellos, el grupo de Chernobyl hace la propuesta de denominarlos **tumores foliculares de potencial maligno incierto**.

Este grupo señala que es importante reconocer la existencia de estos tumores "borderline" o límite en los que hay una enorme variabilidad interobservador en el diagnóstico, pero también advierte del peligro que puede representar aplicar esta nomenclatura como una salida fácil para evitar el trabajo que supone establecer la benignidad o malignidad de una neoplasia. Dado el buen pronóstico de los tumores foliculares de potencial maligno incierto, como de los tumores bien diferenciados de potencial maligno incierto, es aconsejable para ellos un tratamiento conservador.

En un reciente estudio de una serie de 102 tumores bien diferenciados encapsulados con patrón folicular, que se habían diagnosticado de carcinomas en base a invasión capsular o características nucleares de carcinoma papilar, se ha observado, después de un seguimiento medio de 11,9 años, que estas lesiones están asociadas a un excelente pronóstico (Piana *et al.*, 2010).

## 1.5 Marcadores moleculares con aplicación inmunohistoquímica en el carcinoma diferenciado de tiroides.

Los marcadores inmunohistoquímicos de los tumores tiroideos se pueden dividir en dos grupos: los relacionados con el tipo celular y los relacionados con el proceso neoplásico en sí (Rosai, 2003). Entre los primeros, los más importantes son la tiroglobulina y el factor de transcripción tiroideo (TTF1), para las células foliculares, y la calcitonina, CEA y cromogranina para las células C. Entre los segundos, que son el objeto de este estudio, se encuentran moléculas que intervienen en **el metabolismo celular** como las enzimas tiroperoxidasa (TPO) y ciclooxigenasa-2 (COX-2), **moléculas de adhesión** que intervienen en las interacciones celulares y célula-matriz (galectina 3 y CD44v6), **proteínas codificadas por oncogénes y de genes supresores tumorales** como la proteína del gen del retinoblastoma (pRB), **receptores para factores de crecimiento** (c-Met (HGF-R)), ciertos componentes del **citoesqueleto** como la citoqueratina-19, algunas **moléculas de la superficie celular** (AgHBME-1), **moléculas encargadas de la reparación del DNA** como las telomerasas y **moléculas relacionadas con el ciclo celular** como las ciclinas D1 y E. De todas ellas las más analizadas en muestras de PAAF han sido la TPO y galectina-3 y se tiene una experiencia más limitada para el resto. De los estudios realizados hasta ahora se deduce que la expresión normal de algunas de estas moléculas como TPO y pRb son indicativas del carácter benigno de una lesión tiroidea, mientras que las restantes tendrían utilidad como marcadores de malignidad, pero con expresión variable en los distintos tipos histológicos de carcinomas de tiroides. La llegada de nuevas tecnologías como las matrices de tejido, que permiten analizar simultáneamente gran número de casos y de marcadores de forma homogénea, hace posible estudiar en una determinada serie gran número de moléculas, para sopesar, con el estudio estadístico adecuado, cuales de ellas pueden tener más peso en el diagnóstico de malignidad.

Con el objeto de sistematizar la revisión de estos marcadores vamos a dividirlos en una primera categoría, donde se incluirán todas aquellas moléculas reguladoras del crecimiento y proliferación celular: codificadas por oncogénes, proteínas de comportamiento supresor, reparadoras del ADN, reguladoras de la apoptosis y de la longitud de los telómeros. En un segundo apartado se incluirán otras moléculas de interés



relacionadas con el metabolismo, adhesividad y proliferación celular así como con la matriz extracelular.

<b>I- PROTEÍNAS REGULADORAS DEL CRECIMIENTO Y PROLIFERACIÓN CELULAR</b>	
Función principal	Proteína
<b>1- PROTEÍNAS CODIFICADAS POR ONCOGÉNES</b>	
Receptores de factores de crecimiento	RET MET
Proteínas implicadas en la transducción de señales	RAS
Proteínas activadoras y coactivadoras transcripcionales	FOS IMP3 CITED1
Proteínas reguladoras del ciclo celular	Ciclinas D1, D2 y E, P27
<b>2- PROTEÍNAS SUPRESORAS O DE COMPORTAMIENTO SUPRESOR</b>	RB1 P53, P63 P16
<b>3- PROTEÍNAS REPARADORAS DEL ADN</b>	PARP-1 PTTG1
<b>4- PROTEÍNAS REGULADORAS DE LA APOPTOSIS</b>	Caspasas
<b>5- PROTEÍNAS REGULADORAS DE LA LONGITUD DE LOS TELÓMEROS</b>	TERT
<b>II- OTRAS MOLÉCULAS DE INTERÉS RELACIONADAS CON EL METABOLISMO, ADHESIVIDAD, PROLIFERACIÓN CELULAR Y MATRIZ EXTRACELULAR</b>	
<b>1- ENZIMAS</b>	Tiroperoxidasa Ciclooxigenasa
<b>2- RELACIONADOS CON ADHESIVIDAD CELULAR</b>	Galectina3 CD44 CD57 Cadherina E y P $\beta$ -Catenina
<b>3- SUPERFICIE CELULAR</b>	HBME-1 Queratán sulfato
<b>4- CITOESQUELETO</b>	CK19
<b>5- MARCADORES DE PROLIFERACIÓN</b>	MIB1 (Ki67)
<b>6- MATRIZ EXTRACELULAR</b>	Fibronectina
(*) Algunas de las proteínas citadas tienen varias funciones, aunque se han incluido en un apartado con efectos de sistematización.	

## 1.5.1 Proteínas codificadas por oncogénes

### 1.5.1.1 Receptores de factores de crecimiento

#### 1.5.1.1.1 Proteína RET

Esta proteína está codificada por el protooncogén *RET* localizado en el cromosoma 10 (10q11.2) (Fusco *et al.*, 1987). Los reordenamientos cromosómicos de los genes relacionados con el receptor de la tirosin kinasa (RET y TRK) constituyen una de las anomalías genéticas estructurales más frecuentes en el cáncer papilar de tiroides como ya se ha comentado en el apartado anterior (1.4.1.8.2). Estos reordenamientos pueden detectarse tanto por FISH como por RT-PCR (Rebelo *et al.*, 2003; Unger *et al.*, 2004) y pueden ponerse de manifiesto, a través de estas técnicas, en material obtenido por PAAF (Nikorofova *et al.*, 2004). Por otra parte la oncoproteína RET, puede detectarse mediante técnicas inmunohistoquímicas (Omar *et al.*, 2004).

El tejido tiroideo normal no expresa esta oncoproteína que si se ha detectado en neoplasias. No obstante su expresión no necesariamente se relaciona con la existencia de mutación y puede corresponder a la forma nativa de la proteína (Omar E. 2004).

#### 1.5.1.1.2 Proteína MET

La proteína C-MET es un heterodímero de 190 kDa, codificada a partir del gen *c-MET* localizada en el cromosoma 7q31, compuesto por dos subunidades de disulfido enlazadas ( $\alpha$  y  $\beta$ ) la cual entre otras de sus funciones actúa como receptor del factor de crecimiento de hepatocitos (HGF-R). La activación de *c-MET* está asociada a la proliferación y el movimiento celular pudiendo contribuir tanto a la agresividad tumoral como al potencial metastático de la lesión. El oncogén *c-MET* está amplificado en el 70-90% de los carcinomas papilares (Huang *et al.*, 2001; Zanetti *et al.*, 1998), pero sólo en el 25% de los carcinomas foliculares. Por el contrario no se ha detectado en los carcinomas medulares ni en los anaplásicos de tiroides, así como tampoco se ha detectado en el tejido tiroideo normal. Por todo lo anterior, se ha defendido que la determinación inmunohistoquímica de la proteína podría ser útil en el diagnóstico preoperatorio diferencial entre lesiones benignas y malignas, especialmente para detectar carcinomas de

tipo papilar (Ipollito *et al.*, 2001). En estudios recientes se ha establecido la importante contribución de *MET* en la vía de la tirosín cinasa en la patogénesis tumoral de los carcinomas papilares de tiroides, en los que su sobreexpresión se asocia a un curso clínico y un fenotipo más agresivo (Yip *et al.*, 2011).

## 1.5.1.2 Proteínas implicadas en la transducción de señales

### 1.5.1.2.1 Proteína RAS

La proteína p21-RAS es una proteína G (GTPasa) codificada por el protooncogén RAS que actúa como transductor de señales. Gran cantidad de oncogénes derivan de protooncogénes codificadores de proteínas, que actúan como transductores intracelulares (proteínas que contribuyen a la transmisión de señales de un receptor hacia un objetivo celular). Pertenecen a esta clase los oncogénes *RAS*, que fueron los primeros oncogénes no virales estudiados, como se ha descrito previamente (*ver apartados 1.4.1.8.5 y 1.4.2.7.4*) (Zafón *et al.*, 2009). A diferencia de las neoplasias de otras localizaciones la participación de *RAS* en el caso de la patología tiroidea es menor, oscilando entre el 20-50% de los CFT, 25-43% de los CPTv y el 10% de las lesiones benignas (DeLellis *et al.*, 2004; Di Cristofaro *et al.*, 2006; Zhu *et al.*, 2003).

La familia de los genes *RAS*, constituida por tres genes homólogos (*K-RAS*, *H-RAS* y *N-RAS*), codifican una proteína transformadora de 21 kDa (P21-RAS), la cual ha sido estudiada en diferentes lesiones neoplásicas, observándose un aumento significativo de su expresión en pacientes con cáncer de colon (Sammoud *et al.*, 2012), así como en el caso de la patología tiroidea, donde se ha asociado al CPT con menor grado de diferenciación y a estadios clínicos más evolucionados (Almudévar *et al.*, 2000); igualmente, en el caso de las lesiones foliculares malignas donde se ha observado en el 20 al 50% de los casos mutaciones de los genes *RAS* (Lemoine *et al.*, 1988) lo que puede traducirse en una sobreexpresión de la proteína P21-RAS, detectable inmunohistoquímicamente (Mizukami *et al.*, 1995).

### 1.5.1.3 Proteínas activadoras y coactivadoras transcripcionales

#### 1.5.1.3.1 Proteína c-FOS

El protooncogén denominado *C-FOS* se localiza en el locus 14p24.3 y codifica una proteína de localización nuclear de 380 aminoácidos que parece tener un papel crucial en el control de la proliferación celular. Estudios sobre la expresión de C-FOS en una variedad de tipos celulares y tejidos en diferentes etapas del desarrollo han sugerido que los productos del gen *C-FOS* puede jugar un papel en la diferenciación celular (Terrier *et al.*, 1988).

El gen *C-FOS* regula la expresión de genes diana específicos a través de la unión a su secuencia reguladora de ADN. En tumores tiroideos se ha demostrado una activación aberrante de esta regulación transcripcional (Kim *et al.*, 2003).

Como miembro del complejo del factor de transcripción AP-1, la proteína C-FOS puede ejercer una función tanto activadora como represora transcripcional. La transición entre estas dos funciones está regulada a través de modificaciones post-translacionales de la región C-terminal de la proteína, probablemente por fosforilación de residuos serina (Lu *et al.*, 2005).

El factor de transcripción AP-1 es un componente clave en muchas vías de transducción de señales. Es un complejo constituido por homodímeros de proteínas JUN (cJUN, JUN-B o JUN-D) o heterodímeros de proteínas JUN y FOS (cFOS, FosB, Fra-1, Fra-2 y  $\Delta$ FosB). Estos complejos de heterodímeros y homodímeros regulan la expresión de los genes diana AP-1 por la unión al sitio AP-1 en los genes promotores (Lu *et al.*, 2005) y, de esta forma, participan en la regulación de la proliferación, diferenciación, transformación celular, apoptosis y respuesta frente al estrés celular (Gomard *et al.*, 2008).

En estudios realizados en cáncer humano se ha observado un incremento de su expresión en algunas neoplasias como carcinomas de mama (Lu *et al.*, 2005) y de esófago, en el que podría constituir un evento inicial en el desarrollo patogénico (Wu *et al.*, 2004). En el caso de la patología neoplásica tiroidea también se ha constatado una sobrerregulación de este gen así como un incremento de la expresión inmunohistoquímica de la proteína (Terrier *et al.*, 1988) (Kataki *et al.*, 2003).

#### 1.5.1.3.2 IMP-3 (Insulin-like growth factor mRNA-binding protein 3)

El gen de la proteína IMP-3, también conocida como L523S o KOC, pertenece a la familia de las IMP y se encuentra localizado en el cromosoma 7p11.2. Es una proteína oncofetal que regula la transcripción del factor de crecimiento tipo insulina-II, con un importante papel en la proliferación celular y estabilización del ARN, así como en el crecimiento y migración celular durante la embriogénesis. El IMP-3 se expresa por tanto en el desarrollo embrionario –en sus fases iniciales- perdiéndose en los tejidos adultos, excepto en el tejido placentario (Slosar *et al.*, 2009).

En los últimos años diferentes trabajos publicados han constatado su expresión en numerosos tipos de tumores, emergiendo como un prometedor marcador, que puede ser usado para predecir el potencial metastásico tumoral y el pronóstico (Jiang *et al.*, 2006; Jin *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2008; Xu, 2008).

Desde la aparición de estos estudios se han publicado diferentes investigaciones que analizan su expresión en el tejido tiroideo. En uno de los más recientes, en el que se estudian 80 casos con diferente patología tiroidea, aplicando técnicas inmunohistoquímicas, PCR convencional así como qRT-PCR, se observa la sobreexpresión de IMP3, mediante qRT-PCR, en los casos de carcinoma tiroideo bien diferenciado en comparación con las lesiones benignas, aunque la sensibilidad fue menor con inmunohistoquímica (Jin *et al.*, 2010). En otros estudios se alcanzó una especificidad del 100% y una sensibilidad del 69% para distinguir los carcinomas foliculares, incluyendo a los mínimamente invasivos, de los adenomas foliculares (Slosar *et al.*, 2009).

#### 1.5.1.3.3 CITED-1

Es una proteína nuclear de 27 kDa perteneciente a la familia de las proteínas CITED (**C**BP/p300-**i**nteracting **t**ransactivator with glutamic acid [**E**] and aspartic acid [**D**]-rich C-terminal domain); está codificada por el gen *CITED1*, localizado en el cromosoma Xq13.1, el cual fue clonado por primera vez en 1996. Su función es la coregulación transcripcional de las proteínas nucleares a través de sus dominios transactivadores (receptores estrogénicos, factores de transcripción SMAD,...). (Shioda *et al.*, 1996).

Inicialmente se consideró que tenía un papel específico en la diferenciación de los melanocitos (Shioda *et al.*, 1997). En el caso de la patología tiroidea se ha observado la

sobreexpresión de esta proteína en el 93% de los carcinomas papilares de tiroides, en el 21% de los carcinomas foliculares y en sólo el 7% de las lesiones tiroideas benignas, si bien su utilidad como marcador aislado en el diagnóstico diferencial del CPT no tiene una robustez suficiente para su uso de forma aislada (Prasad *et al.*, 2004), mostrando una menor sensibilidad que la citoqueratina 19 y menor especificidad que HBME-1 (Scognamiglio *et al.*, 2006). Sin embargo, en combinación con varios marcadores inmunohistoquímicos sí ayuda al diagnóstico del CPT y de forma particular en el diagnóstico diferencial del CPT variante folicular frente al carcinoma folicular (Scognamiglio *et al.*, 2006; Nakamura *et al.*, 2006).

#### 1.5.1.4 Proteínas reguladoras del ciclo celular

El desarrollo de las lesiones neoplásicas se produce como consecuencia de un desequilibrio entre la proliferación celular y la muerte celular programada (apoptosis). En estos procesos se encuentran involucradas numerosas proteínas que juegan un papel regulador, tales como la p16 (INK4a), P21 (waf1), P27 (Kip1) y p57, todas inhibidoras de cinasas dependientes de ciclinas, que pueden suprimir la proliferación celular a través de la inhibición de varios complejos ciclinas-cinasas dependientes de ciclinas (CDK) que actúan como controladores del ciclo celular.

La ciclina D1 a través de su interacción con la CDK4 y la CDK6 actúa como punto de control en la etapa inicial de la fase G1 del ciclo celular. De forma análoga, la ciclina E en su unión con la CDK2 actúa en la etapa tardía de la fase G1 conduciendo a la célula a la fase S, en la que se producirá la replicación del genoma.

El gen *P16* codifica a la proteína p16 (INK4a) que compite con la ciclina D1 por la unión a la CDK4. Ésta proteína p16 inhibe la capacidad de CDK4 para fosforilar a la proteína Rb, lo que produce una detención en la etapa tardía de la fase G1. En las neoplasias la alteración de la p16 se produce por delección, mutación o metilación del gen promotor (Lam *et al.*, 2007).

En el caso de neoplasias tiroideas, no se ha encontrado una diferencia significativa en la expresión de P27 en las lesiones malignas comparadas con las benignas (Melck *et al.*, 2007), sin embargo, sí se obtuvo una correlación inversa con la multifocalidad, en los tumores diferenciados de tiroides. Asimismo se ha observado una asociación entre una expresión disminuida de la P27 y una mayor probabilidad de metástasis linfáticas (Khoo *et al.*, 2002).

Muchos de los estudios realizados sobre la expresión de los reguladores del ciclo celular (Ciclina D1, Ciclina E, P21, P27) mediante técnicas inmunohistoquímicas se centran en su expresión nuclear, si bien existe una clara evidencia, a partir de los datos obtenidos en los cultivos celulares, de que la localización subcelular de las ciclinas y de los inhibidores de cinasas dependientes de ciclinas (CDKI) son críticos para el control del ciclo celular y los mecanismos de control de su función tales como la fosforilación,



ubiquitinación y proteólisis, modificando su capacidad para establecer adecuadamente una comunicación entre el núcleo y el citoplasma (Pickett *et al.*, 2005).

Asimismo, existe la evidencia de la interrelación entre los diferentes reguladores del ciclo celular cuya función y expresión es el resultado de un equilibrio entre éstos, por lo que se considera que la valoración del patrón de expresión debería ser el resultado del estudio conjunto de éstos mas que la valoración aislada de un único regulador (Pickett *et al.*, 2005).

#### 1.5.1.4.1 Ciclina D1

La ciclina D1 juega un papel primordial en la regulación de la transición de la fase G1/S durante el ciclo celular. En unión con las cinasas dependientes de ciclinas, la ciclina D1 fosforila la proteína del retinoblastoma, liberando el E2F-1, un promotor del ciclo celular. La ciclina D1 es un producto del gen *BCL-1* localizado en el cromosoma 11q13. La translocación o amplificación *del BCL-1* o del locus 11q13 puede producir la sobreexpresión de la ciclina D1, que se observa tanto en neoformaciones de tipo linfoide como el linfoma del manto y algunos plasmocitomas como en neoplasias epiteliales, tales como el carcinoma hepatocelular y carcinoma espinocelular (esófago y de cabeza y cuello). Su expresión ha sido asociada con un curso clínico más agresivo y mayor incidencia de metástasis linfáticas confiriendo un peor pronóstico (Khoo *et al.*, 2002).

La sobreexpresión de la ciclina D1 ha sido observada en lesiones tiroideas malignas, especialmente en el carcinoma papilar (Lee *et al.*, 2010), en nódulos hiperplásicos y adenomas, pero no en tejido tiroideo sano (Saiz *et al.*, 2002). La sobreexpresión de la ciclina D1 ha mostrado mayor intensidad en los carcinomas desdiferenciados comparados con los carcinomas tiroideos bien diferenciados. Por otro lado, se ha observado, en un porcentaje menor de casos, expresión citoplasmática tanto de la ciclina D1 como de la ciclina E (Lazzereschi *et al.*, 1998). En general el aumento en la expresión de ciclina D1 se ha relacionado con un curso clínico peor y como un indicador de metástasis linfáticas en los carcinomas tiroideos, incluso en aquellos diagnosticados como microcarcinomas papilares de tiroides, lo que, para algunos investigadores, permitiría distinguir, en este tipo de lesiones, las que deben ser subsidiarias de seguimiento más estrecho (Tammim *et al.*, 2006).

#### 1.5.1.4.2 Ciclina D2

Aunque ha sido estudiada con menor intensidad que las otras integrantes de la familia en el cáncer tiroideo, se ha sugerido que puede ser útil, en asociación con otros marcadores (Weber *et al.*, 2005).

Se ha observado que la ciclina D2 está regulada, entre otros genes y señales mitógenas, por el gen *PITX2* (pituitary homebox 2) el cual regula la expresión de la proteína del retinoblastoma, la ciclina D1 y particularmente de la ciclina D2 a nivel transcripcional (Huang *et al.*, 2010). Las mutaciones del gen *PITX2* se ha asociado a diferentes patologías como el síndrome de Axenfeld-Rieger, el síndrome iridogoniodisgenesia y a casos esporádicos de la anomalía de Peters (Lines *et al.*, 2002). Se ha demostrado que el gen *PITX2* juega un papel importante en el desarrollo embrionario constatándose recientemente su sobrerregulación en los carcinomas tiroideos de origen folicular, en los que parece tener un papel en las etapas iniciales de la oncogénesis (Huang *et al.*, 2010).

#### 1.5.1.4.3 Ciclina E

El incremento de la expresión de la ciclina E y/o de las formas constitutivamente activas de la ciclina E se han asociado con el pronóstico en otros tipos de tumores no tiroideos (Keyomarsi *et al.*, 2002), observándose que la expresión de la ciclina E favorece un aumento en la duración de la fase S, lo que permite un incremento de la inestabilidad cromosómica y, por tanto, posibilita un ambiente oncogénico (Spruck *et al.*, 1999).

En el caso de las neoplasias tiroideas se ha observado una expresión nuclear significativamente mayor en los adenomas con respecto al tejido tiroideo normal (77,5% vs 49,4%), y una baja expresión en los casos de carcinoma papilar (3-21,4%) (Pickett *et al.*, 2005); por el contrario no se obtuvo una correlación significativa entre la expresión citoplasmática exclusiva (sin tinción nuclear asociada) y las diferentes entidades estudiadas, hallándose una expresión citoplasmática similar tanto en los adenomas como en los carcinomas papilares de tiroides (Lazzereschi *et al.*, 1998). Por el contrario, en el estudio de Schraml y cols no se halló tinción nuclear para ciclina E en ninguno de los casos incluidos dentro del diagnóstico de AF, CPT ni en los CFT, objetivándose sólo en los casos de CMT y en los CAT (Schraml *et al.*, 2003). Esta diferencia de resultados podría estar en relación con el tipo de anticuerpo usado, pues en los estudios iniciales se usó anticuerpo

monoclonal de ratón (clona 13A3 o HE12) a diferencia del utilizado en el grupo de C.A. Pickett que utilizó un anticuerpo policlonal de conejo.

#### 1.5.1.4.4 P27

La proteína P27<sup>KIP27</sup> actúa como inhibidor de la proliferación celular en su mayor parte a través de la interacción con el complejo ciclina E-Cdk2 (Melk *et al.*, 2007).

La pérdida de expresión de la P27, por proteólisis, ha sido observada en numerosos tipos de tumores (mama, próstata, colon, pulmón y tiroides, entre otros) (Cordon-Cardo *et al.*, 1998; Esposito *et al.*, 1997; Lau *et al.*, 2001; Slingerland *et al.*, 2000). En el caso de los carcinomas tiroideos su pérdida se asocia a menor grado de diferenciación y es un predictor independiente, en algunos estudios, de metástasis linfáticas en los carcinomas papilares de tiroides (Khoo *et al.*, 2002), mostrando por tanto papel pronóstico (Troncone *et al.*, 2007). En general, la expresión de P27 se considera especialmente útil en el diagnóstico diferencial entre el carcinoma papilar de tiroides y la enfermedad de Graves (mostrando una tinción más intensa en esta última) (Erickson *et al.*, 2000), así como entre la variante folicular del carcinoma papilar y el adenoma folicular (Resnick *et al.*, 1998). No se ha conseguido demostrar con este anticuerpo una correlación significativa entre su expresión y el patrón tumoral (Lee *et al.*, 2010) y es controvertido que esté relacionado con la presencia de metástasis linfáticas en los carcinomas papilares de tiroides ya que hay trabajos que consideran su pérdida como predictor independiente de esta situación (Khoo *et al.*, 2002) y otros no (Lee *et al.*, 2010), aunque en asociación con otras moléculas puede diferenciar a aquellos pacientes con mayores probabilidades de extensión inicial de la enfermedad (Zafón *et al.*, 2010).

En el caso de los carcinomas de células de Hürthle sin embargo, y a diferencia de lo comentado anteriormente, no hay pérdida de expresión de P27 que incluso está presente en un porcentaje de células mayor que en adenomas de esta naturaleza; este hecho suele acompañarse de una sobreexpresión de ciclina D3 (Troncone *et al.*, 2007).

Una explicación a esta observación en los carcinomas de células de Hürthle es que la P27 puede ser inactivada por secuestro vía ciclina D3 (otro regulador del ciclo celular que actúa como factor limitante en la progresión de la fase G1 a través de la vía de la TSH/AMPC) (Motti *et al.*, 2003) como se ha observado que ocurre en otros tipos de neoplasias (Sánchez-Beato *et al.*, 1999). Ya que sólo la forma independiente de la P27

## Introducción.

puede ser fosforilada y degradada a través del proteosoma 26s, su unión con la ciclina D3 la conduce a acumulación en su forma inactiva, protegiéndola de la degradación.

### 1.5.2 Proteínas supresoras o de comportamiento supresor

Se ha constatado que para el desarrollo tumoral son necesarios, al menos, 6 ó 7 eventos durante un lapso de 20-40 años para inducir crecimiento tumoral.

En el desarrollo y promoción tumoral se conoce desde hace tiempo la existencia de una base genética demostrándose por estudios de biología molecular la relación entre mutación y cáncer, al identificar los genes "blanco" de las mutaciones que intervienen en la transformación maligna. Estos genes se pueden dividir en dos clases operativas: oncogénes y los genes oncosupresores.

El estudio de los oncogénes no sólo ha aportado claves importantes para entender la biología tumoral sino que también ha revelado conceptos fundamentales en la biología celular actual. El oncogén se define como aquel gen anormal con una "ganancia funcional" donde en condiciones normales se encarga del correcto control de la división celular y que tras una mutación modifica su función conduciendo a la transformación e inmortalización celular debido a un incremento de la expresión y/o fallo en la detención de la transcripción en el momento apropiado. Por el contrario los genes supresores representan la pérdida de dicha función debido a un cese o inactivación del protooncogén (Kim *et al.*, 2003).

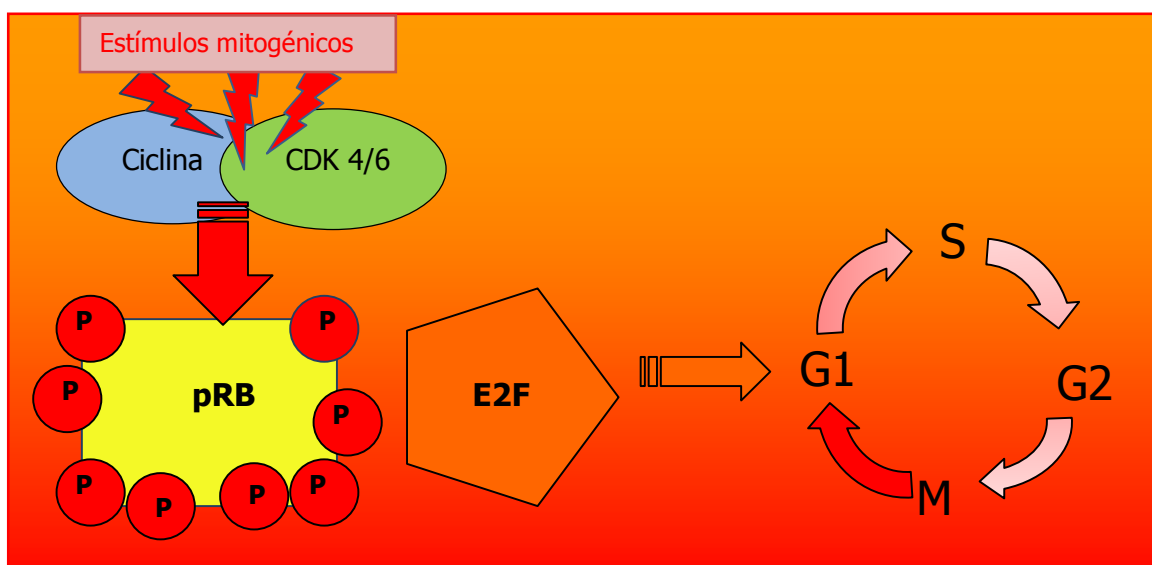
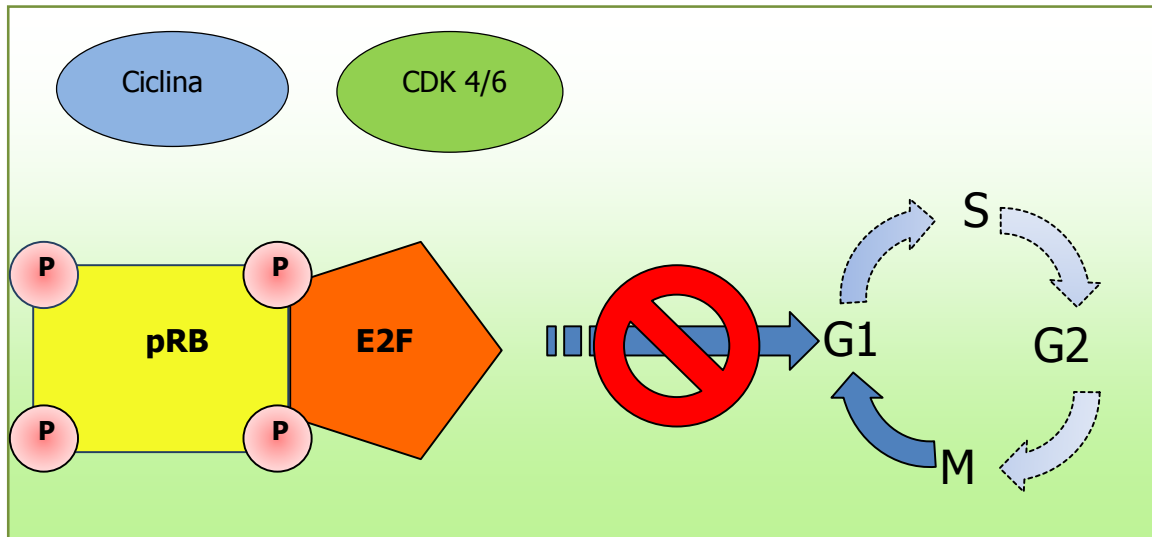
#### 1.5.2.1 Proteína del gen del retinoblastoma

El gen *RB* es un gen supresor tumoral que se encuentra en el cromosoma 13. La proteína codificada por este gen, proteína RB (pRB) se puede localizar por técnicas inmunohistoquímicas en el núcleo. En los estudios realizados sobre tiroides se ha visto que los tumores malignos suelen perder la expresión de RB a diferencia de los adenomas, si se excluyen los constituidos por células de Hürthle (Anwar *et al.*, 2000).

La proteína del gen del retinoblastoma ejerce una importante función como supresora tumoral. En función de su estado de fosforilación, actúa como inhibidor en el

Introducción.

ciclo celular mediante la unión e inhibición de factores de transcripción de la familia E2F (los cuales están constituidos por una proteína E2F y otra DP conformando un dímero) (Wu *et al.*, 1995). Existen varias vías por las que la pRB deja de bloquear el ciclo celular;



Esquema 7 Modelo de actuación de la pRb

Ante la presencia de estímulos mitogénicos la ciclina D se une con la CDK 4 ó 6, constiuyendo un complejo con actividad cinasa, los cuales facilitan la transición desde el estado hipofosforilado de la pRB a uno hiperfosforilado, induciendo la separación del factor de transcripción E2F, la cual mediante la expresión de una serie de genes conduce al paso de la fase G1 a la S del ciclo celular.

la primera se produce por la acción de estímulos mitogénicos los cuales favorecen la unión de la ciclina D a la CDK4 o CDK6, produciendo la fosforilación de la pRB y la consiguiente separación de ésta del factor de transcripción E2F, que en pasos sucesivos permiten la progresión de la etapa G1 a la S (Esquema 7). Por otro lado, se ha constatado la acción de determinadas oncoproteínas víricas (tales como la del papilomavirus E6 y E7, y la EA1 del adenovirus, entre otros), que ejercen su acción sobre la pRB secuestrándola y dejando libre al E2F. Asimismo, las formas oncogénicas de la ciclina D actúan sobre la pRB fosforilándola con el mismo resultado (Hanahan *et al.*, 2000).

Por otra parte, diversas mutaciones hacen a esta proteína insensible a las señales antiproliferativas como ocurre en diversas neoplasias tales como el retinoblastoma, cáncer de pulmón, vejiga, mama. En el mismo sentido se ha identificado en el cáncer de tiroides una delección estructural en el exón 21 en el 55% de los casos, sin observarse ésta en las lesiones benignas, si bien inmunohistoquímicamente su expresión fue menor (Farid *et al.*, 1994). La proporción de mutaciones fue similar entre los casos de carcinomas diferenciados de tiroides y los anaplásicos. Se cree que la mutación de la pRB juega un importante papel en la transformación maligna así como en la progresión tumoral en el cáncer de tiroides (Farid *et al.*, 1994).

#### 1.5.2.2 P53

*TP53* es el gen supresor tumoral mejor estudiado y actúa como un gran regulador del proceso de apoptosis celular (Lundberg *et al.*, 1999). La proteína P53 (53 kDa), codificada por este gen, es crucial en el punto de control que detiene a las células con el ADN dañado en la fase G1, así como también juega un papel importante en el control de la transición de la fase G2 a M.

La P53 es un factor de transcripción que transactiva un gran número de genes. La cantidad de proteína P53 presente en la célula está regulada predominantemente a través de su degradación; en situaciones normales el nivel de expresión es muy bajo debido a su alta inestabilidad, que hace que sea rápidamente degradada por medio de la proteólisis mediada por ubiquitinización (Bury *et al.*, 2003). Diferentes estímulos de estrés celular, tales como la irradiación con rayos ultravioletas, gamma o bajos niveles de oxígeno, son capaces de activarla a través de la fosforilación mediada por la activación previa de cinasas.

## Introducción.

Una vez se produce su activación, la P53 promueve la transcripción de proteínas las cuales se agrupan en cuatro categorías: inhibidores del ciclo celular (incluyendo P21<sup>Kip1</sup>), proteínas relacionadas con la apoptosis, proteínas reparadoras del ADN e inhibidores de la angiogénesis (Vogelstein *et al.*, 2000).

La P53 está mutada en más del 50% de las neoplasias y estas mutaciones pueden ser de varios tipos y ocasionadas por varias causas (Vogelstein *et al.*, 2000).

La prevalencia de las mutaciones de la P53 en el carcinoma de tiroides es mucho menor en relación con tumores de otra localización, encontrándose en el 11% al 59% de las neoplasias tiroideas (Chen *et al.*, 1999; Dobashi *et al.*, 1993; Farid, 2001; Park *et al.*, 1998). La prevalencia en los casos asociados con radiación no es diferente, aunque sí existe una clara diferencia en cuanto a los codones implicados (Shahedian *et al.*, 2001).

Aunque el número de casos de carcinomas tiroideos que presentan mutaciones en la P53 no es muy alto, llama la atención la variabilidad que existe entre los diferentes codones afectados según las series, con implicación del codón 248 en dos series japonesas (Ito *et al.*, 1992; Ito *et al.*, 1993) y del codón 273 en una norteamericana (ambos con afectación del dominio de fijación del ADN específico de secuencia en las regiones IV y V) (Fagin *et al.*, 1993), hallándose una mutación del *frame-shift* en el caso de una serie italiana (Donghi *et al.*, 1993; Farid, 2001).

El aumento en la expresión de P53 en las neoplasias tiroideas no es sólo consecuencia de mutación sino que también puede estarlo como resultado de diferentes interacciones secundarias a la activación de otras vías. El oncogén *RET/PTC* reduce los niveles de P53 y se conoce igualmente que la vía PI3K, normalmente reprimida por el supresor tumoral PTEN, puede influir sobre los niveles de P53 por medio de fosforilación del MDM2 (Ogawara *et al.*, 2002).

Uno de los genes activados transcripcionalmente por la P53 es *P21*; la proteína resultante interacciona con los complejos ciclinas-CDK, que se establecen durante la fase G1, inhibiendo la actividad de la CDK y por tanto la progresión del ciclo celular hasta la reparación del ADN (Lodish *et al.*, 2002; Saltman *et al.*, 2006).

En condiciones normales, la proteína MDM2 reprime la capacidad de la P53 para activar la transcripción de la P21, así como favorece la degradación de la P53 a través de su ubiquitinización, conduciéndola a los proteosomas para su degradación. Por tanto la



proteína MDM2 inhibe la capacidad de la P53 de restringir el ciclo celular o eliminar la célula (Saltman *et al.*, 2006).

Sin embargo, se ha observado un mejor pronóstico en los tumores de tiroides bien diferenciados con sobreexpresión de MDM2, como también se ha demostrado en el caso de los melanomas. Una explicación para este hallazgo paradójico podría ser que la sobreexpresión del MDM2 fuera consecuencia de un incremento de la P53 funcional, que ejercería un efecto inhibitorio en el crecimiento tumoral y activaría al promotor del MDM2 como parte de su feed-back fisiológico (Saltman *et al.*, 2006).

Diferentes estudios han demostrado que la P53 está sobreexpresada en el carcinoma indiferenciado de tiroides y que es un indicador pronóstico en los carcinomas bien diferenciados de tiroides (Godballe *et al.*, 1998). Las mutaciones de la P53 son un evento tardío en la carcinogénesis tiroidea y, por tanto, son más frecuentes en los carcinomas pobremente diferenciados y en los anaplásicos (Ito *et al.*, 1992; Holm *et al.*, 1994; Katakai *et al.*, 2003; Omar *et al.*, 2004).

Aunque la expresión de la P53 en los carcinomas papilares de tiroides no es muy frecuente, algunos estudios señalan que se asocia con otros datos de mal pronóstico como un mayor tamaño tumoral (Morita *et al.*, 2008), variante de células altas y extensión extratiroidea (Hosal *et al.*, 1997), si bien otros autores no han encontrado tal asociación en estudios más recientes (Zafón *et al.*, 2007). Por otro lado, se ha observado una incidencia superior al 70% de la sobreexpresión de la proteína P53 en los ganglios metastáticos, independientemente del patrón expresado en el tumor primario (Morita *et al.*, 2008).

### 1.5.2.3 P63

La proteína P63 (codificada por el gen *TP63*, localizado en el cromosoma 3q27-29) es un miembro de la familia oncosupresora P53 junto con la P73 (Ozaki *et al.*, 2011).

La P63 está constituida por una región transcripcional-activada ácida N-terminal, una región media de unión al ADN y una región terminal carboxi, responsable de la oligomerización (Unger *et al.*, 2003). El gen *P63* muestra tres isoformas (alfa, beta y gamma) generadas por su lugar de unión alternativo en el extremo 3' del gen. Las diferentes isoformas juegan un importante papel en la transcripción, transactivación e inducción de la apoptosis como inhibidor competitivo de la P53. En total, el gen *P63*

## Introducción.

expresa al menos seis variantes de ARNm, las cuales codifican seis isoformas proteínicas diferentes (TAp63 $\alpha$ , TAp63 $\beta$ , TAp63 $\gamma$ ,  $\Delta$ Np63 $\alpha$ ,  $\Delta$ Np63 $\beta$  y  $\Delta$ Np63 $\gamma$ ) (Murray-Zmijewski *et al.*, 2006).

Se ha observado la presencia de esta proteína en las células madres del epitelio escamoso, sugiriendo un papel activador en la diferenciación de este tipo de epitelio así como de aquellos con una capacidad para la diferenciación hacia epitelio escamoso, como las células basales del epitelio bronquial, las células uroteliales o endometriales; por el contrario, aquellos que carecen de esta capacidad de diferenciación escamosa son consistentemente negativos para la expresión de la p63 (Burstein *et al.*, 2004; Unger *et al.*, 2003).

En condiciones normales las células tiroideas no expresan la p63 así como tampoco se ha observado su expresión en neoplasias tiroideas no CPT, ni en condiciones inflamatorias tipo enfermedad de Graves. Por el contrario, se ha objetivado su expresión en tumores o procesos en los que la diferenciación escamosa es común: tiroiditis de Hashimoto (80% de los casos), nidos celulares sólidos, así como en el CPT, siendo en este caso a expensas de la isoforma alfa (Burstein *et al.*, 2004; Rios-Moreno *et al.*, 2011; Tan *et al.*, 2011).

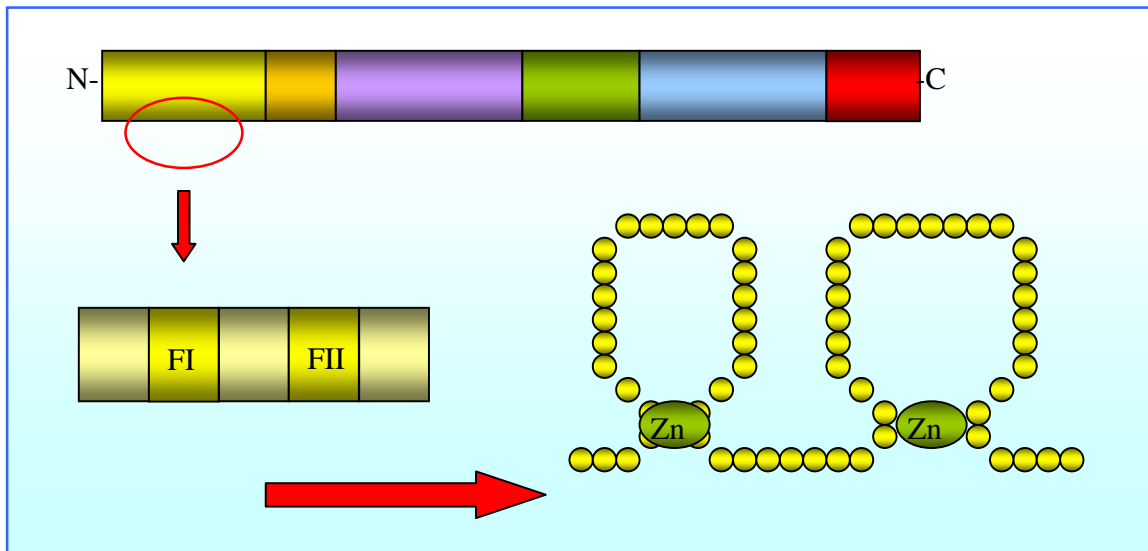
### 1.5.3 Proteínas reparadoras del ADN

#### 1.5.3.1 PARP-1 (Poli (ADP-Ribosa) polimerasa 1)

De los diferentes mecanismos existentes en la eliminación del daño en el ADN existen varias estrategias para la reparación de una única cadena, tales como la reparación por escisión de nucleótidos (NER), reparación por escisión de bases (BER), y reparación por malapareamiento (MMR). Asimismo, en el caso de la reparación de daños en la doble cadena existen dos alternativas constituidas por la recombinación homóloga (HHR) y la reparación por unión de extremos no homólogos (NHEJ) (Bernstein *et al.*, 2002). Hasta el momento se ha constatado la participación de la PARP tanto en la reparación por escisión de bases (BER), como en los procesos de reparación de roturas de cadena doble (HHR y NHEJ); estas y otras propiedades de la PARP le otorgan la cualidad de cuidadora del genoma (Hakem, 2008; Hakmé *et al.*, 2008).

Fue descrita inicialmente por el grupo de P. Mandel en 1963 (Chambon *et al.*, 1963), y posteriormente, en 1980, se describió su papel en la reparación del daño en la cadena de ADN por el grupo de S. Shall (Durkacz *et al.*, 1980). Es una proteína con peso molecular de 113 kDa que cataliza la transferencia de unidades de ADP-ribosa a partir de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD<sup>+</sup>), que actúa como sustrato, sobre los residuos carboxílicos de glutámico y aspártico de una serie de proteínas nucleares (Martin-Oliva *et al.*, 2006).

Hasta la fecha se han descrito 17 enzimas con secuencias homólogas del dominio catalítico de la PARP-1 (Amé *et al.*, 2004). Por lo que se conoce hasta ahora parece ser que sólo seis de estas proteínas pueden polimerizar ADP-ribosa, mientras que el resto sólo pueden transferir una única unidad de ADP-ribosa (Roleau *et al.*, 2010) y, por este motivo, se ha propuesto el término genérico de ADP-ribosil transferasas para esta familia de enzimas (Hottiger *et al.*, 2010).



Esquema 8 Esquema 8. Representación de la arquitectura de la PARP-1. Tomado de Martín-Oliva D.2006 y Leung M. 2011.

La PARP-1 actúa reconociendo el daño de el ADN ocasionado tanto por agentes genotóxicos como por estrés, infecciones y hormonas derivadas de esteroides (Gordon-Shaag *et al.*, 2003). Junto con su papel frente al daño del ADN, reparando y estabilizando el genoma, tiene otras funciones destacadas en otros hechos biológicos tales como la muerte y proliferación celular, así como la transformación neoplásica.

Desde el punto de vista estructural la PARP-1 tiene seis dominios (A, B, C, D, E, y F), encontrándose en el dominio A, localizado en el extremo N-terminal, dos estructuras en dedo de zinc donde se produce la interacción de la PARP-1 con el ADN (Esquema 8). Una vez la PARP-1 detecta el daño en la cadena de ADN se une a través del dominio de unión (donde se sitúan los dedos de zinc) activándose la acción catalítica de la enzima. En el extremo carboxi-terminal se encuentra el dominio catalítico que une el  $\text{NAD}^+$ . La ADP-ribosa es entonces transferida repetidamente desde el sustrato  $\text{NAD}^+$  al propio dominio de automodificación de la PARP-1 y a la histona, formando cadenas lineales y ramificadas de poli(ADP-ribosa). La poli(ADP-ribosilación) de la histona provoca una relajación del ADN que permite acomodar más cantidad de enzimas reparadores del ADN. La auto-poli(ADP-ribosilación) de la PARP crea una región, cargada negativamente, que media en la captación de proteínas de reparación por escisión de bases, disociándose posteriormente del ADN, y siendo degradadas entonces las cadenas de poli(ADP-ribosa) por la poli(ADP-

ribosa) glicohidrolasa (PARG) y posiblemente por la ADP-ribosa hidrolasa ARH3, una vez se resuelve la rotura de la cadena del ADN (Leung *et al.*, 2011; Rouleau *et al.*, 2010; Schreiber *et al.*, 2006).

Existen una gran diversidad de procesos celulares donde se encuentra involucrada la PARP-1, estableciendo su función como regulador de genes a partir de varios mecanismos como el control de la condensación de la cromatina, la metilación del ADN y la regulación transcripcional de represores/potenciadores, interviniendo por tanto en el control del metabolismo del ADN y de la estructura de la cromatina, control de la división, proliferación, diferenciación y muerte celular, así como en otros procesos fisiológicos y patológicos (tales como la carcinogénesis, progresión tumoral, hipoxia y migración tumoral, en la respuesta inflamatoria e inmune) (Caiafa *et al.*, 2009; Hakmé *et al.*, 2008; Kraus, 2008; Leung *et al.*, 2011). La función de esta enzima es, por tanto, crucial para la estabilidad genómica pero, bajo ciertas circunstancias, la actividad de la PARP-1 amplifica el daño tisular participando directamente en la muerte celular por apoptosis o necrosis o incrementando las señales inflamatorias, lo que conduce a daño celular secundario (Kirkland *et al.*, 2010). Es por ello que la inhibición de esta enzima en modelos de daño crónico de ADN tiende a producir inestabilidad genómica pero la misma inhibición puede prevenir las lesiones titulares que se producen en procesos agudos tales como ictus, infarto de miocardio o shock séptico (Kirkland *et al.*, 2010). En modelos animales de ratones deficientes en PARP-1 se ha comprobado que la ausencia de la enzima protege frente al shock séptico, diabetes tipo I, accidente cerebrovascular e inflamación (Martín-Oliva *et al.*, 2004). Además los animales deficitarios en PARP-1 reducen la susceptibilidad al cáncer de piel, lo que probablemente ocurre como consecuencia de que esta enzima es un coestimulador transcripcional de NF- $\kappa$ B, cuya activación parece ser clave en la carcinogénesis cutánea (Martín Oliva *et al.*, 2004).

En estudios que analizan la expresión de ARNm para esta enzima en tejidos humanos normales y tumorales (Ossovskaya *et al.*, 2010) se ha observado que la PARP-1 está sobreexpresada en varios tumores malignos como los de mama, útero ovario, pulmón y en linfomas en relación con los tejidos normales en los que, con excepción de los tejidos linfoides, su expresión es relativamente baja y uniforme. Por otra parte se observan también variaciones entre los distintos subtipos de neoplasias de un determinado tejido; así por ejemplo los tumores de mama negativos para receptores de estrógenos, de

progesterona y/o para HER2, incluyendo el subtipo triple negativo, tiene una mayor sobreexpresión que los subtipos positivos para estos receptores. La sobreexpresión de PARP-1 no parece ser, sin embargo, una característica universal de todos los tipos de cáncer y en tumores tales como los de la glándula adrenal, hueso, colon y próstata su aumento, con respecto al tejido normal, no es tan alto (Ossovskaya *et al.*, 2010). En el estudio de V. Ossovskaya no se observó, asimismo, sobreexpresión de PARP-2 en los tejidos tumorales. Si se considera que la PARP-2 forma un complejo con la PARP-1 y que interviene también en la regulación de la reparación del ADN y en el ciclo celular, parece más bien que la sobreexpresión de PARP-1 es probablemente una característica de algunos tipos de tumores que la consecuencia de una rápida proliferación.

A diferencia del estudio anterior K. Nosho y colaboradores si encontraron sobreexpresión de PARP-1, tanto de ARNm como inmunohistoquímica, en adenomas de colon y carcinomas en estadio pT1 (Nosho *et al.*, 2006). Estos autores encontraron que la expresión de PARP-1 estaba en relación con el tamaño de los tumores, que era mayor en los carcinomas que en los adenomas y, entre estos últimos, más elevada en los adenomas vellosos que en los adenomas tubulares; este hecho junto con la asociación entre la expresión de PARP-1 y  $\beta$ -catenina (Hirai *et al.*, 1983) refuerzan la idea de que la sobreexpresión de PARP-1 juega un papel importante en las primeras etapas de la carcinogénesis, al menos en el caso del carcinoma colo-rectal, donde la PARP-1 podría estar directamente regulada por el complejo TFC-4/ $\beta$ -catenina por medio del Ets y/o *c-MYC* (Nosho *et al.*, 2006).

### 1.5.3.2 PTTG-1

La proteína PTTG-1 (proteína transformante tumoral de la pituitaria), es equivalente a la securina de algunas levaduras y está codificado por el gen *PTTG1* aislado por primera vez en 1997 en la hipófisis de rata (Pei *et al.*, 1997). Posteriormente se clonó su homólogo humano a partir de células del testículo (Kakar, 1999). La familia de genes PTTG humana consiste en tres genes homólogos: *PTTG-1*, *PTTG-2*, y *PTTG-3* (Tfelt-Hansen *et al.*, 2006).

El gen *PTTG-1* está localizado en el cromosoma 5q33 y codifica una proteína de 22kDa (Saez *et al.*, 2006) y 203aa que se localiza en el citoplasma de las células principalmente y parcialmente en el núcleo. Esta proteína posee, como se ha comentado

antes, una función equivalente a la securina de las levaduras. Inhibe la separación temprana de las cromátidas hermanas y de esta forma interviene en la división celular impidiendo que se produzca de forma prematura, para asegurar que las dos células surgidas de esa división tengan el mismo número de cromosomas. Además está implicada en numerosos procesos celulares como la reparación del ADN, apoptosis y angiogénesis e interactúa con otras proteínas y genes como la *TP53*, *bFGF* y *MYC*. (Vlotides *et al.*, 2007). A excepción del timo y del testículo los niveles de PTTG-1 son bajos o indetectables en los tejidos humanos adultos pero aumentan en células proliferantes. La sobreexpresión del PTTG se ha observado en numerosas neoplasias tales como las de hipófisis, colon, testículo, neoplasias hematopoyéticas y de tiroides (Genkay *et al.*, 2006). En el caso de algunas de ellas y en concreto en el cáncer de tiroides su sobreexpresión se ha relacionado con el pronóstico (Boelaert *et al.*, 2007; Saez *et al.*, 2006; Salehi *et al.*, 2008).

La PTTG-1 comparte el 91 y 89% de la secuencia de aminoácidos con las isoformas PTTG-2 y PTTG-3 respectivamente; la PTTG-2 está presente en numerosos tejidos mientras que la PTTG-3 es prácticamente indetectable. Aunque el papel fisiológico de éstas no está completamente definido si parece que el balance entre ellas determina su función (Prezant *et al.*, 1999).

#### 1.5.4 Proteínas reguladoras de la apoptosis

##### 1.5.4.1 Caspasas

Estas enzimas se denominan así por ser cisteinproteasas que escinden de forma selectiva las proteínas en los sitios inmediatos, en dirección terminal C, a restos de aspartato; estas proteasas tienen objetivos específicos, tales como las proteínas de la lámina nuclear y del citoesqueleto. La escisión de éstos conduce a la muerte de la célula (Lodish H. 2002).

La caspasa-1 [enzima convertidora de interleuquina 1-b (ICE)] fue la primera enzima aislada, integrante de una gran familia de proteasas cuyos miembros tienen diferentes funciones. La activación de las caspasas parece ser una característica común en la mayoría de los programas de muerte celular (apoptosis). En los mamíferos se han identificado 14 miembros, compuestos por dos grandes subfamilias que están relacionadas con ICE (grupo inflamatorio) o con el homólogo de mamíferos CED-3 (grupo apoptótico).

## Introducción.

El primer grupo de las caspasas iniciadores o inflamatorias, estaría formado por la caspasa-10, la caspasa-9 que se une a la Apaf-1 y la caspasa-8 que es estimulada por interacciones de tipo Fas-Fas L. Dentro del segundo grupo (caspasas efectoras) se encuentran la caspasa-3, 6 y la 7, las cuales alteran el citoesqueleto al fragmentar las proteínas del mismo y de la matriz nuclear (Siraj *et al.*, 2011).

Las caspasas son sintetizadas como zimógenos, que se escinden proteolíticamente para pasar a su forma activa, constituida por un heterotetrámero. Se han descrito tres vías en la activación de las caspasas:

1-Activación por otra caspasa, constituye un mecanismo en cascada usado por la caspasa-3,-6 y -7.

2-Activación inducida por proximidad, proceso utilizado por la caspasa-8 a través de los ligandos Fas.

3-Asociación con una subunidad reguladora por medio de un proceso ATPdependiente, la forma en que se activa la caspasa-9, originando un cambio en su estructura (Alnemri *et al.*, 1996).

Por tanto las caspasas efectoras se activan proteolíticamente por otras caspasas, mientras que las iniciadoras lo hacen mediante interacciones reguladas proteína-proteína (Lodish *et al.*, 2002).

Los estudios sobre actividad de las caspasas y cáncer de tiroides son limitados. Algunas investigaciones señalan una mayor actividad de la caspasa 3 en el carcinoma papilar en las fases más precoces de crecimiento, con respecto a las formas más avanzadas (Mishunina *et al.*, 2010), sin embargo otros autores no han hallado una correlación significativa entre la expresión inmunohistoquímica de la caspasa-3 y el estadio clínico (Zhang *et al.*, 2009).

En el estudio de C. Weidinger y cols, en el que se analiza la expresión de caspasa 3-s (una variante de caspasa 3 con actividad antiapoptótica) se encuentra mayor expresión, tanto desde el punto de vista inmunohistoquímico como del ARNm, en el carcinoma papilar, folicular y anaplásico con respecto al tejido tiroideo normal o con patología benigna (Weidinger *et al.*, 2010).



## 1.5.6 Proteínas reguladoras de la longitud de los telómeros

### 1.5.6.1 Telomerasa

Las telomerasas son enzimas, conocidas también como transcriptasas inversas, que están encargadas de la reparación de los telómeros después de la mitosis y juegan por ello un importante papel en la estabilidad cromosómica. A diferencia de las virales y del resto de las ADN polimerasas sintetizan ADN telomérico *ex novo*, sin necesidad de cebador alguno (Rodríguez *et al.*, 2003). En los vertebrados las telomerasas consisten en grupos de bases con una cadencia repetida formada por la secuencia TTAGGG. El estudio de la telomerasa para la distinción entre las lesiones benignas y malignas ha centrado la atención de numerosos estudios científicos en los últimos años (Gómez, 2007).

La telomerasa está constituida por dos componentes, el primero de ellos, de naturaleza ribonucleotídica (hTR), que constituye el patrón o guía para la síntesis de nuevas secuencias teloméricas. El segundo componente, de naturaleza proteica, integrado a su vez por dos tipos de proteínas (las estructurales hTP1, hStau y L22) y las catalíticas (hTERT) (Ramakrishnan *et al.*, 1997). En líneas celulares inmortalizadas, carcinomas, células premalignas y aquellas con capacidad proliferativa a largo plazo es donde se expresa habitualmente el gen de la hTERT (parte catalítica), mientras que el gen de la hTR y el gen de la hTP1 (parte estructural) se expresan también en células normales (Saji *et al.*, 1999).

La técnica más utilizada para detectar la actividad de la enzima telomerasa en los diversos tejidos es el protocolo de amplificación repetida de la telomerasa (Telomere Repeat Amplification Protocol [TRAP]) (Kim *et al.*, 1994). En un estudio elaborado por el grupo de M. Saji donde se evaluó, a partir de las muestras histológicas de tiroidectomías que incluían tanto tiroides normales como tumorales (carcinomas papilares), se encontró actividad de la telomerasa, determinada a través del TRAP, en un 67% de las lesiones malignas frente al 0% en las benignas (Saji *et al.*, 1997). Otros autores obtuvieron resultados similares, oscilando del 33,3% al 66,6% en el caso de las lesiones malignas al 0% en el caso de las lesiones benignas (Lerma *et al.*, 2005; Trulsson *et al.*, 2003). En el caso de neoplasias foliculares se ha llegado a una conclusión parecida, tanto aplicando técnicas de PCR como inmunohistoquímicas (Umbricht *et al.*, 1997; Wang *et al.*, 2005).

## Introducción.

La determinación por PCR de la expresión de h-TERT parece dar un resultado mejor que la determinación de la actividad de la telomerasa. Con este procedimiento se observó expresión del gen en un rango del 68,4% al 89,4% de los casos de lesiones malignas de tiroides y del 8,3% al 28% de las lesiones benignas, aunque éstas últimas presentaban un denso infiltrado inflamatorio linfocitario en el examen histológico (Saji *et al.*, 1999; Umbricht *et al.*, 2004).

Además, se ha demostrado que la positividad inmunohistoquímica para telomerasa se relaciona de forma directa con el pronóstico de las neoplasias tiroideas malignas en niños (Straight *et al.*, 2002).

## 1.5.7 Enzimas

### 1.5.7.1 Tiroperoxidasa (TPO 47)

La peroxidasa tiroidea es la enzima principal en la síntesis de la hormona tiroidea. Es una enzima glicosilada unida fundamentalmente a la membrana de la célula folicular, sobre todo en su porción apical, y su función principal es la de catalizar la oxidación del yoduro a yodo. Está codificada por un gen situado en el cromosoma 2, constituido por 17 exones y 16 intrones, que se transcribe a un ARNm de 3Kb.

El anticuerpo anti-TpO que ha demostrado mayor utilidad es el anticuerpo monoclonal TPO47 (De Micco *et al.*, 1991), los estudios realizados con técnicas inmunohistoquímicas para este marcador, tanto en secciones tisulares como en citología demuestran que puede ser un buen marcador de benignidad, ya que su expresión está disminuida en los procesos malignos, considerándose que la permanencia de su expresión, en el caso de los CPT, indicaría un mejor pronóstico (Savin *et al.*, 2008). Estos hallazgos sugieren que las alteraciones en la expresión de la tiroperoxidasa podrían estar en relación con cambios en la cantidad y/o en las propiedades antigénicas de la enzima como consecuencia de la transformación neoplásica (Christensen *et al.*, 2000; De Micco *et al.*, 1994<sup>a</sup>; De Micco *et al.*, 1994<sup>b</sup>; De Micco *et al.*, 1999; Faroux *et al.*, 1997; Henry *et al.*, 1994; Vidal-Rios *et al.*, 2002).

De igual forma, en el estudio llevado a cabo por Y. Huang *et al.* con micromatrices de DNA en carcinoma papilar de tiroides la expresión del gen de la tiroperoxidasa está disminuida (Huang *et al.*, 2001).

En algunos estudios se señala que un 80% de células con inmunorreactividad sería el punto de corte para que una neoplasia se considerara como positiva, y menor a este porcentaje como negativa (aunque en las lesiones malignas la positividad desciende habitualmente por debajo del 20%) (Saggiorato *et al.*, 2005).

### 1.5.7.2 Ciclooxygenasa (COX)

Es una enzima que cataliza la síntesis de prostaglandinas a partir del ácido araquidónico y se conoce también con el nombre de sintetasa de prostaglandina H. Existen dos isoformas de esta enzima, la COX-1 y COX-2; la primera es constitutiva en

## Introducción.

muchos tipos celulares y, por tanto, se expresa en estado de quiescencia mientras que la COX2 se induce como respuesta a la activación celular y a ciertos estímulos como el estrés y el daño celular (Hla *et al.*, 1999), en respuesta a mitógenos, promotores tumorales, citocinas, y ácidos grasos libres (Kajita *et al.*, 2005).

Los productos de la activación de la COX-2 parecen estar implicados en la carcinogénesis a través la promoción de la angiogénesis, inhibición de la apoptosis e incremento de la invasión y proliferación celular. La COX-2 modula la producción de VEGF y su expresión conjunta con TGF $\beta$  y VEGF en las mismas áreas sugiere una expresión coordinada de éstos factores en la angiogénesis tumoral (Fosslien, 2001) (Krawczyk-Rusiecka K. 2011).

Se ha descrito una expresión anormal de COX2 en ciertos procesos inflamatorios como la artritis reumatoide y en algunos tipos de cánceres epiteliales como el colorrectal, gástrico, mamario y el de pulmón de células no pequeñas (Hla *et al.*, 1999). Para algunos tumores tales como cervix (Kulkarni *et al.*, 2001), estómago (van Rees *et al.*, 2002) o colon (Soslow *et al.*, 2000), entre otros, se ha demostrado relación de esta sobreexpresión con un peor pronóstico, probablemente por una mayor capacitación para la invasión y la metástasis. Es interesante señalar en este sentido, la existencia de estudios epidemiológicos que demuestran un papel protector de los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (que actúan inhibiendo tanto la COX-1 como la 2) en el cáncer colorrectal y gástrico y en la enfermedad de Alzheimer (Greenberg *et al.*, 1996).

Los estudios realizados hasta el momento en patología tiroidea señalan que COX-2 se expresa en tiroiditis de Hashimoto y el carcinoma diferenciado de tiroides (papilar y folicular) pero no en procesos benignos. El hecho de que la COX-2 aumente su intensidad de expresión tanto en patología inflamatoria como en benigna y maligna hace suponer que sea poco probable un papel relacionado con la progresión neoplásica en el cáncer de tiroides y, probablemente, su participación sea relevante en las fases iniciales de la carcinogénesis, especialmente en el CPT (Casey *et al.*, 2004; García-Gonzalez *et al.*, 2005; Ito *et al.*, 2003), postulándose como un buen marcador diagnóstico de éste pero no para la variante folicular (Lo *et al.*, 2005), en consonancia con otros hallazgos moleculares, tales como la ausencia de la activación del oncogén *RET* (Lam *et al.*, 1998<sup>a</sup>).

La relación de la edad y la expresión de COX-2 en el cáncer tiroideo ha mostrado unos resultados contradictorios; algunos autores encuentran una reducción significativa de

su expresión en el grupo de pacientes con mayor edad (Ito *et al.*, 2003), hallazgo que a pesar de ser observado por otros investigadores no alcanzó un nivel de significación estadística suficiente (Krawczyk-Rusiecka *et al.*, 2011) y, por el contrario, no se observaron diferencias en la expresión de COX-2 con respecto a la edad de los enfermos en otros estudios (García-Gonzalez *et al.*, 2005), e incluso en algunos se señala un patrón de COX-2 inverso, con una mayor expresión en el grupo de pacientes de mayor edad (Erdem *et al.*, 2011; Siironen *et al.*, 2005).

Aunque algunos estudios indican que COX-2 podría ser un buen marcador de malignidad (Cornetta *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2008; Nose *et al.*, 2002; Specht *et al.*, 2002) su utilidad discriminante en la patología del tiroides ha sido puesta en duda por algunos autores (Krawczyk-Rusiecka *et al.*, 2011). Esta discrepancia puede estar relacionada con el hecho de que estos trabajos se han realizado sobre un número muy pequeño de casos; sólo tres publicaciones (Casey *et al.*, 2004; García-Gonzalez *et al.*, 2005; Ito *et al.*, 2003) sobrepasan los 72 pacientes.

### 1.5.8 Proteínas relacionadas con la adhesividad celular

El funcionamiento coordinado de muchos tipos de células dentro de los tejidos y de múltiples tejidos especializados entre sí, depende de la capacidad que las células poseen de interactuar entre ellas y con la matriz extracelular. Diversas proteínas integrantes de la membrana celular, con afinidades específicas para los diferentes componentes del espacio extracelular, facilitan esta función, conociéndose en conjunto como moléculas de adhesión celular (Lodish *et al.*, 2002).

#### 1.5.8.1 Galectina-3

La galectina 3 (Gal-3) es un miembro de la familia de las lectinas de 31 kDa, con una estructura pentamérica, que se une a las  $\beta$ -galactósidasas de las glicoproteínas y glicolípidos de la superficie celular a los que aglutina formando un enrejado que está involucrado en la señalización celular y endocitosis. Posee un territorio C-terminal, responsable del reconocimiento de carbohidratos, a los que se une mediante lectina. (Dumic *et al.*, 2006). El territorio N-terminal es rico en prolina, tirosina y glicina y posibilita la formación de pentámeros y, por tanto, del enrejado de galectina de la membrana celular que está implicado en la señalización y estabilización de receptores (Chiu *et al.*, 2010).

La Gal-3 se localiza principalmente en el núcleo pero también se encuentra en el citoplasma y en la membrana celular. La forma fosforilada ha sido identificada tanto en el núcleo como en el citoplasma, mientras que la no fosforilada se encuentra exclusivamente dentro del núcleo (Chiu *et al.*, 2010). Aunque no hay un conocimiento exacto de todas sus funciones, se conoce que participa en procesos de regulación del crecimiento, apoptosis, adhesión y motilidad celular y en el procesamiento del ARNm (Jia *et al.*, 1988; Liu *et al.*, 1996). Se piensa que la Gal-3 actúa en el ciclo celular normal, sobrerregulándose y translocándose al núcleo. La reducción de la expresión de la galectina-3 por silenciamiento del ARN induce apoptosis en el carcinoma papilar (Chiu CG. 2010) (Lin CI. 2009).

Recientemente se ha demostrado la implicación de la Gal-3 en la vía apoptótica de la P53/HIPK2. De hecho, estudios inmunohistoquímicos han evidenciado una correlación positiva entre la expresión de la Gal-3 con la P53 con una concordancia superior al 70% en el caso de los carcinomas anaplásicos. Estos hallazgos sugieren una actividad

coordinada en el cáncer tiroideo. Así como la P53, existen otras proteínas reguladoras de la apoptosis, tales como el CD95 y la nuclina que también han mostrado su interacción con la Gal-3 (Chiu *et al.*, 2010).

En términos generales la expresión inmunohistoquímica de Gal-3 se considera un procedimiento sensible y específico para el diagnóstico del carcinoma tiroideo; muchos estudios han demostrado diferencias en la expresión de Gal-3 en los carcinomas de tiroides, en comparación con lesiones benignas o tejido tiroideo normal, especialmente para el carcinoma papilar (Chiu *et al.*, 2010). Los resultados para el carcinoma folicular y la variante folicular del carcinoma papilar no son tan consistentes (Bartolazzi *et al.*, 2001; Ito *et al.*, 2005; López-Mondejar *et al.*, 2008; Martins *et al.*, 2002; Mehrotra *et al.*, 2004; Savin *et al.*, 2008), aunque estas diferencias pueden también tener una base metodológica (Chiu *et al.*, 2010). En el caso del carcinoma papilar se considera además un marcador de mal pronóstico (Chiu *et al.*, 2010).

#### 1.5.8.2 CD44

Bajo esta denominación (CD44), se incluye a una familia de glicoproteínas de superficie celular que están implicadas en la interacción célula-célula, célula-matriz extracelular, activación linfocitaria, migración celular, y en el crecimiento y progresión tumoral. CD44 puede reconocerse como molécula estándar (CD44s), que constituye el principal receptor para el ácido hialurónico, o como múltiples isoformas (CD44v), generadas a partir de un acoplamiento alternativo, de 10 variantes de exones (v1 a v10), cada uno de los cuales codifica una parte del dominio extracelular de la molécula (Gasbarri *et al.*, 1999).

Se ha constatado la participación del CD44v6 en la generación de metástasis y angiogénesis ya que facilita la activación de los receptores tirosinquinasa (RTK) c-Met y VEGFR-2 (Orian-Rousseau *et al.*, 2007). En este sentido, se ha conseguido inhibir la capacidad metastásica de ciertos tumores, en modelos experimentales, con anticuerpos CD44v6 específicos (Tremmel *et al.*, 2009).

Aunque el receptor CD44s se expresa en el tejido tiroideo normal, la isoforma CD44v6, implicada en el proceso de desregulación del crecimiento celular (Naor *et al.*, 1997), no se encuentra en los tirocitos normales y se expresa de forma variable en diversos procesos patológicos. Así se ha encontrado en el 53% de las hiperplasias

nodulares (Gasbarri *et al.*, 1999). Si bien es cierto que la expresión aislada del CD44v6 en el estudio de los nódulos tiroideos no es suficiente para diferenciar por sí sola entre lesiones malignas y benignas, sí parece ser altamente útil en asociación con otros marcadores biológicos tales como la galectina 3. De esta forma la coexpresión de estos dos marcadores presenta una sensibilidad y especificidad para distinguir entre lesiones benignas y malignas de un 84.6% y 98% y para diferenciar los adenomas foliculares de los carcinomas foliculares de un 86% y 94.7% respectivamente, mostrando un VPP del 89.8% y un VPN del 95.3% para este segundo caso. Estos resultados se confirmaron también con RT-PCR (Gasbarri *et al.*, 1999).

### 1.5.8.3 CD57

El CD57 (HNK-1 o Leu-7) es un antígeno oligosacárido que se expresa en células de diferentes linajes. Se identificó por primera vez en linfocitos con actividad natural killer (Abo *et al.*, 1981) y posteriormente se comprobó que los anticuerpos anti-CD57 se unían a glicoproteína asociada a mielina (McGarry *et al.*, 1983), así como en tumores tiroideos junto con neoplasias de otras localizaciones. Aunque su función no es del todo conocida, se cree que desempeña un papel durante la embriogénesis como molécula de adhesión (Khan *et al.*, 1998).

La tinción para CD57 se ha encontrado útil en la identificación de diversas células y neoplasias, en parte porque el anticuerpo monoclonal específico reconoce a un antígeno polisacárido que está presente en múltiples polipéptidos. Además de las células mencionadas antes, la positividad para CD57 sirve en el reconocimiento de los tumores de nervio periférico, del sistema nervioso central, de las células neuroendocrinas normales y neoplásicas y del epitelio prostático hiperplásico y neoplásico (Arber *et al.*, 1995).

Esta molécula de adhesión también se ha propuesto como un marcador útil en el diagnóstico del carcinoma papilar (Chandan *et al.*, 2006), el diagnóstico diferencial de la variante folicular del carcinoma papilar y el adenoma folicular (Khan *et al.*, 1998) y entre adenoma folicular y carcinoma folicular (Nasir *et al.*, 2004). Hay autores, sin embargo, que no han encontrado utilidad al CD57 para el diagnóstico de las neoplasias tiroideas (Ostrowski *et al.*, 1995) lo que puede ser consecuencia del tipo de técnica y de anticuerpo utilizado, así como de la interpretación de la inmunotinción; así el estudio de Chandan (Chandan *et al.*, 2006) sólo en los casos neoplásicos se observó tinción de membrana y/o



citoplasmática, mientras que los casos sin patología neoplásica mostraban sólo tinción citoplasmática.

#### 1.5.8.4 E-cadherina

Las moléculas de adhesión son un grupo heterogéneo de proteínas con una estructura y función muy variada, mientras que en muchas de ellas su función primordial es la adhesión celular, algunas como la  $\beta$ -catenina, tienen un papel mediador en la regulación y proliferación celular. Las moléculas de adhesión pueden unirse a otras moléculas de adhesión idénticas (unión homotípica), o adherirse a otras moléculas de adhesión de diferente tipo o substrato (unión heterotípica). Las moléculas de adhesión se agrupan en cuatro grupos por similitudes en su estructura molecular; estos grupos son los formados por las cadherinas, la superfamilia de las inmunoglobulinas, integrinas y las selectinas (Bury *et al.*, 2003<sup>b</sup>).

La E-cadherina, una glicoproteína de 120 kDa con un dominio transmembrana, es una molécula de adhesión intercélular calcio dependiente que contribuye a la morfogénesis por interacción homofílica. Está presente en todos los tejidos epiteliales humanos, sin embargo, la expresión de la E-cadherina puede silenciarse por hipermetilación del promotor del gen *CDHI*. Se ha constatado una correlación entre la pérdida de la expresión de la E-cadherina y la capacidad de los tumores a invadir y metastatizar, aunque, en algunos estudios, no se ha obtenido la potencia estadística suficiente como para ser considerado como un marcador capaz de predecir por sí solo el comportamiento del tumor (Naito *et al.*, 2001). En el carcinoma anaplásico de tiroides se ha observado una pérdida de su expresión tanto en estudios inmunohistoquímicos como con inmunofluorescencia o PCR; en los casos de carcinomas papilares y foliculares también se ha objetivado una pérdida de la expresión de la E-cadherina, aunque de forma más variable (Brabant *et al.*, 1993).

#### 1.5.8.5 P-cadherina

La P-cadherina es una molécula de adhesión calcio dependiente, normalmente expresada en la capa basal de las células de los epitelios planos estratificados (Shimoyama *et al.*, 1989), su expresión se ha constatado en diferentes tipos de tumores epiteliales, confiriendo en algunos casos un peor pronóstico.

## Introducción.

La sobreexpresión de la P-cadherina en los tumores epiteliales se relaciona con la disminución de la expresión de la E-cadherina, lo que pudiera ser consecuencia de un intercambio en la expresión de las cadherinas en el citoplasma de las células tumorales (Cavallaro *et al.*, 2002). No se ha observado expresión de P-cadherina en el tejido tiroideo normal, pero si en la mayoría de los carcinomas papilares de tiroides mediante estudios inmunohistoquímicos, con disposición intracitoplasmática. También se ha detectado, a bajos niveles, en algunos casos de tiroiditis de Hashimoto. Por el contrario, no se ha encontrado expresión significativa en casos de carcinoma folicular, adenomas foliculares ni en la variante folicular del carcinoma papilar (Murphy *et al.*, 2008).

### 1.5.8.6 $\beta$ -catenina

Como se ha comentado en el apartado 1.4.1.8.7 la  $\beta$ -catenina juega un papel crucial en el mantenimiento de la adhesión celular así como en la promoción y crecimiento celular.

El patrón de expresión de la  $\beta$ -catenina dentro de los diferentes compartimentos celulares ha sido descrito en numerosos tipos tumorales (Miyoshi *et al.*, 1998; Voeller *et al.*, 1998), así como en el caso del cáncer de tiroides (Rezk *et al.*, 2004) donde a través de la expresión inmunohistoquímica de esta proteína se ha observado que una reducción de su presencia a nivel membranoso se asocia con una alteración de la adhesión intercélular, así como con una mayor capacidad metastásica (García-Rostán *et al.*, 2001; Rocha *et al.*, 2003). Particularmente, en el caso del CPT variante cribiforme asociada a la poliposis adenomatosa familiar se ha comunicado su expresión nuclear (Kurihara *et al.*, 2000).

## 1.5.8 Proteínas de superficie celular

### 1.5.8.1 Ag HBME-1

Es un antígeno presente en las microvellosidades apicales de las células mesoteliales (Sheibani *et al.*, 1992), que puede ser reconocido por un anticuerpo monoclonal y se encuentra ampliamente representado en los tumores malignos de tiroides (Prasad *et al.*, 2005). La expresión de HBME-1 ocurre predominantemente en los carcinomas papilares (Cheung *et al.*, 2001; Miettinen *et al.*, 1996). En un estudio realizado por Papoti *et al.* sobre la expresión de HBME-1 y Gal-3 en neoplasias foliculares de significado incierto se encontró positividad para estos marcadores en aquellas lesiones que se habían catalogado así por la presencia de cambios nucleares heterogéneos característicos de carcinoma papilar y, sin embargo, aquellas que se clasificaron como tales en base a una dudosa infiltración capsular y/o vascular tuvieron una positividad escasa o fueron negativas. Estos resultados señalan que la expresión de estos marcadores está ligada patogénicamente al carcinoma papilar (Papotti *et al.*, 2005).

Se ha encontrado asociación entre la expresión del HBME-1 y las lesiones con alteraciones moleculares tales como las translocaciones PAX8-PPAR $\gamma$  y las mutaciones del oncogén *RAS* (Nikirofova *et al.*, 2003).

En algunos estudios (Moyano *et al.*, 2004) se encuentra que la tinción inmunohistoquímica para HBME-1 tiene una alta sensibilidad (88,9%) y especificidad para el diagnóstico de carcinoma de tiroides, sin presentar tinción positiva las lesiones benignas. En confrontación con estos resultados, otros estudios sí encuentran expresión de este marcador en los adenomas, poniendo en duda su idoneidad para distinguir las lesiones malignas de las benignas (Saleh *et al.*, 2010).

### 1.5.8.2 Queratán sulfato

El queratán sulfato (KS) es una molécula perteneciente al grupo de las glicosaminas sulfatadas y está constituida por un polímero lineal con repetición de unidades de disacáridos (poli-N-acetil lactosamina sulfatada). La estructura primaria está compuesta por tres regiones; una región de unión, otra de repetición de la unidad de disacáridos y, por último, una tercera en el extremo opuesto a la región de unión, denominada como región de sellado o final (Ito *et al.*, 1996). Se encuentra en forma de

## Introducción.

proteoglicanos en los que las cadenas de KS están unidas a proteínas de la superficie celular o a proteínas de la matriz extracelular que se denominan proteínas centrales.

El KS se ha encontrado principalmente en la córnea, cartílago y hueso, designándose como KS I, KS II o KS III en función del lugar donde fue aislado.

La clasificación actualmente utilizada se basa en cual es el residuo aminoácido de la proteína central por el que se une a ella y no en el tejido de procedencia; así bajo el término KS I se incluyen todas las moléculas KS cuya región de unión se une a residuos Asn y bajo el de KS II aquellas con unión a la proteína a través de GalNAc-O-Ser/Thr. El KS III tendrían una región de unión con capacidad de unirse a residuos Ser o Thr por medio de la manosa (Man-O-Ser) (Funderburgh *et al.*, 2000).

Magro *et al.* fueron capaces de obtener un anticuerpo monoclonal (373E1) que reconoce el KS producido por el CPT (Magro *et al.*, 2003). Estos autores concluyen en su estudio que las macromoléculas que portan KS, en el caso concreto del CPT, son formas anormales (glicosadas) de tiroglobulina y lactoferrina.

En condiciones habituales el tiroides normal o hiperplásico no expresa, o sólo de forma ocasional y focalmente KS, sin embargo en el caso del CPT se observa una amplia e intensa expresión del mismo, independientemente del tamaño, presencia o no de metástasis o de la variante histológica. Dicha expresión muestra diferentes patrones de tinción (membrana, citoplasma y/o luminal).

Según las series el porcentaje de expresión en el caso del CPT oscila entre el 76 al 100%, y en el CFT entre el 21 al 30%, sin objetivarse casos positivos en el carcinoma anaplásico ni en el medular (Magro *et al.*, 2003) (Saggiorato *et al.*, 2005).

### 1.5.9 Proteínas del citoesqueleto

Como en el caso de otros tejidos y tumores varios estudios han analizado la expresión de queratinas en el tejido tiroideo normal y en las neoplasias tiroideas (Nasr *et al.*, 2006) (Rapheal *et al.*, 1994). De todas las queratinas estudiadas la citoqueratina 19 ha mostrado ser la más útil en el diagnóstico diferencial entre lesiones tiroideas benignas y malignas y, muy especialmente, para el diagnóstico de los carcinomas papilares (Nasser *et al.*, 2000).

#### 1.5.9.1 Citoqueratina 19

La citoqueratina 19 (CK19) es una queratina de bajo peso molecular presente en las células de los epitelios simples y de forma minoritaria en los epitelios estratificados, como la capa de células basales, constituyendo filamentos intermedios.

En las células foliculares normales sólo se encuentra CK 19 de forma muy ocasional y esporádica, mientras que, utilizando anticuerpos frente a esta queratina, se observa una positividad intensa en los carcinomas papilares, a diferencia de lo que ocurre en las lesiones foliculares, tanto carcinomas como adenomas que presentan una tinción muy errática (Beesley *et al.*, 2002; Cheung *et al.*, 2001; Nasser *et al.*, 2000).

Se ha concluido, por tanto, que su determinación inmunohistoquímica es útil, especialmente si se asocia a la determinación de otros marcadores (de Matos *et al.*, 2005; Nasr *et al.*, 2006).

## 1.5.11 Marcadores de proliferación

### 1.5.11.1 Ki67

El antígeno nuclear Ki67 se expresa en las células en fase proliferativa (G1, S, G2 y mitosis); su detección inmunohistoquímica tiene una amplia utilidad y, en el caso las neoplasias, aporta información pronóstica de gran interés, ya que es la base para determinar el índice proliferativo (Brown *et al.*, 2002; Saad *et al.*, 2006). Uno de los anticuerpos más ampliamente utilizado es el MIB-1 (Cattoretti *et al.*, 1992; Kjellman *et al.*, 2003).

En la patología tiroidea se han desarrollado varios trabajos (tanto en material citológico obtenido mediante PAAF, como en tejido fijado en formol) para valorar su utilidad en el diagnóstico de lesiones malignas (Ito *et al.*, 2010; Sofiadis *et al.*, 2009), con resultados no siempre coincidentes, aunque en general los tumores con índices proliferativos altos tienden a tener peor pronóstico (Ito *et al.*, 2009). En algunas investigaciones se señala que aquellos casos con un índice proliferativo superior a 1% tienen una supervivencia libre de enfermedad significativamente peor y si supera el 3% baja la supervivencia causa específica (Ito *et al.*, 2010; Sofiadis *et al.*, 2009). El carcinoma indiferenciado de tiroides presenta un porcentaje de células positivas para Ki67 muy alto y en los carcinomas de células de Hürthle el porcentaje de células que expresan Ki 67 guarda relación con el pronóstico (Hoos *et al.*, 2001).

Tanto el inhibidor de cinasa dependiente de ciclina P27<sup>KIP1</sup> como el marcador de proliferación Ki67/MIB-1 se han propuesto como indicadores pronósticos conjuntos del cáncer de tiroides, de tal forma que la pérdida de expresión de la P27 junto a un índice proliferativo alto, determinado con anticuerpos frente a Ki67, se relacionarían negativamente con la supervivencia de estas neoplasias (Tallini *et al.*, 1999). Existen otros marcadores de la actividad proliferativa tales como el PNCA (Antígeno nuclear de célula proliferativa) que ha mostrado menos utilidad que el Ki67 (Sullivan *et al.*, 1993).

Para el conteo del índice proliferativo por Ki67/MIB-1 se requieren unas condiciones de fijación del tejido adecuadas (Asidi *et al.*, 2010).

## 1.5.12 Matriz extracélular

### 1.5.12.1 Fibronectina

Las fibronectinas son glicoproteínas de alto peso molecular que se encuentran en la matriz extracélular codificadas por el gen *FN1* del cromosoma 2q35. La fibronectina oncofetal está caracterizada por la presencia de un dominio oncofetal, el cual está ausente en la fibronectina normal. La sobreexpresión de esta variante ha sido demostrada en varias neoplasias epiteliales y se ha propuesto como marcador molecular de malignidad (Matsuura *et al.*, 1985).

La expresión de este componente de la matriz extracélular parece ser característico de malignidad en el caso de las lesiones de tiroides (Prasad *et al.*, 2005).

A partir de estudios de RT-PCR se han demostrado niveles elevados para dicha sustancia en el caso del carcinoma papilar y en el anaplásico, si bien en las lesiones foliculares los resultados son menos homogéneos, obteniéndose valores variables sin poder diferenciar con suficiente peso estadístico las lesiones benignas (adenomas foliculares) de las neoplasias foliculares (Takano *et al.*, 1998).

Introducción.



## **Planteamiento y objetivos**

Planteamiento y objetivos.

## 2. Planteamiento y objetivos científicos

Los tumores malignos de la glándula tiroides representan la forma más frecuente de cáncer de los órganos endocrinos. Uno de los principales problemas que plantean estos tumores es que no existe ningún procedimiento diagnóstico capaz de distinguir con total exactitud entre un cáncer de tiroides y un nódulo tiroideo benigno. Teniendo en cuenta que éste último afecta a un porcentaje muy alto de la población general (10% aproximadamente, ascendiendo hasta el 50% en las mujeres mayores de 50 años) (Cortázar *et al.*, 2008), el diagnóstico diferencial entre lesión benigna y maligna del tiroides es un problema sanitario importante que lleva a una cirugía, muchas veces innecesaria, a gran número de enfermos con los riesgos y coste sanitario que ello supone.

La punción-aspiración con aguja fina (PAAF) se considera el método más útil en el diagnóstico del nódulo tiroideo y su uso ha disminuido el número de intervenciones quirúrgicas. A pesar de ser el procedimiento de elección y de que se consigue un diagnóstico correcto en determinadas patologías benignas y en algunas formas de cáncer tiroideo, tiene una serie de limitaciones importantes, particularmente la incapacidad de distinguir con esta técnica entre la variante folicular del carcinoma papilar, los nódulos proliferativos foliculares, el adenoma folicular y el carcinoma folicular. El diagnóstico citológico en estos casos (10-40% aproximadamente de diagnósticos citológicos) (Nikiforov *et al.*, 2009) es el de "lesión proliferativa folicular" lo que lleva automáticamente a una intervención quirúrgica (Griffith *et al.*, 2008), muchas veces innecesaria si se tiene en cuenta que sólo un 15-25% aproximadamente de las lesiones con este diagnóstico van a representar un cáncer en el estudio definitivo de la pieza quirúrgica (Baloch *et al.*, 2002<sup>B</sup>; Castro *et al.*, 2005; Hershman *et al.*, 2011; Jameson *et al.*, 2012; Mazzaferri, 1993; Yassa *et al.*, 2007). Además, el procedimiento quirúrgico es diferente para los procesos benignos que para los malignos y la realización de biopsia peroperatoria presenta prácticamente las mismas limitaciones que la PAAF, por lo que los enfermos que en el estudio definitivo de la pieza demuestran tener un cáncer sufren a menudo una segunda intervención quirúrgica, con morbilidad mucho mayor (Reeves *et al.*, 2010).

Por otra parte, a pesar del avance en el conocimiento de la genética molecular del cáncer de tiroides que se ha experimentado en los últimos años, no existe un perfil genético específico que indique que una determinada neoplasia diferenciada de tiroides es

maligna, con la excepción de la mutación de *BRAF*, que es característica del carcinoma papilar pero que se encuentra sólo en un porcentaje de estos tumores, generalmente en las formas histológicas más agresivas y, por tanto, más fácilmente reconocibles. Por todo lo expuesto anteriormente y a pesar de la enorme cantidad de publicaciones científicas al respecto, persiste la necesidad de buscar marcadores biológicos capaces de distinguir entre benignidad y malignidad y que, idealmente, puedan utilizarse en el diagnóstico preoperatorio para, de esta forma, evitar tiroidectomías innecesarias.

En este trabajo de tesis doctoral se pretende hacer un estudio retrospectivo de los tumores epiteliales malignos diagnosticados en el departamento de Anatomía Patológica, con el objeto de analizar, usando matrices de tejido, distintos marcadores biológicos que permitan distinguir los tumores malignos de los procesos benignos. Se ha utilizado como grupo control tumores benignos epiteliales de tiroides (adenomas), así como muestras de otras patologías no tumorales (hiperplasia nodular, tiroiditis autoinmune, enfermedad de Graves-Basedow) y tejido tiroideo normal.

## OBJETIVOS CIENTIFICOS

1- Analizar con matrices de tejido una serie de marcadores biológicos, que se saben implicados en el cáncer, en una serie amplia de tumores malignos y lesiones benignas de la glándula tiroides.

2- Mediante estudio estadístico pertinente, establecer un perfil molecular característico de las lesiones malignas y de cada tipo histológico de tumor tiroideo, que pueda ser utilizado en el futuro en el diagnóstico preoperatorio (punción aspiración con aguja fina) de los nódulos tiroideos; de esta forma se pretende reducir las tiroidectomías innecesarias que, por las limitaciones del diagnóstico citológico, se practican habitualmente.

3- Investigar de igual forma si existe un patrón molecular que se relacione con el pronóstico.

## **Material y métodos**

Material y métodos.

### 3. ENFERMOS, MATERIAL Y MÉTODOS

#### 3.1 Enfermos y Material

Se realizó una búsqueda, a través de la base de datos del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario San Cecilio de Granada (Novopath Vitro<sup>®</sup>), de todas las biopsias tiroideas registradas durante el periodo comprendido entre el año 1996 y el 2002, ambos inclusive.

Esta serie inicial constaba de un total de 1042 casos cuyos números de referencia fueron introducidos en una base de datos externa (Excel 2007, Microsoft<sup>®</sup>) (Esquema 9). Las preparaciones histológicas, teñidas con hematoxilina-eosina, de cada uno de los casos fueron revisadas por dos patólogos de forma simultánea en un microscopio de observación múltiple (Leica DM 2500) siendo catalogadas según los criterios actuales de la OMS, excluyéndose en un primer momento las recidivas de casos primarios ya incluidos en la serie, tumores metastáticos o aquellos que mostraban cualidades técnicas inadecuadas (mala fijación, material insuficiente, abundante presencia de calcificaciones o extensas áreas de degeneración hemorrágica). En el caso de los microcarcinomas papilares se seleccionaron sólo los de tamaño superior a 5mm. De esta forma la serie quedó constituida por 552 casos para su inclusión en las micromatrices de tejido (Anexo 3).

De cada uno de los casos se obtuvieron a partir de sus correspondientes informes anatomopatológicos los siguientes datos que se reflejan en la figura 3.1, ajustándose para ello a la Ley Orgánica de Protección de Datos (RD 1720/2007 de 21 de diciembre):

- Número interno del estudio biopsico
- Fecha de la intervención
- Edad en el momento de la intervención
- Sexo
- Tamaño
- Extensión extratiroidea
- Metástasis ganglionares
- Diagnóstico

P	AD	BF	BG	BH	BI	BJ	BK	BL	BM	BN	BO	BP	
Nº Estudio	Texto Diagnóstico	Bocio	Adenoma	Carcinoma	ca. Microp.	hashimoto	graves-bas	Tiroiditis linfocitaria	TIROIDES NORMAL	Metástasis	caso solicitado	caso revisado	descripción c
1													
216	B01-01198 DIAGNOSTICO: TIROIDES: CARCINOMA PAPILAR VARIANTE FOLICULAR QUE INFILTRA CAPSULA TIROIDEA. INVASION VASCULAR LINFATICA. GANGLIOS LINFATICOS. METASTASIS DE CARCINOMA PAPILAR.					Papilar					3		
217	B01-01312 DIAGNOSTICO: GANGLIOS LINFATICOS. METASTASIS DE CARCINOMA PAPILAR DE TIROIDES EN LOS 7 GANGLIOS AISLADOS.									Papilar	2		
218	B01-01390 DIAGNOSTICO: TIROIDES: HIPERPLASIA NODULAR (BOCIO ADNEOMATOSO NODULAR).	SI									4		
219	B01-01413 DIAGNOSTICO: TIROIDES: HIPERPLASIA NODULAR (BOCIO COLOIDE NODULAR).	SI									1		
220	B01-01436 DIAGNOSTICO: A) TIROIDES: CARCINOMA PAPILAR ENCAPSULADO. B) PIEL: NEVUS NEVOITICO INTRADERMICO DE TIPO PAPILOMATOSO CON AFECTACION DE LA BASE DE RESECCION.					Papilar					A1 Y A2		A1: TUMOR / A2: C
221	B01-01525 DIAGNOSTICO ANATOMOPATOLOGICO: TIROIDES: HIPERPLASIA NODULAR (BOCIO COLOIDE NODULAR).	SI									3		
222	B01-01671 DIAGNOSTICO: A) TIROIDES: DENTRO DE LOS LIMITES DE LA NORMALIDAD. B) PARATIROIDES: SIN ALTERACIONES MORFOLOGICAS SIGNIFICATIVAS.								SI		1		
223	B01-01764 DIAGNOSTICO: TIROIDES: CARCINOMA FOLICULAR MINIMAMENTE INVASIVO.					Folicular					1		
224	B01-01766 DIAGNOSTICO: TIROIDES (LOBULO IZQUIERDO): FOCOS MICROSCOPICOS DE CARCINOMA PAPILAR. TIROIDITIS LINFOCITARIA CRONICA (TIROIDITIS DE HASHIMOTO).					Papilar		SI			4 Y 6		CA. PAPILAR(6)
225	B01-02017 DIAGNOSTICO ANATOMOPATOLOGICO: TIROIDES: HIPERPLASIA NODULAR (BOCIO COLOIDE NODULAR). GLANDULA PARATIROIDES: SIN ALTERACIONES MORFOLOGICAS SIGNIFICATIVAS.	SI									1		
226	B01-02262 DIAGNOSTICO ANATOMOPATOLOGICO: TIROIDES: HIPERPLASIA NODULAR (BOCIO COLOIDE MULTINODULAR).	SI									1		

Esquema 9 Base de datos Excel creada para recoger los casos seleccionados.

En la tabla 4 se resumen los casos que componen la serie de acuerdo a las siguientes categorías diagnósticas: Hiperplasia coloide nodular (bocio coloide) (HCN) (n=263), adenoma folicular (AF) (n=54), enfermedad de Graves-Basedow (G-B) (n=52); tiroiditis de Hashimoto (Ts) (n=33), tiroides normal (TN) (n= 18), microcarcinoma papilar de tiroides (miCPT) (n=30); carcinoma papilar de tiroides (CPT) (n=46), metástasis ganglionar de carcinoma papilar (MCPT) (n=11); carcinoma folicular de tiroides (CFT) (n=31), carcinoma medular de tiroides (CMT) (n=5), carcinoma anaplásico de tiroides (CAT) (n=3) y carcinoma pobremente diferenciado (patrón insular) (CI) (n=2).

Las muestras de tejido tiroideo normal (TN) se obtuvieron a partir de tiroidectomías en segundo tiempo por lesiones neoplásicas en el lóbulo contralateral (5 casos por CPT y 3 por CFT), sin evidencia de afectación neoplásica en ninguno de estos casos en todo el material muestreado. En los casos restantes (n=10), la tiroidectomía se llevó a cabo por diferentes motivos: hiperparatiroidismo primario (n=4), asociado a laringectomía por carcinoma escamoso sin afectación tiroidea (n=1), hemitiroidectomía en segundo tiempo por adenoma folicular en el lóbulo contralateral (n=1), tiroidectomía por



despistaje de CMT familiar (n=1). Los tres casos restantes están integrados por una miscelánea de casos no asociados con procesos oncológicos.

AÑO	HCN	AF	G-B	Ts	TN	miCPT	CPT	MCPT	CFT	CMT	CAT	CPD
1996	3	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0
1997	9	18	13	4	4	4	4	0	6	0	1	0
1998	43	6	11	3	1	4	4	4	8	2	0	0
1999	44	10	8	6	3	5	7	2	2	0	0	0
2000	65	7	5	3	1	5	11	4	5	0	2	0
2001	52	5	6	8	5	7	13	0	4	3	0	1
2002	47	8	5	8	5	4	7	1	5	0	0	1
<b>Total</b>	<b>263</b>	<b>54</b>	<b>52</b>	<b>33</b>	<b>18</b>	<b>30</b>	<b>46</b>	<b>11</b>	<b>31</b>	<b>5</b>	<b>3</b>	<b>2</b>

Tabla 4. Casuística por años

### 3.2 Métodos

#### 3.2.1 Selección del tejido para la realización de las micromatrices

Una vez terminada la revisión y posterior clasificación de todos los casos incluidos en el estudio, se seleccionó de cada caso una zona representativa, sobre la preparación histológica, alrededor de la cual se trazó un círculo, con rotulador indeleble. Esta zona se hizo coincidir sobre el bloque de parafina correspondiente, marcando con el rotulador indeleble el área que debía ser obtenida en el proceso de creación de las micromatrices. En este paso se excluyeron 4 casos por mostrar los bloques de parafina una mala conservación, quedando la serie así reducida a 548 casos.

#### 3.2.2 Elaboración de las micromatrices de tejido

Los casos seleccionados fueron incluidos de forma correlativa en las matrices de tejido (TMA); para su construcción se siguió el procedimiento estándar aplicado en el nodo del Banco de Tumores de Andalucía (RBTA) a partir de la selección previa del área a estudiar en la lámina de hematoxilina-eosina (H-E) y posteriormente localizada en el bloque en parafina.

Material y métodos.

	AO	BF	BG	BH	EI	EJ	BK	BL	EM	EN	BO	BP
	Bocio	Adenoma	Carcinoma	ca. Microp.	hashimoto	graves-bas	Tiroiditis linfocitaria	TIROIDES NORMAL	Metástasis	caso solicitado	caso revisado	descripción c
1												
1			Papilar							3		
216												
217									Papilar	2		
218	SI										4	
219	SI										1	
219			Papilar							A1 Y A2		A1: TUMOR / A2: C
220												
220	SI										3	
221								SI			1	
222			Folicular								1	
223			Papilar		SI					4 Y 6		CA: PAPILAR (6)
224	SI										1	
225	SI										1	

1

	Nº DE BLOQUE	1	2	3	4	5	FECHA
A	1	01/208	01/208	01/218	01/221	01/224	5
B	1	01/150	01/149	01/149	01/147	01/148	3
C	1	01/179	01/172	01/172	01/172	01/180	5
D	1	01/173	01/174	01/180	01/180	01/182	1
E	1	01/172	01/180	01/172	01/172	01/172	3
F	1	01/174	01/173	01/178	01/180	01/180	1
G	1	01/182	01/172	01/180	01/180	01/172	3
H	1	01/182	01/180	01/180	01/180	01/180	3

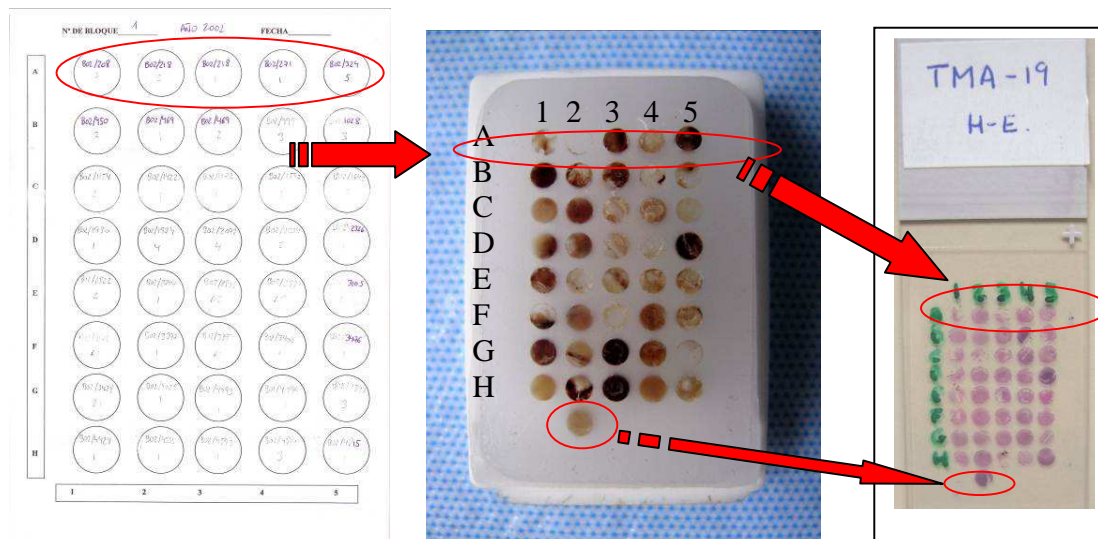
2

Esquema 10 Representación del proceso de selección y creación de las micromatrices de tejido

Como se ha comentado en el punto anterior 3.2.1, los casos seleccionados quedaron recogidos en una tabla excel dispuestos de forma correlativa (Esquema 10). Como guía para la ubicación de cada muestra en las micromatrices se realizó una plantilla

con una sucesión de discos, en la que cada disco representaba un caso; se conservó el mismo orden cronológico que en la tabla excel, con la finalidad de trasladar fácilmente los resultados obtenidos a esta tabla, una vez valorado cada marcador (Esquema 10). Estas plantillas poseen dos ejes, uno vertical (eje Y) marcado con letras (de la A a la H) y otro eje horizontal (eje X) marcado con números (del 1 al 5) de tal forma que cada disco incluido en la plantilla respondía a unas coordenadas alfanuméricas que permitían su identificación.

Asimismo con la finalidad de facilitar la orientación espacial de las secciones, en cada uno de los bloques se introdujo un control (tejido linfoepitelial procedente de amígdala) el cual se situó en una posición fija en el extremo inferior del bloque (Esquema 11).



Esquema 11 Correlación entre la plantilla y la ubicación de los casos en el bloque de parafina y en la lámina de H-E.

A continuación se detalla el procedimiento de construcción de las micromatrices utilizando el microarrayer Tissue Arrayer 2 (Beecher Instruments<sup>®</sup>, Silver Spring, MD, USA) (Fig. 3.4).

- A partir de la plantilla de coordenadas antes mencionada (Esquema 11) se estableció el orden de las muestras a importar por un proceso manual, al bloque receptor (bloque de parafina en blanco), Histosec pastillas<sup>®</sup>, MERCK, el cual fue previamente devastado para obtener una superficie lo más lisa posible.

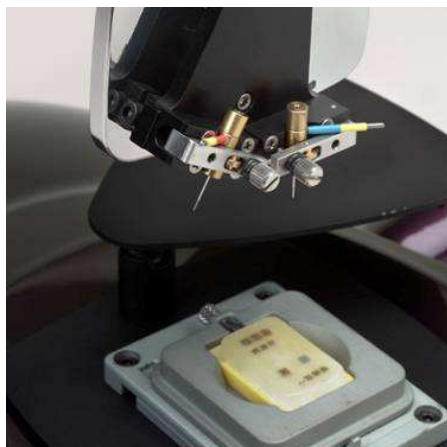


Figura 1 Tissue Arrayer 2

- Se seleccionó el grosor de la agujas (2mm), tanto para el bloque donante como para el bloque receptor. Este es el grosor máximo posible en el microarrayer y se eligió con la finalidad de disponer de la mayor cantidad de tejido representativo.

-El microarrayer empleado consta de dos agujas, cada una de ellas está identificada por un color para su ubicación y empleo correcto, siendo la aguja roja la utilizada para hacer el agujero receptor, situándose en el lado izquierdo, y la

aguja azul, situada en el lado derecho, la empleada para obtener e introducir el cilindro de tejido (Figura 1).

-Se inicia el proceso ajustando los micrometros del microarrayer a cero, con la finalidad de alinear las columnas y filas de la matriz.

-Se selecciona la profundidad máxima del cilindro receptor (lo más profundo posible sin llegar a contactar con el material plástico del casete, a fin de evitar la rotura de la aguja al realizar la perforación).

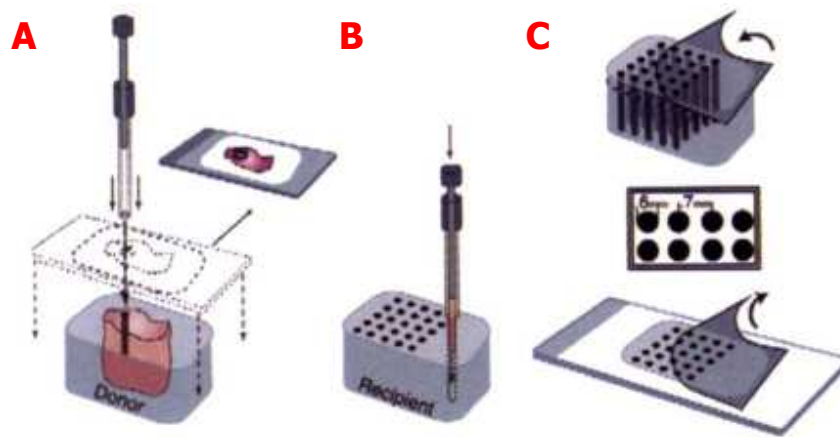
-Con la aguja roja se realiza la perforación en el bloque receptor extrayendo el cilindro en blanco (se empuja el cilindro con el embolo de la aguja y se señala sobre la aguja azul la longitud de éste para evitar que el cilindro de tejido a incluir, cogido con la aguja azul, sobrepase la longitud del hueco del cilindro receptor).

-Posteriormente se coloca la plataforma debajo de las agujas y se retira del bloque donador el cilindro a incluir, con la aguja azul (Figura 1)

-Seguidamente se quita la plataforma y se introduce, el cilindro de tejido tomado, en el hueco realizado en el bloque receptor "en blanco" (Esquema 12-B), sin introducir el cilindro totalmente, enrasándose posteriormente con un porta todos los cilindros en el bloque receptor

-Con la ayuda de los ejes se realizan los desplazamientos para continuar con los siguientes implantes.

-Estos pasos representados en el Esquema 12 se repitieron tantas veces como discos existentes hay en la plantilla, hasta su finalización.



Esquema 12. Patrón de creación de una micromatriz de tejido. Tomado de Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A, Bärilund M, Schraml P, Leighton S, et al. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. Nat Med. 1998 Jul;4(7):844-7.

-Una vez desarrollado el bloque se introdujo 30 minutos en una estufa a 37°C para conseguir una correcta homogeneización.

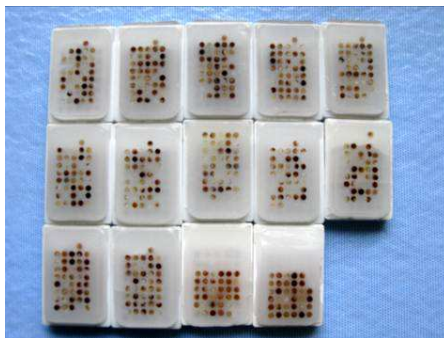


Figura 2 Bloques TMA contruidos para la elaboración de este trabajo

Se crearon un total de 14 bloques, de los que 12 de ellos portaban 40 casos cada uno y los 2 bloques restantes incluían 34 casos (Figura 4). Posteriormente se realizaron cortes a 3 micras para la tinción con H-E, así como para el estudio inmunohistoquímico.

### 3.2.3 Inmunohistoquímica

a) Se realizaron cortes histológicos de los 14 bloques de parafina, de 3 micras de espesor que se montaron sobre portaobjetos tratados, especiales para inmunohistoquímica (Dako, Barcelona, España).

b) Las secciones histológicas se secaron en estufa a 37° C durante 24 horas y al menos 1 hora a 60°C, para facilitar su adhesión.

c) Se desparafinaron e hidrataron según procedimiento estándar.

d) Desenmascaramiento antigénico: fue realizado en un solo paso y de manera automática en un módulo PT (Thermo Fisher, California, USA) a 95°C durante 20 minutos con 1.5L del tampón de desenmascaramiento adecuado para cada anticuerpo (ver Tabla 5).

e) Procedimiento inmunoenzimático con polímero universal conjugado con peroxidasa en inmunoteñidor.

Los anticuerpos utilizados, el patrón predominante de tinción, la clona de procedencia, la dilución y tipo de desenmascaramiento empleados para cada anticuerpo así como la casa comercial de donde se obtuvieron se especifican en la tabla 5.

Las inmunotinciones fueron realizadas en un inmunoteñidor modelo Autostainer480 (LabVision, California, USA) con capacidad para teñir 48 portaobjetos de forma simultánea y que sigue el proceso que se especifica a continuación:

- Una vez colocados los portaobjetos en horizontal en las gradillas del inmunoteñidor y cubiertas las muestras completamente con tampón TBS 1x (Master Diagnóstica), se procede al diseño de la plantilla de reactivos con el software del inmunoteñidor. A continuación se purgan las bombas de las soluciones de lavado (tampón TBS 1x+Tween20 al 0.05% y agua destilada+Tween20 al 0.05%) y se comprueba la adecuada colocación de los diferentes reactivos, para que el brazo mecánico del inmunoteñidor proceda a:

- Dispensar sobre la sección tisular 300 microlitros de la solución de bloqueo de la peroxidasa endógena (Master Diagnóstica), durante 10 minutos a T.A.

- Lavar durante 3 minutos con tampón TBS 1x+Tween20 al 0.05% y drenar por inyección de aire el tampón de lavado.

- Incubar con 300 microlitros del anticuerpo primario prediluido ("listo para usar") durante 30 minutos a TA.

- Lavar durante 3 minutos con tampón TBS 1x+Tween20 al 0.05% y drenar por inyección de aire el tampón de lavado.

- Incubar con 300 microlitros del polímero universal conjugado con peroxidasa "listo para uso" que reconoce anticuerpos monoclonales y policlonales obtenidos en ratón y conejo (Master Diagnóstica), durante 30 minutos a TA.

- Lavar durante 3 minutos con tampón TBS 1x+Tween20 al 0.05% y drenar por inyección de aire el tampón de lavado.

- Incubar con 300 microlitros del Diaminobenzidina (DAB) (Master Diagnóstica) durante 10 minutos a TA (preparar de los viales concentrados el reactivo "listo para uso" en el momento de su utilización).

- Lavar durante 3 minutos con la solución agua destilada+Tween20 al 0.05%.

f) Los portaobjetos con las secciones tisulares inmunoteñidas, que deben permanecer húmedas, se colocan en una gradilla que se deposita en un cristizador de Schefferdecker con agua corriente.

g) Se realiza la contratinción con hematoxilina (Master Diagnóstica) por inmersión durante 1 minutos a TA. Se sacan las preparaciones y se llevan a un cristizador de Schefferdecker con agua que se deja bajo el grifo (sin que caiga directamente el agua sobre las preparaciones) para eliminar el exceso del colorante y azulear la hematoxilina.

h) Se deshidratan y aclaran, a temperatura ambiente, en el interior de una cámara de extracción de gases, mediante inmersión en baños de etanol de gradación creciente y baños de xileno según el esquema siguiente:

1 baño de agua destilada, 1 baño de etanol al 30%, 1 baño de etanol al 70%, 1 baño de etanol al 80%, 2 baños de etanol absoluto, durante 1 minuto cada uno y 3 baños de xileno durante 5 minutos cada uno.

i) Se coloca el cubreobjetos con dos gotas de medio de montaje (EUKITT), se drena el exceso de medio de montaje sobre papel de filtro y se seca el porta con un trapo.

j) Etiquetado definitivo de los portaobjetos.

k) Visualización al microscopio de las secciones inmunoteñidas.

Marcador	Patrón de tinción	Clona	Dilución	Recuperación antigénica	Laboratorio comercial
<b>IMP-3</b>	Citoplasmático	69-1	1/50	Tris high pH9	DAKO
<b>CITED-1</b>	Cito/ Nuclear	Ab87978	1/50	EDTA pH8	Master Diagnostica
<b>Ciclina D1</b>	Nuclear	SP-4	Prediluido	Tris high pH9	DAKO
<b>Ciclina E</b>	Nuclear	13A3	Prediluido	Tris high pH9	Master Diagnostica
<b>P27</b>	Nuclear	DCS-72F6	Prediluido	Tris high pH9	Master Diagnostica
<b>P53</b>	Nuclear	DO-7	Prediluido	Tris high pH9	DAKO
<b>P63</b>	Nuclear	4A4	Prediluido	Tris high pH9	Master Diagnostica
<b>PARP-1</b>	Nuclear/Cito.	Policlonal	Prediluido	Tris low pH6	Master Diagnostica
<b>Tiroperoxidasa</b>	Citoplasmático	MOab47	1/50	Tris high pH9	DAKO
<b>COX2</b>	Citoplasmático	SP21	Prediluido	Tris high pH9	Master Diagnostica
<b>Galectina-3</b>	Citoplasmático	9C4	1/100	Tris high pH9	Master Diagnostica
<b>CD44s</b>	Cito/ Membr.	156-3CH	Prediluido	Tris Low pH6	Master Diagnostica
<b>CD44v6</b>	Cito/ Membr.	VFF-18	Prediluido	EDTA pH8	Master Diagnostica
<b>CD57</b>	Cito/ Membr.	NK-1	Prediluido	Tris high pH9	Master Diagnostica
<b>E-cadherina</b>	Membrana	NCH-38	Prediluido	Tris high pH9	DAKO
<b>β-Catenina</b>	Membrana	Bcatenin1	Prediluido	Tris high pH9	DAKO
<b>HBME-1</b>	Membr/Cito.	HBME-1	Prediluido	Tris high pH9	DAKO
<b>KS</b>	Membr/Cito.	373E1	Prediluido	Tris low pH6	Master Diagnostica
<b>CK19</b>	Citoplasmático	RCK-108	Prediluido	Tris high pH9	DAKO
<b>Ki67</b>	Nuclear	MIB-1	Prediluido	Tris low pH6	DAKO

Tabla 5. Características técnicas de los marcadores inmunohistoquímicos utilizados en el estudio

### 3.2.4 Valoración del patrón de tinción

Se realizó el estudio de todos los casos mediante el examen microscópico (Leica DM 2500) por dos patólogos de forma no simultánea e independiente, contrastándose los



resultados y reevaluándose para aquellos con un discrepancia en la puntuación superior a 2.

En la valoración de la expresión inmunohistoquímica se consideró necesario la presencia mínima de 100 células para ser incluida dentro del estudio, realizándose la valoración íntegra de cada "disco" o cilindro. En caso de un número inferior se codificó como "no valorable", considerándose como caso perdido estadísticamente. Tanto la intensidad como la extensión de la tinción fueron valoradas usando un sistema de puntuación semicuantitativo, teniendo en cuenta el patrón de tinción característico para cada anticuerpo (según el prospecto de la casa comercial y la descripción del mismo en la literatura).



Figura 3 Láminas procedentes de los TMA constringidos en este trabajo

El criterio para la valoración de la intensidad fue: 0 para ausencia de tinción; 1+: tinción débil; 2+: tinción moderada y 3+: tinción fuerte. El criterio para la valoración de la extensión fue: 0: tinción inferior al 10% de las células; 1+: tinción en menos del 25% de las células; 2+: tinción entre el 25-50% de las células; 3+: tinción en más del 50% de las células. Ambas puntuaciones fueron sumadas, considerándose positivo una puntuación igual o superior a 3.

El patrón de tinción habitual de los anticuerpos utilizados es el siguiente (Tabla 6): tinción de membrana para  $\beta$ -catenina, E-cadherina, queratán sulfato y HBME-1; de citoplasma para tiroperoxidasa, COX-2, citoqueratina 19, CD44v6, CD44s, CITED1, GAL3 y CD57 y patrón nuclear para CITED1, P63, P53, PARP-1, Ciclina D1, Ciclina E, Ki67, y P27 (ver en el apartado 4.3 de Resultados la valoración exacta de cada anticuerpo).

Marcadores	Puntuación cuantitativa				Puntuación cualitativa			
	0	1	2	3	0	1	2	3
<b>IMP 3</b>	<10%	10-25%	25-50%	>50%	Neg.	Débil	Moderada	Fuerte
<b>CITED1</b>	<10%	10-25%	25-50%	>50%	Neg.	Débil	Moderada	Fuerte
<b>Ciclina D1</b>	<10%	10-25%	25-50%	>50%	Neg.	Débil	Moderada	Fuerte
<b>Ciclina E</b>	<1%	1-3%	3-5%	>5%	Neg.	Débil	Moderada	Fuerte
<b>P27</b>	<10%	10-25%	25-50%	>50%	Neg.	Débil	Moderada	Fuerte
<b>P53</b>	<10%	10-25%	25-50%	>50%	Neg.	Débil	Moderada	Fuerte
<b>p63</b>	<1%	1-3%	3-5%	>5%	Neg.	Débil	Moderada	Fuerte
<b>PARP-1 (§)</b>	<10%	10-25%	25-50%	>50%	Neg.	Débil	Moderada	Fuerte
<b>TPO</b>	<10%	10-25%	25-50%	>50%	Neg.	Débil	Moderada	Fuerte
<b>COX-2</b>	<10%	10-25%	25-50%	>50%	Neg.	Débil	Moderada	Fuerte
<b>Gal-3</b>	<10%	10-25%	25-50%	>50%	Neg.	Débil	Moderada	Fuerte
<b>CD44s</b>	<10%	(*)	(**)	(***)	Neg.	Débil	Moderada	Fuerte
<b>CD44v6</b>	<10%	(*)	(**)	(***)	Neg.	Débil	Moderada	Fuerte
<b>CD57</b>	<10%	10-25%	25-50%	>50%	Neg.	Débil	Moderada	Fuerte
<b>E-cad</b>	<10%	10-25%	25-50%	>50%	Neg.	Débil	Moderada	Fuerte
<b>B-catenina (#)</b>	<10%	10-25%	25-50%	>50%	Neg.	Débil	Moderada	Fuerte
<b>HMBE-1</b>	<10%	10-25%	25-50%	>50%	Neg.	Débil	Moderada	Fuerte
<b>KS</b>	<10%	10-25%	25-50%	>50%	Neg.	Débil	Moderada	Fuerte
<b>CK19</b>	<10%	10-25%	25-50%	>50%	Neg.	Débil	Moderada	Fuerte
<b>Ki67</b>	<1%	1-3%	3-5%	>5%	Neg.	Débil	Moderada	Fuerte

(\*) Tinción de membrana con patrón irregular.

(\*\*) Tinción de membrana con tinción casi completa (apical y lateral/basal y lateral).

(\*\*\*) Tinción completa de membrana.

(§) Valoración de la expresión nuclear, la valoración citoplasmática atendió a la presencia/ausencia de la tinción.

(#) Valoración compartida tanto para la expresión nuclear como para la citoplasmática.

Tabla 6 Baremo de puntuación semicuantitativa en los diferentes marcadores inmunohistoquímicos empleados

### 3.2.5 Análisis estadístico

Con el objetivo de describir las variables de manera uni o bivalente se utilizaron distribuciones de frecuencias, resúmenes numéricos y tablas de contingencia. Para la comparación de grupos se utilizaron el análisis de la varianza (ANOVA), test de U Mann Whitney, test de Kruskal-Wallis, Chi-cuadrado y test de Fischer, así como la correlación de Spearman dependiendo de la naturaleza de las variables estudiadas. El valor 0.05 fue considerado el límite para la significación estadística.

Para construir un modelo predictivo con la finalidad de distinguir entre tumor maligno y lesión benigna se utilizó el modelo de regresión logística binaria que establece que:

$$\text{logit}(p) = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \dots + \beta_m X_m$$

donde  $p$  representa la probabilidad de que el tumor sea maligno,  $X$  representa a las distintas predictoras, los marcadores inmunohistoquímicos, y los  $\beta$  son los parámetros a estimar a partir de los datos. La elección de este modelo viene condicionada por el hecho de que las exponenciales de los parámetros se pueden interpretar en términos de riesgo.

Tales parámetros se estiman mediante el método de la máxima verosimilitud dando lugar tanto a sus estimaciones como a los respectivos errores estándar, lo que permite evaluar la significación estadística mediante el test de Wald.

El criterio para la selección del modelo fue el denominada *backward* hasta llegar a un modelo en que todas las variables son significativas que serán los marcadores inmunohistoquímicos que discriminan entre las lesiones benignas y los tumores malignos.

A partir de este modelo se pueden estimar las probabilidades de que cada sujeto de estudio tenga un tumor maligno.

Para cuantificar la capacidad discriminativa de tal modelo se utiliza el área bajo su curva ROC; ésta es una curva construida en base a la elección de distintos puntos de corte para distinguir los tumores malignos de las lesiones benignas. Para cada punto de corte se pueden calcular una pareja de sensibilidad y especificidad. La curva ROC no es más que la representación gráfica de las parejas de sensibilidad y 1-especificidad para cada punto de corte; el área bajo la curva ROC mide la capacidad discriminativa del modelo y es un valor que es tanto mejor cuanto más se aproxime a la unidad.

Los resultados inferiores a 0,5 se consideran insuficientes para hallar diferencias entre los grupos valorados; los resultados iguales a 1 representan una curva perfecta con una separación entre los grupos óptima (Burgeño *et al.*, 1995).

Dos modelos predictivos se pueden comparar, en cuanto a su capacidad discriminativa, sin más que comparar las áreas bajo sus correspondientes curvas ROC.

Para evaluar la capacidad discriminativa entre el adenoma folicular y los carcinomas papilar y folicular se utilizó el modelo de regresión logística multinomial en el que se tomó como categoría de referencia el adenoma folicular. El modelo multinomial es

una generalización del modelo logístico binario y permitirá comparar cada uno de los carcinomas con el adenoma folicular.

El software utilizado para el análisis de los datos fue el R 2.15.0 (R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. V. 2.15.0, 2012) (Robin *et al.*, 2011).

A fin de valorar la eficacia de cada anticuerpo de forma independiente se realizó la valoración matemática de los siguientes índices:

#### Sensibilidad

La sensibilidad (S) de un test está definida por la proporción de personas con enfermedad entre quienes el resultado de la prueba será positivo, es decir, la proporción del total de enfermos que el test es capaz de detectarla  $S=a/(a+c)$ .

#### Especificidad

La especificidad (E) de una prueba es la proporción de individuos en que los que el test es negativo de entre las personas sin enfermedad  $E=d/(b+d)$ .

#### Valor predictivo positivo (VPP)

El VPP es la proporción de sujetos enfermos entre los que el test dio positivo  $VPP=a/(a+b)$

	<b>Enfermos</b>	<b>No enfermos</b>	
<b>Test +</b>	a (VP)	b (FP)	<b>Total test +</b>
<b>Test -</b>	c (FN)	d (VN)	<b>Total test -</b>
	<b>Total de enfermos</b>	<b>Total de no enfermos</b>	<b>TOTAL</b>

Tabla 7 Distribución de casos en una tabla 2x2. VP: verdadero positivo; FP: Falso positivo; FN: Falso negativo; VN: Verdadero negativo

#### Valor predictivo negativo (VPN)

El VPN es el porcentaje de sujetos libres de enfermedad y con un resultado negativo del test, entre el total de sujetos con un resultado negativo  $VPN=d/(c+d)$ .

Valor global (eficiencia) del test:

Se refiere a la proporción de resultados válidos (verdaderos positivos junto a los verdaderos negativos) entre el total de casos valorados por el test  $a+d/(a+b+c+d)$  (Akobeng *et al.*, 2007).

Material y métodos.

## **Resultados**

Resultados.



## 4. RESULTADOS

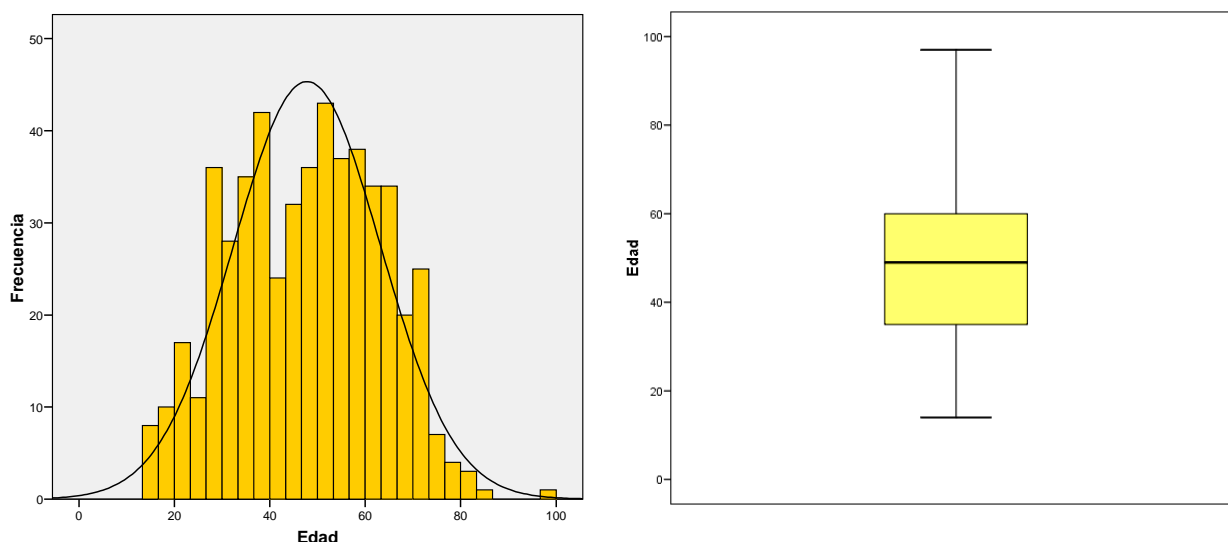
### 4.1 Generalidades

El presente estudio incluyó un total de 548 muestras procedentes de casos archivados en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario "San Cecilio" de Granada desde el año 1996 al 2002, ambos inclusive, las cuales estuvieron representadas por 342 casos de patología no tumoral (62,4%); 56 casos de adenomas foliculares (10,2%); 132 casos de neoplasias tiroideas malignas (24,1%), así como 18 muestras de tejido tiroideo normal (3,3%).

### 4.2 Hallazgos clinicopatológicos. Frecuencias.

#### 4.2.1 Edad

La edad media y desviación típica fue obtenida a partir de los informes de Anatomía Patológica en el momento del diagnóstico o en la historia clínica, a pesar de lo cual no se pudo conseguir en 12 pacientes por carecer de tal información en los documentos analizados, o bien por ser ésta contradictoria. Todos estos casos estuvieron agrupados entre los años 1997 a 1998.



Gráfica 1. Distribución de edad en la muestra estudiada

## Resultados.

Finalmente, la edad media y la desviación típica fue de  $47,79 \pm 15,42$  años, con un rango de edad entre los 14 a los 97 años, y una mediana de 49 años (Gráfica 1). Teniendo en cuenta la edad media de la población de origen, 41,60 años (Fuente: Instituto de Estadística de Andalucía, 2009), la comparación de las medias mostró una diferencia estadística significativa entre la población y la muestra ( $p < 0,001$ ).

Marcadores	<45 años		≥45 años		p	$\chi^2$
	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo		
<b>IMP3</b>	182 (81,3%)	42 (18,7%)	242 (86,7%)	37 (13,3%)	0,093	2,830
<b>CITED1</b>	200 (87,7%)	28 (12,3%)	268 (92,4%)	22 (7,6%)	0,072	3,230
<b>Ciclina D1</b>	147 (64,2%)	82 (35,8%)	196 (68,3%)	91 (31,7%)	0,326	0,961
<b>Ciclina E</b>	217 (97,7%)	5 (2,3%)	278 (97,5%)	7 (2,5%)	0,880	0,224e-01
<b>P27</b>	140 (61,7%)	87 (38,3%)	192 (67,4%)	93 (32,6%)	0,180	1,801
<b>P53</b>	193 (87,3%)	28 (12,7%)	234 (83,6%)	46 (16,4%)	0,239	1,390
<b>p63</b>	215 (96,8%)	7 (3,2%)	277 (97,9%)	6 (2,1%)	0,467	0,529
<b>PARP-1</b>	188 (85,8%)	31 (14,2%)	242 (85,8%)	41 (14,2%)	0,916	0,111e-01
<b>PARP-1c</b>	205 (93,6%)	14 (6,4%)	266 (94,3%)	16 (5,7%)	0,737	0,113
<b>TPO</b>	59 (26%)	168 (74%)	95 (33,8%)	186 (62,2%)	0,057	3,630
<b>COX-2</b>	44 (19,4%)	183 (80,6%)	66 (22,9%)	222 (77,1%)	0,331	0,944
<b>Gal-3</b>	190 (85,2%)	33 (14,8%)	259(90,2 %)	28 (9,8%)	0,082	3,030
<b>CD44s</b>	100 (45%)	122 (55%)	161(57,3%)	120 (42,7%)	<b>0,006</b>	<b>7,460</b>
<b>CD44v6</b>	137 (61,2%)	87 (38,8%)	227 (79,6%)	58 (20,4%)	<b>4,487e-06</b>	<b>21,0</b>
<b>CD57</b>	197 (86,8%)	30 (13,2%)	257 (88,9%)	32 (11,1%)	0,457	0,552
<b>E-cad</b>	8 (3,6%)	216 (96,4%)	16 (5,8%)	260(94,2%)	0,247	1,340
<b>B-catenina</b>	162 (81,2%)	53 (18,8%)	229 (81,2%)	53 (18,8%)	0,114	2,490
<b>HBME-1</b>	182 (80,5%)	44 (19,5%)	250 (88,7%)	32 (11,3%)	<b>0,011</b>	<b>6,500</b>
<b>KS</b>	187 (84,6%)	34 (15,3%)	251 (89,6%)	29 (10,4%)	0,092	2,841
<b>CK19</b>	173 (75,9%)	55 (24,1%)	235 (83,3%)	47 (16,7%)	<b>0,036</b>	<b>4,380</b>
<b>Ki67</b>	179 (80,3%)	44 (19,7%)	238 (83,8%)	46 (16,2%)	0,301	1,070

Tabla 8. Resultados de los marcadores estudiados en el conjunto total de casos y segmentados por la edad de los pacientes en el momento del diagnóstico.

Para valorar el comportamiento de los marcadores inmunohistoquímicos en función de la edad se realizó una separación entre los pacientes menores a 45 años y los pacientes con 45 o más años, obteniéndose dos grupos de 228 y 291 individuos respectivamente. En cada uno de estos subgrupos se analizó la expresión inmunohistoquímica, constatándose la

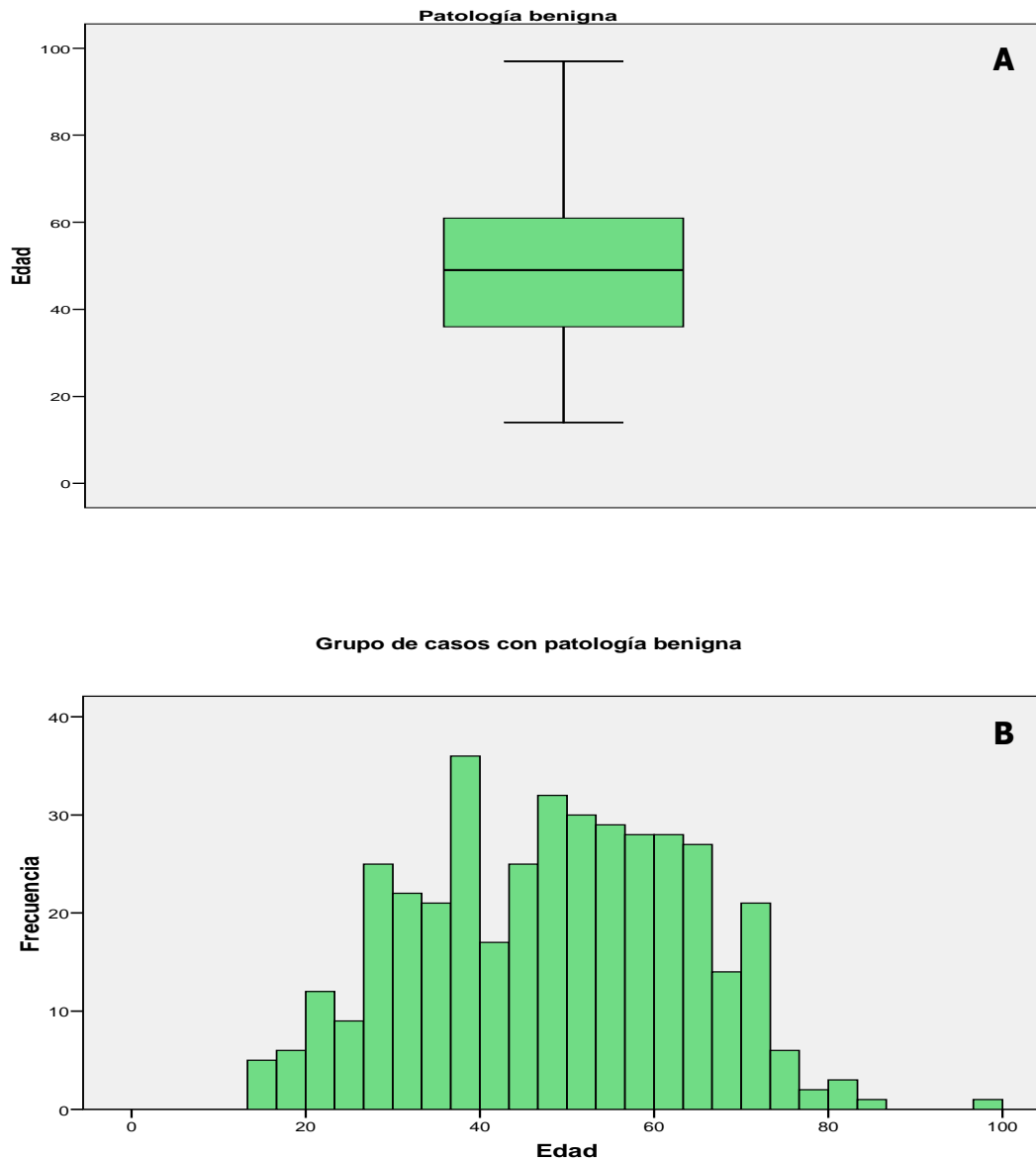
ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, a excepción de cuatro marcadores (CD44s, CD44v6, CK19 y HBME-1), donde se objetivó una pérdida de expresión de dichos marcadores en el grupo de pacientes con edades superiores a 45 respecto a aquellos con edades inferiores a ésta (Tabla 8).

Particularmente, tanto en el caso de la COX-2 como del Ki67 se obtuvo un valor de chi cuadrado de Pearson de 0,94 con una  $p=0,331$  y en el caso del Ki67 un valor de chi cuadrado de Pearson de 1,07 con una  $p=0,301$ , sin objetivarse estadísticamente diferencias entre los dos grupo clasificados en función de la edad.

## Resultados.

### 4.2.1.1 Edad en el grupo de patologías benignas.

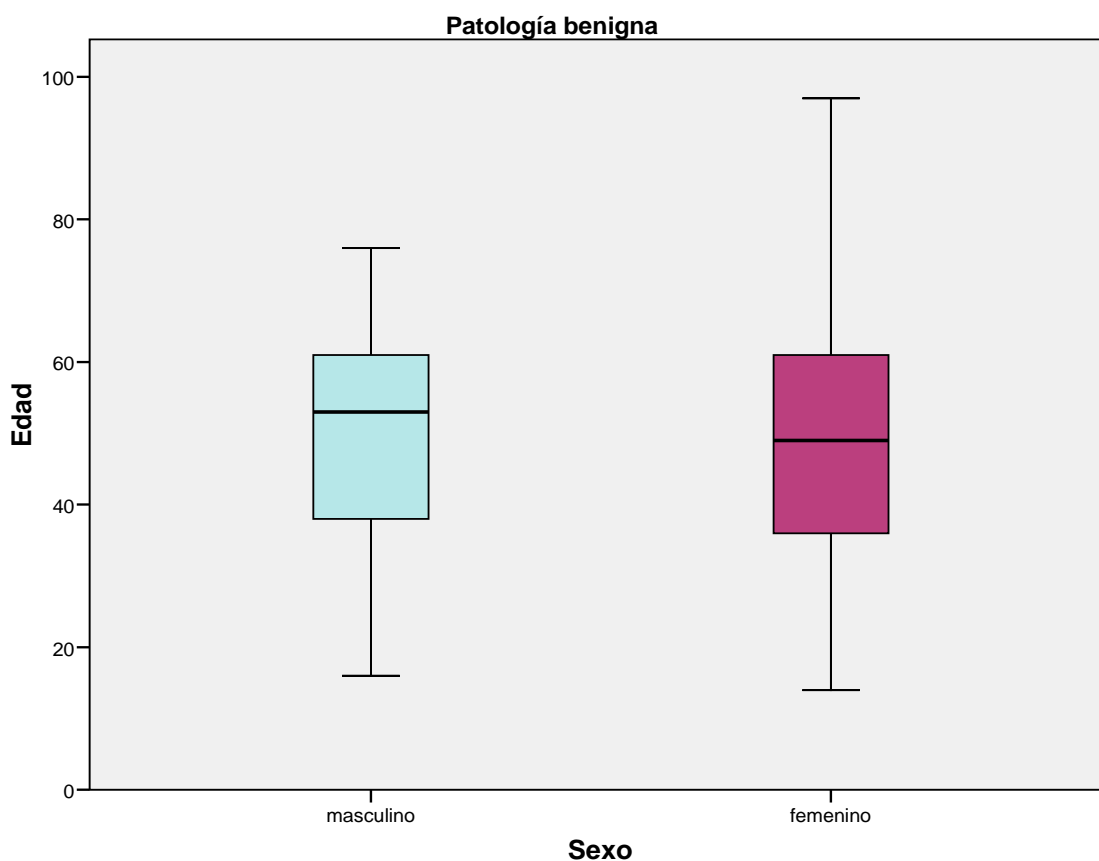
El grupo de pacientes con patología benigna pudimos conocer la edad en 394 casos cuya edad media y desviación típica, en el momento del diagnóstico, fue de  $48,42 \pm 15,28$  años con un rango que osciló entre un mínimo de 14 y una edad máxima de 97 años (Gráfica 2).



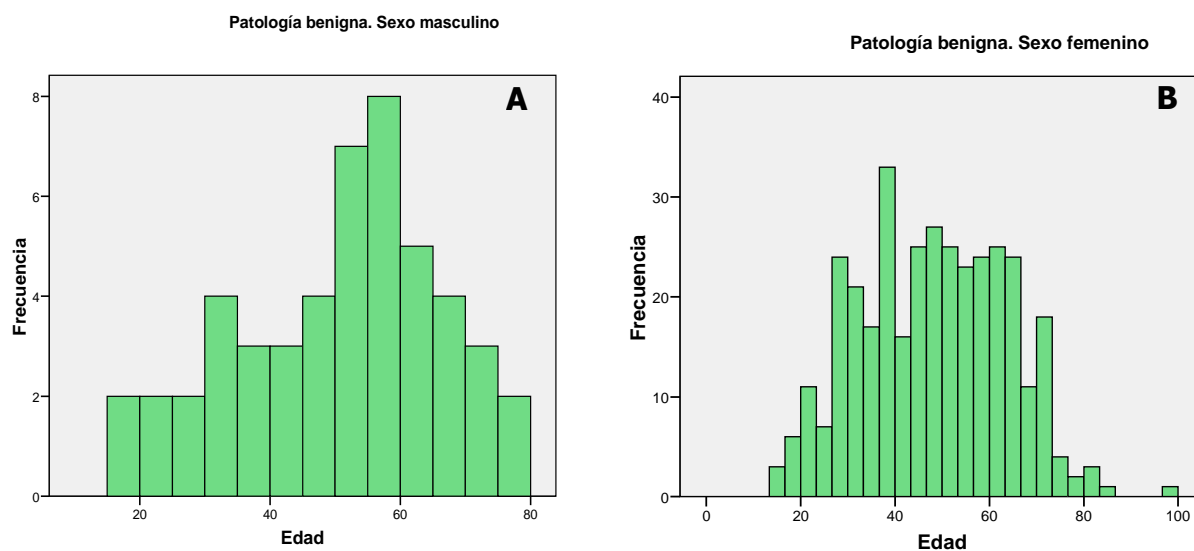
Gráfica 2 Distribución de casos en el grupo de patología benigna

En la distribución por sexos se observó que en el subgrupo masculino la edad media y desviación típica fue de  $49,86 \pm 15,82$  años, con una mediana de 53 y una moda de 55 años. El rango de edades osciló entre los 16 a los 76 años (Gráfica 3 y 4A)

Analizando los resultados por subgrupos dentro del conjunto de entidades no neoplásicas, en los pacientes con sexo masculino, se observó en la HCN una media y desviación típica de  $55,84 \pm 10,12$  años, disminuyendo en los casos de AF a  $50,4 \pm 13,34$  y a los  $38 \pm 23,11$  años respectivamente en los incluidos bajo el diagnóstico de tiroiditis. Por otro lado los casos incluidos como tejido normal tiroideo presentaron una edad media de 49,50 años con una desviación típica de 24,29 años.



Gráfica 3. Distribución de casos según la edad y sexo, en el grupo de patología benigna



Gráfica 4. Distribución de casos según la edad en el grupo de patología benigna y género

En el subgrupo femenino con patología benigna se obtuvo una edad media y desviación típica de  $48,19 \pm 15,25$  años con una moda de 54 años y una mediana de 49 años. El rango de edades osciló entre los 14 a 97 años (Gráfica 3 y 4B).

Asimismo, dentro de las entidades agrupadas bajo el grupo de patología benigna se observó, en los casos incluidos de sexo femenino, una edad media en la HCN de  $51 \pm 14,17$  años, disminuyendo en los dos subgrupos restantes, al igual que el los casos del sexo masculino, a  $44,43 \pm 14,63$  años de edad media y desviación típica en el caso de la tiroiditis, y a  $42,48 \pm 15,21$  años en los agrupado dentro del diagnóstico de AF. En los casos incluidos dentro del grupo control de tejido tiroideo normal la edad media y desviación típica fue de  $48,64 \pm 19,02$  años.

Marcadores	<45 años		≥45 años		p	$\chi^2$
	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo		
<b>IMP3</b>	144 (87,2%)	20 (12,2%)	205 (92,8%)	16 (7,2%)	0,099	2,727
<b>CITED-1</b>	157 (94,6%)	9 (5,4%)	221 (97,8%)	5 (2,2%)	0,091	2,862
<b>Ciclina D</b>	125 (74,9%)	42 (25,1%)	170 (75,6%)	55 (24,4%)	0,873	0,026
<b>Ciclina E</b>	160 (98,8%)	2 (1,2%)	223 (99,6%)	1 (0,4%)	<i>0,575</i>	0,757
<b>P27</b>	100 (60,2%)	66 (39,8%)	149 (66,5%)	75 (33,5%)	0,202	1,627
<b>P53</b>	148 (91,9%)	13 (8,1%)	195 (87,4%)	28 (12,6%)	0,161	1,969
<b>p63</b>	162 (100%)	0 (0%)	222 (98,7%)	3 (1,3%)	<i>0,268</i>	2,177
<b>PARP-1</b>	137 (86,2%)	22 (13,8%)	198 (88,4%)	26 (11,6%)	0,516	0,422
<b>PARP-1c</b>	155 (97,5%)	4 (2,5%)	217 (96,9%)	7 (3,1%)	1	0,124
<b>TPO</b>	27 (16,3%)	139 (83,7%)	52 (23,4%)	170 (76,6%)	0,083	3,001
<b>COX-2</b>	28 (16,9%)	138 (83,1%)	48 (21,1%)	180 (78,9%)	0,299	1,081
<b>Gal-3</b>	155 (95,1%)	8 (4,9%)	219 (96,9%)	7 (3,1%)	0,360	0,837
<b>CD44s</b>	83 (51,2%)	79 (48,8%)	140 (62,8%)	83 (37,2%)	<b>0,023</b>	<b>5,132</b>
<b>CD44v6</b>	115 (70,1%)	49 (29,9%)	191 (84,5%)	35 (15,5%)	<b>0,001</b>	<b>11,647</b>
<b>CD57</b>	151 (91,5%)	14 (8,5%)	207 (91,2%)	20 (8,8%)	0,910	0,013
<b>E-cad</b>	3 (1,8%)	161 (98,2%)	7 (3,2%)	211 (96,8%)	<i>0,526</i>	0,701
<b>b-cat</b>	124 (75,6%)	40 (24,4%)	185 (83,3%)	37 (16,7%)	0,061	3,523
<b>HBME-1</b>	157 (94,6%)	9 (5,4%)	221 (98,2%)	4 (1,8%)	<b>0,047</b>	<b>3,946</b>
<b>KS</b>	154 (96,3%)	6 (3,8%)	220 (98,7%)	3 (1,3%)	<i>0,173</i>	2,348
<b>CK19</b>	147 (88%)	20 (12%)	199 (89,2%)	24 (10,8%)	0,708	0,141
<b>Ki67</b>	145 (90,1%)	16 (9,9%)	207 (93,2%)	15 (6,8%)	0,260	1,270

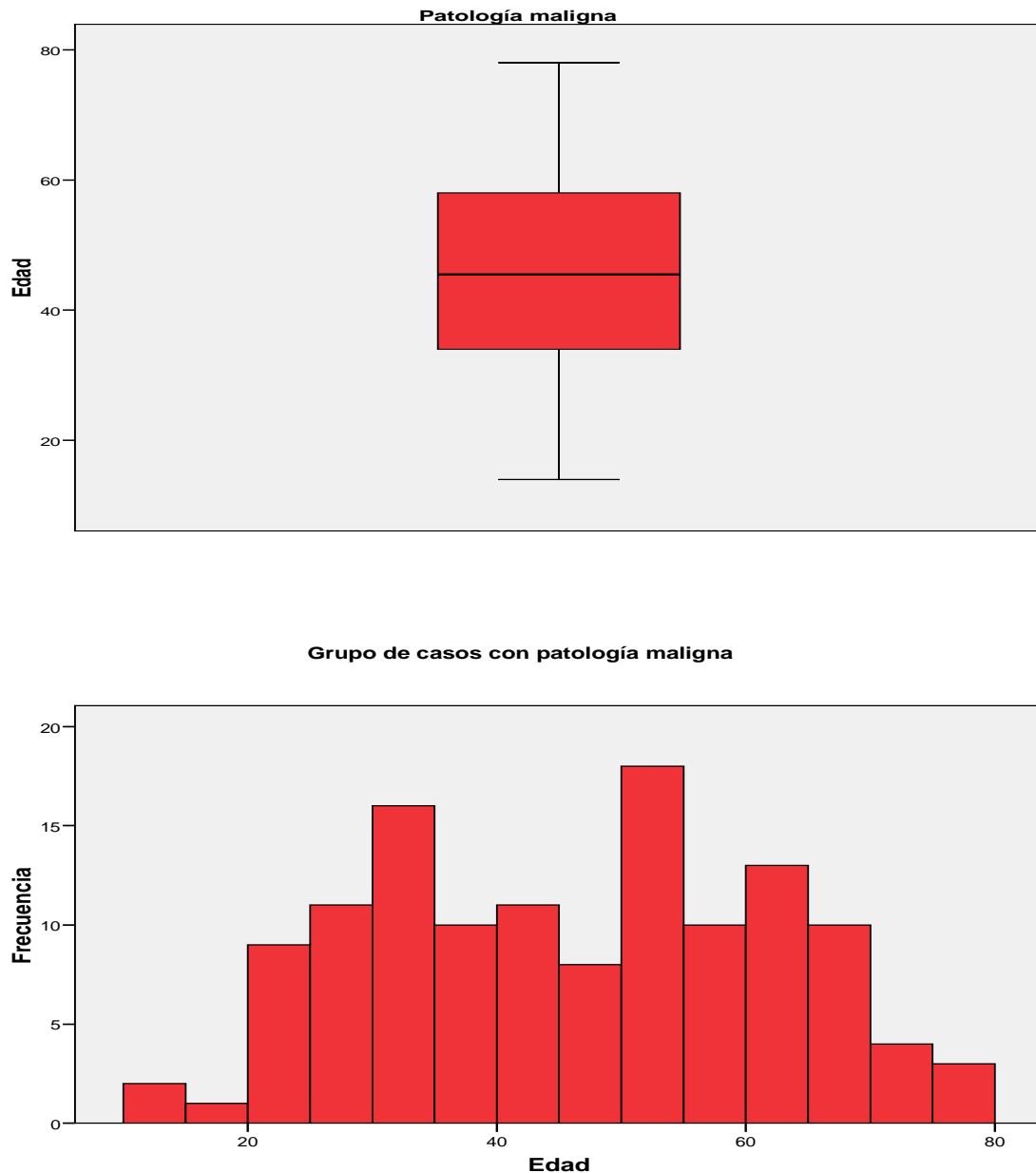
Tabla 9 Relación entre la expresión de los marcadores y la edad en el grupo de patología benigna  
*Valor p en cursiva calculado según test de Fisher*

En el análisis de la expresión de los diferentes marcadores estudiados en esta serie, en función de la edad, dentro del grupo integrado por los casos de patología benigna se observó sólo en tres de éstos (CD44s, CD44v6 y HBME-1), un patrón estadísticamente significativo en cuanto a su distribución, constatándose una menor expresión en el grupo integrado por pacientes mayores de 45 años (Tabla 9).

## Resultados.

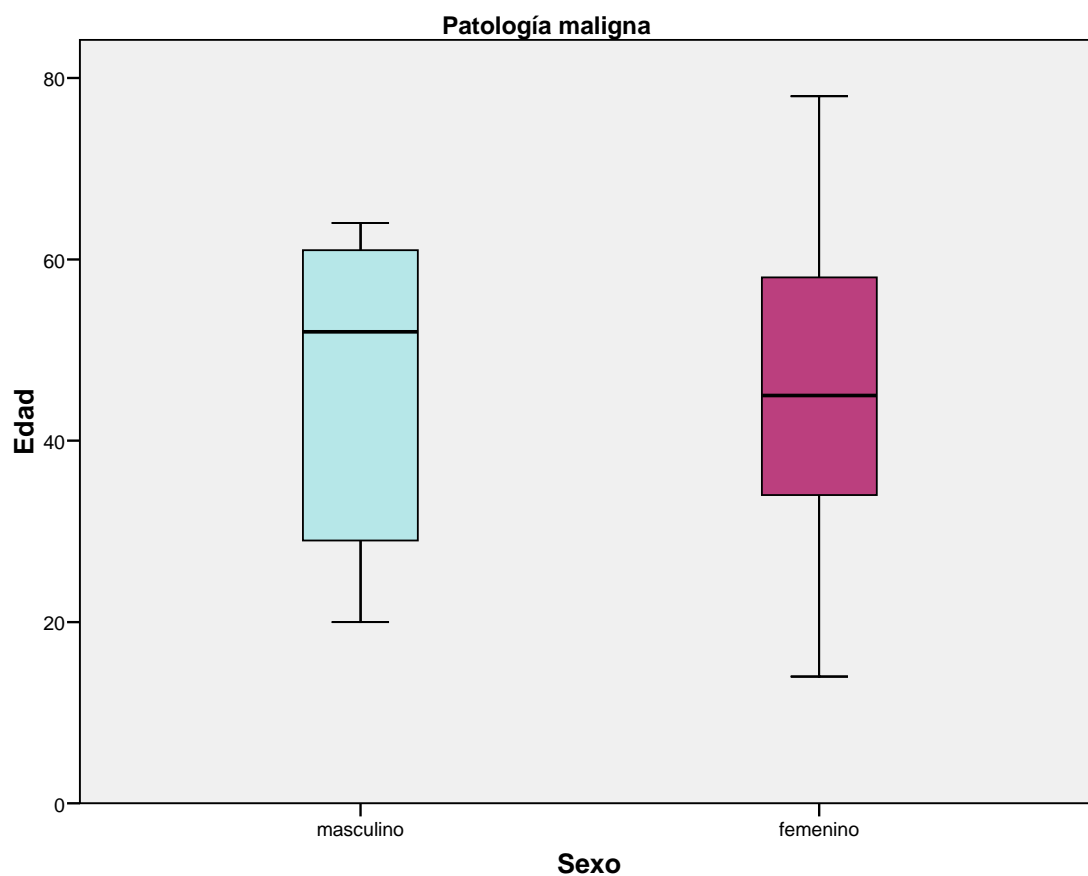
### 4.2.1.2 Edad en el grupo de patología neoplásica maligna.

El análisis de pacientes con patología maligna se realizó a partir de un total de 124 pacientes con una edad media y desviación típica en el momento del diagnóstico de  $45,59 \pm 15,52$  años con una moda de 34 años, oscilando el rango de edad desde los 14 años hasta una edad máxima de 78 años (Gráfica 5).



Gráfica 5. Distribución de casos según la edad en el grupo de patología maligna



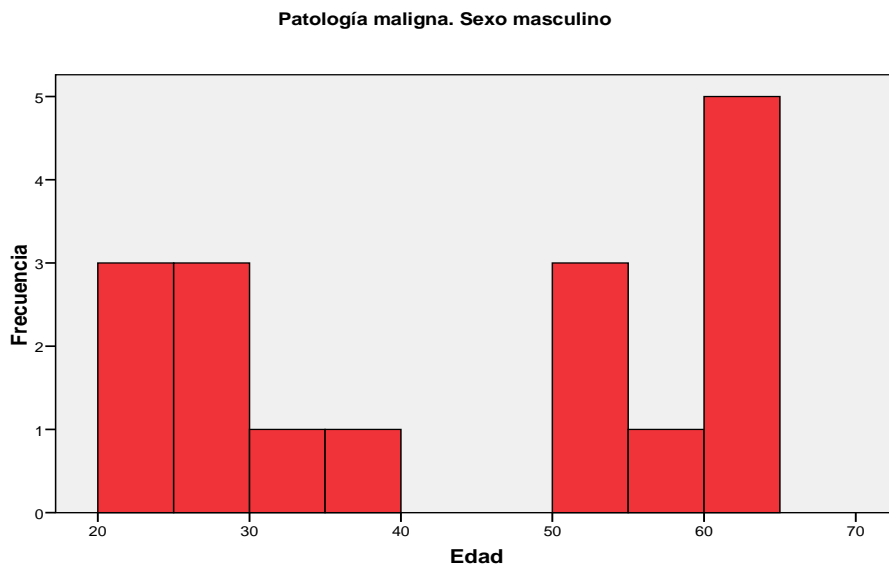


Gráfica 6 Distribución de casos según la edad y sexo, en el grupo de patología maligna

En la distribución por sexos se observó que en el subgrupo masculino la edad media y desviación típica fue de  $44,12 \pm 16,98$  años, con una mediana de 52 y una moda de 20 años. El rango de edades osciló entre los 20 a los 64 años (Gráfica 6 y 7).

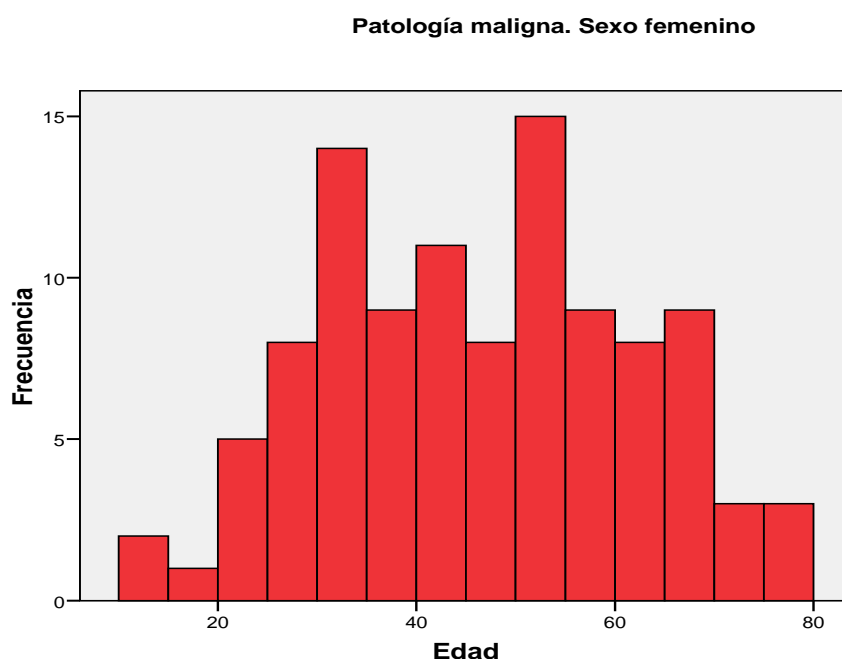
Por otro lado, en la valoración de las diferentes entidades incluidas bajo este epígrafe se apreció una edad media y desviación típica en los CPT de  $40 \pm 15,07$  años ascendiendo tanto en los miCPT como en los CFT a  $50,5 \pm 13,95$  y  $63,5 \pm 0,7$  años respectivamente. En el único caso incluido dentro del diagnóstico de CMT la edad fue de 20 años.

## Resultados.



Gráfica 7. Distribución de casos de patología maligna en el grupo masculino según la edad

En el subgrupo femenino con patología maligna se obtuvo una edad media y desviación típica de  $45,83 \pm 15,35$  años con una moda de 34 años y una mediana de 45 años. El rango de edades osciló en tre 14 a 78 años (Gráfica 6). Destaca en la observación de los datos obtenidos la presencia de dos picos de incidencia, el primero entre los 20-30 años y el segundo entre los 50-60 años (Gráfica 8).



Gráfica 8. Distribución de casos de patología maligna en el grupo femenino según la edad

La valoración de las diferentes entidades incluidas en el apartado de patología maligna mostró una edad media y desviación típica en el caso de los CPT de  $43,08 \pm 13,9$  años, aumentando ligeramente en el caso de los miCPT a  $44,87 \pm 12,72$  años y algo mayor en las metástasis de CPT donde se apreció una edad media de  $50,9 \pm 17,49$  años. En el caso de los CFT se apreció una edad media y DT de  $45,71 \pm 16,06$ . Los datos obtenidos en el CMT revelaron una edad media de  $36 \pm 22,6$  años, ascendiendo a  $63,5 \pm 13,43$  años en el carcinoma anaplásico y a  $77,5 \pm 0,7$  en los diagnosticados como carcinoma pobremente diferenciado (patrón insular).

Resultados.

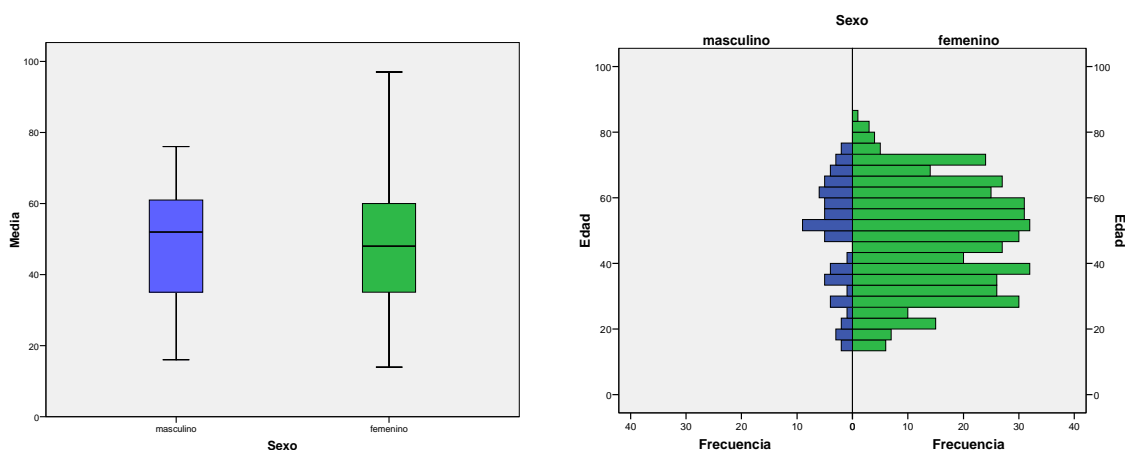
Marcadores	<45 años		≥45 años		p	$\chi^2$
	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo		
<b>IMP3</b>	38 (63,3%)	22 (36,7%)	37 (36,8%)	21 (36,2%)	0,959	0,003
<b>CITED-1</b>	42 (68,9%)	19 (31,1%)	44 (72,1%)	17 (27,9%)	0,691	0,158
<b>Ciclina D</b>	21 (34,4%)	40 (65,6%)	25 (42,4%)	34 (57,6%)	0,371	0,801
<b>Ciclina E</b>	56 (94,9%)	3 (5,1%)	52 (89,7%)	6 (10,3%)	0,286	1,140
<b>P27</b>	40 (65,6%)	21(34,4%)	42 (72,4%)	16 (27,6%)	0,420	0,649
<b>P53</b>	45 (75%)	15 (25%)	39 (68,4%)	18 (31,6%)	0,429	0,625
<b>p63</b>	53 (88,3%)	7 (11,7%)	55 (94,8%)	3 (5,2%)	0,205	1,604
<b>PARP-1</b>	51 (85%)	9 (15%)	44 (75,9%)	14 (24,1%)	0,210	1,569
<b>PARP-1c</b>	50 (83,3%)	10 (16,7%)	49 (84,5%)	9 (15,5%)	0,865	0,029
<b>TPO</b>	32 (52,5%)	29 (47,5%)	43 (72,9%)	16 (27,1%)	<b>0,021</b>	<b>5,337</b>
<b>COX-2</b>	16 (26,2%)	45 (73,8%)	18 (30%)	42 (70%)	0,645	0,213
<b>Gal-3</b>	34 (57,6%)	25 (42,4%)	37 (63,8%)	21 (36,2%)	0,495	0,466
<b>CD44s</b>	17 (28,3%)	43 (71,7%)	21 (36,2%)	37 (63,8%)	0,360	0,837
<b>CD44v6</b>	22 (36,7%)	38 (63,3%)	36 (61%)	23 (39%)	<b>0,008</b>	<b>7,060</b>
<b>CD57</b>	45 (73,8%)	16 (26,2%)	47 (79,8%)	12 (20,3%)	0,446	0,582
<b>E-cad</b>	5 (8,3%)	55 (91,7%)	9 (15,5%)	49 (84,5%)	0,228	1,456
<b>b-cat</b>	38 (63,3%)	22 (36,7%)	44 (73,3%)	16 (26,7%)	0,239	1,386
<b>HBME-1</b>	25 (41,7%)	35 (58,3%)	29 (50,9%)	28 (49,1%)	0,318	0,998
<b>KS</b>	33 (54,1%)	28 (45,9%)	31 (54,4%)	26 (45,6%)	0,975	0,001
<b>CK19</b>	26 (42,6%)	35 (57,4%)	36 (61%)	23 (39%)	<b>0,044</b>	<b>4,063</b>
<b>Ki67</b>	33 (54,1%)	28 (45,9%)	30 (50,8%)	29 (49,2%)	0,721	0,127

Tabla 10 Relación entre la expresión de los marcadores y la edad en el grupo de patología maligna

La valoración de la expresión de los marcadores inmunohistoquímicos en relación con la edad de los pacientes integrados dentro del grupo de patología maligna presentó un patrón estadísticamente significativo en tres de éstos (TPO, CD44v6 y la CK-19), constatándose una menor expresión en el grupo de casos pertenecientes a pacientes mayores a 45 años (Tabla 10).

## 4.2.2 Sexo

La distribución por sexos mostró una relación hombre/mujer de 1:6,7. Asimismo, el patrón de distribución entre sexos mostró una media de edad de  $48,86 \pm 16,04$  años en el caso masculino (N=69) y de  $47,61 \pm 15,35$  años para el grupo femenino (N=479) (Gráfica 9).



Gráfica 9. Distribución de casos según sexo (izq) y edad (der).

Desde un punto de vista estadístico la estratificación de la edad en función del género no mostró una diferencia significativa ( $p=0,625$ ), así como una escasa asociación entre la edad y el sexo ( $\eta^2=0,02$ ).

Igualmente en el análisis de la distribución de los marcadores en función del sexo de los pacientes incluidos en la serie no se observó para ninguno de ellos diferencias estadísticamente significativas al valorar esta variable tanto en el caso de la patología benigna como en el caso de la patología maligna, como se observa en la tabla 11 y en la tabla 12.

Resultados.

Marcadores	Masculino		Femenino		p	$\chi^2$
	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo		
<b>IMP3</b>	45	6	312	32	<i>0,610</i>	<i>0,31</i>
<b>CITED-1</b>	48	2	339	13	<i>1</i>	<i>0,011</i>
<b>Ciclina D</b>	33	18	270	81	0,058	3,581
<b>Ciclina E</b>	49	1	344	2	<i>0,334</i>	<i>1,175</i>
<b>P27</b>	29	22	224	125	0,311	1,026
<b>P53</b>	40	8	312	34	0,150	2,071
<b>p63</b>	50	1	344	2	<i>0,339</i>	<i>1,133</i>
<b>PARP-1</b>	40	9	303	41	0,205	1,606
<b>PARP-1c</b>	49	0	332	12	<i>0,376</i>	<i>1,763</i>
<b>TPO</b>	6	44	73	275	0,137	2,215
<b>COX-2</b>	12	39	65	288	0,385	0,756
<b>Gal-3</b>	51	0	333	15	0,234	2,284
<b>CD44s</b>	26	24	203	142	0,360	0,839
<b>CD44v6</b>	34	15	280	71	0,097	2,747
<b>CD57</b>	44	7	324	27	<i>0,174</i>	<i>2,093</i>
<b>E-cad</b>	1	49	9	333	<i>1</i>	<i>0,070</i>
<b>b-cat</b>	38	11	279	68	0,640	0,219
<b>HBME-1</b>	48	2	340	11	<i>0,670</i>	<i>0,105</i>
<b>KS</b>	47	2	337	7	0,312	0,803
<b>CK19</b>	47	4	309	40	0,440	0,595
<b>Ki67</b>	41	7	320	25	0,092	3,033

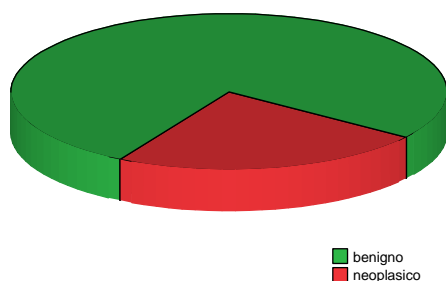
Tabla 11 Patrón de expresión en función del sexo en el grupo de patología benigna  
*Valor p en cursiva calculado según test de Fisher*

Marcadores	Masculino		Femenino		p	$\chi^2$
	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo		
IMP3	10	7	66	37	0,677	0,173
CITED-1	13	4	74	33	0,542	0,375
Ciclina D	7	10	41	64	0,868	0,028
Ciclina E	16	1	94	8	1	0,080
P27	13	4	69	35	0,408	0,686
P53	11	6	75	27	0,559	0,566
p63	14	3	96	7	0,151	2,249
PARP-1	14	3	82	21	1	0,069
PARP-1c	13	4	88	15	0,470	0,880
TPO	12	4	63	43	0,233	1,422
COX-2	7	10	27	79	0,241	1,807
Gal-3	9	8	64	38	0,442	0,591
CD44s	7	10	33	70	0,459	0,548
CD44v6	10	7	49	55	0,802	0,371
CD57	14	2	80	26	0,358	1,137
E-cad	4	12	10	94	0,092	3,185
b-cat	15	2	69	36	0,063	3,460
HBME-1	7	10	49	53	0,600	0,275
KS	7	10	59	44	0,216	1,529
CK19	6	10	58	48	0,199	1,652
Ki67	10	7	55	50	0,621	0,244

Tabla 12 Patrón de expresión en función del sexo en el grupo de patología maligna.

Valor p en cursiva calculado según test de Fisher

#### 4.2.3 Características histopatológicas



Gráfica 10. Relación de la distribución de patología benigna y maligna

Del conjunto de casos seleccionados e incluidos en las micromatrices de tejido se pudo realizar el estudio en un total de 534 muestras debido a la pérdida en la construcción de los bloques de 12 casos, correspondiendo a 8 lesiones benignas (7 HCN y 1 tiroiditis) y a 4 lesiones malignas (1 caso de CPT, metástasis de CPT, CMT y CAT, respectivamente). Asimismo, del grupo de tejido tiroideo

## Resultados.

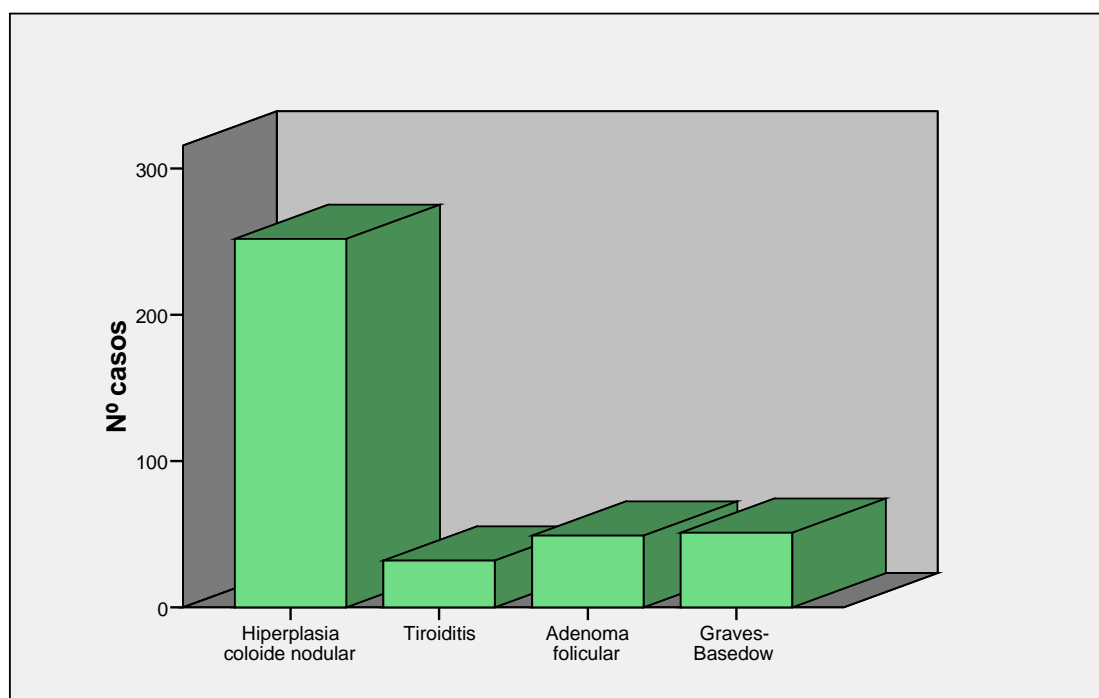
normal integrado en el estudio (n=18) se rechazaron dos muestras por presentar una expresión inmunohistoquímica con una calidad insatisfactoria para integrar dicho grupo de control.

Del total de muestras el 73,8% de los casos integraron el grupo de lesiones benignas frente al 23,2% que constituyeron el grupo de lesiones malignas (Gráfica 10).

### 4.2.3.1 Grupo de patología benigna

El grupo constituido por pacientes con patologías benignas estuvo integrado por 394 casos de los que el 65% de éstos constituían el subgrupo de pacientes diagnosticados de hiperplasia coloide nodular (HCN), seguidos en orden de frecuencia por el subgrupo con el diagnóstico de adenoma folicular (AF) (13,7%), Graves-Basedow (GB) (13,2%), y tiroiditis linfocitaria (8,1%) (Gráfica 11).

**Grupo de casos con patología benigna**



Gráfica 11. Distribución de entidades del grupo de patología benigna

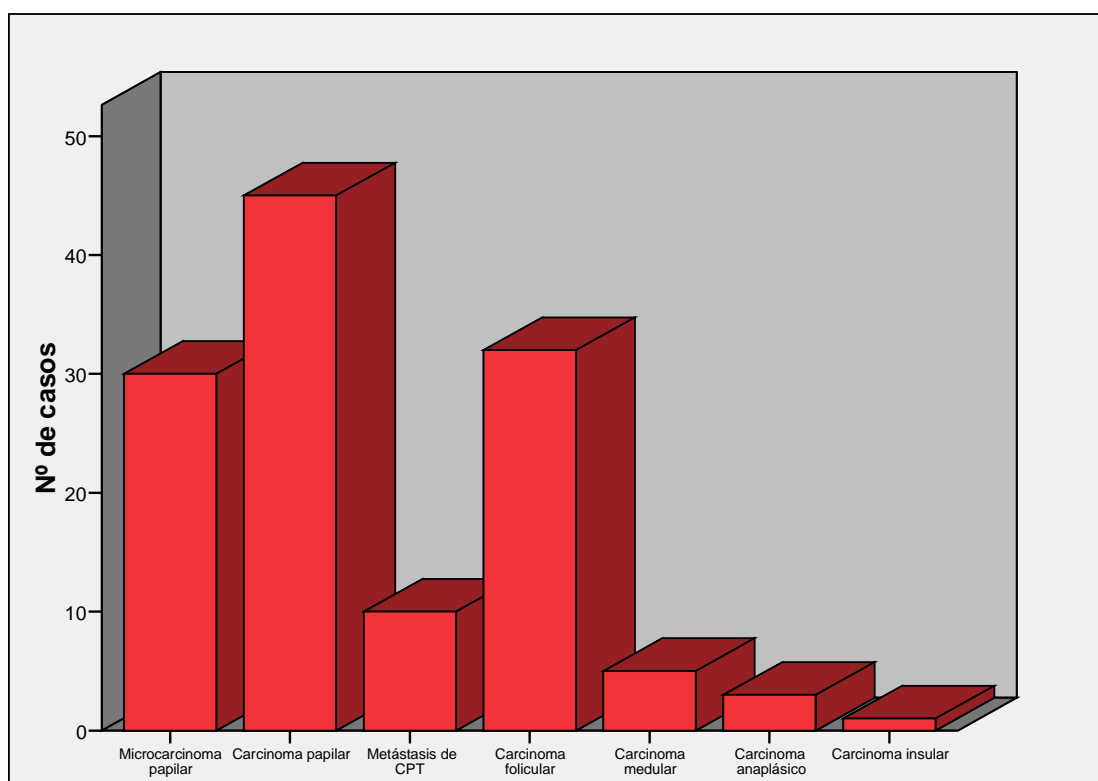


#### 4.2.3.2 Grupo de patología maligna

El segundo grupo constituido por un total de 124 lesiones malignas estuvo representado por 85 casos de CPT (66,9%), 31 casos con el diagnóstico de CFT (25%), junto con 4 casos de carcinoma medular de tiroides (3,2%) y 2 casos de con el diagnóstico de carcinoma anaplásico (1,6%) así como otros dos casos con el diagnóstico de carcinoma pobremente diferenciado (patrón insular) (1,6%) (Gráfica 12).

El primero de los apartados (CPT) estuvo integrado por 75 casos de CPT constituidos por 30 casos de miCPT y 45 casos de carcinoma papilar de tiroides primario distribuido de la siguiente forma: CPT clásico: 25,3% (19 casos), CPT variante folicular: 20% (15 casos), CPT variante células altas: 14,7% (11 casos).

**Grupo de casos con patología neoplásica**



Gráfica 12. Distribución de entidades del grupo de patología maligna

## Resultados.

Del total de los CPT el 13,3% (n=6) presentaron una dimensión máxima menor a 2cm (5 casos de CPTc y 1 de CPTvf), la mayoría oscilaron entre los 2 a 4cm: 48,9% (n=22), constituidos por 9 CPTc, 10 CPTvf y 3 CPTvca, los mayores a 4cm representaron el 22,2% del total (n=10), agrupados por 5 CPTc, 2 CPTvf y 3 CPTvca. Por último, 7 casos mostraron extensión extratiroidea en el momento del diagnóstico (15,6%), de los que 2 eran CPTvf y 5 CPTvca.

Por otro lado, se observaron en 13 casos de CPT metástasis ganglionares en el momento de la intervención quirúrgica, representando el 28,9% del total.

CPT	<45 años			≥45 años		
	N0	N1a	N1b	N0	N1a	N1b
T1	0	0	0	6	0	0
T2	10	2	1	9	0	0
T3	5	2	0	0	3	0
T4	1	0	3	1	0	2

Tabla 13. Relación entre el TNM y la edad en el CPT

El segundo subgrupo dentro de la patología maligna estuvo constituido por aquellos pacientes con el diagnóstico de carcinoma folicular, de los que 19 casos eran mínimamente invasivos, si bien en uno de los casos no se pudo determinar la edad del paciente, resultando por tanto un total de 18 casos (56,3%); los 13 casos restantes pertenecían al grupo de casos ampliamente invasivos (43,7%). De todos estos tumores foliculares la mayoría mostró un tamaño mayor a los 4cm (n=11), constituyendo el 35,5%, distribuyéndose el resto entre los menores de 2cm: 5 casos (16,1%), entre los 2cm a los 4cm: 9 casos (29%), y 6 casos con extensión extratiroidea (19,4%) (Tabla 14).

CFT	<45 años		≥45 años	
	Minimamente invasivo	Ampliamente invasivo	Minimamente Invasivo	Ampliamente invasivo
T1	5	0	0	0
T2	6	1	0	2
T3	0	1	5	5
T4	0	1	2	3

Tabla 14 Relación entre el tamaño tumoral y la invasión capsular de los CFT, según edad

Análisis mediante micromatrices de tejido de marcadores inmunohistoquímicos de utilidad en el diagnóstico diferencial del carcinoma diferenciado de tiroides

<b>Resumen de frecuencias de la serie estudiada</b>	
<b>Número de muestras seleccionadas</b>	<b>548</b>
<b>Número de muestras válidas</b>	<b>534</b>
<b>Rango de muestras valoradas</b>	<b>515-529</b>
<b>Edad</b>	
Media	47,79
Desviación típica	15,425
Mediana	49
Moda	54
Rango	14-97
<b>Distribución por sexo</b>	
Masculino	12,8% (69)
Femenino	87,2% (465)
<b>Distribución por sexo y patología</b>	
Masculino y patología benigna	45
Masculino y tejido tiroideo normal	3
Masculino y patología maligna	19
Femenino y patología benigna	349
Femenino y tejido tiroideo normal	13
Femenino y patología maligna	105
<b>Distribución por grupo de patologías</b>	
<b>Tejido tiroideo normal (n=16)</b>	
<b>Patología benigna (n=394)</b>	
Hiperplasia coloide nodular	256 (65%)
Tiroiditis	32 (8,1%)
Graves-Basedow	52 (13,2%)
Adenoma folicular	54 (13,7%)
<b>Patología maligna (n=124)</b>	
Carcinoma papilar	85 (68,6%)
Carcinoma folicular	31 (25%)
Carcinoma medular	4 (3,2%)
Carcinoma anaplásico	2 (1,6%)
Carcinoma pobremente diferenciado (patrón insular)	2 (1,6%)

Tabla 15. Resumen de frecuencias

### 4.3 Hallazgos inmunohistoquímicos. Frecuencias. Analisis descriptivo.

Del total de las 534 muestras aptas para estudio, distribuidas entre 14 bloques, se realizaron 22 valoraciones inmunohistoquímicas usando 20 anticuerpos diferentes (en el caso de la  $\beta$ -catenina se analizaron de forma independiente su expresión nuclear y en un segundo tiempo su expresión membranosa, igualmente, en la expresión de la PARP-1 se estudió tanto su patrón nuclear como el citoplasmático en dos tiempos y de forma independiente). La valoración de los resultados se realizó segregando todos los casos incluidos en el estudio en dos grandes grupos: Patología benigna y Patología maligna; posteriormente, se analizó la expresión del marcador inmunohistoquímico en los diferentes subgrupos recogidos dentro de los dos grupos principales.

De igual forma se realizó la valoración en cada marcador de la sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN), entre los diferentes grupos de patología.

## Resultados.

### 4.3.1 Proteínas codificadoras por oncogénes

#### 4.3.1.1 Proteínas activadoras y coactivadoras transcripcionales

##### 4.3.1.1.1 IMP-3

El patrón de tinción observado en las células foliculares mostró una distribución citoplasmática homogénea, a veces con refuerzo de membrana, ocasionalmente granular con refuerzo paranuclear, sin tinción nuclear y fue más intensa en las lesiones formadas por células oncócicas. Por otro lado, en la población linfoide incluida en las muestras de esta serie no se objetivó positividad, así como tampoco se observó tinción positiva en el endotelio incluido en ninguno de los casos.

La expresión inmunohistoquímica fue valorada según el esquema aportado en el punto 3.2.4 (Tabla 6) aplicando el sistema comunicado por otros autores (Asioli *et al.*, 2010).

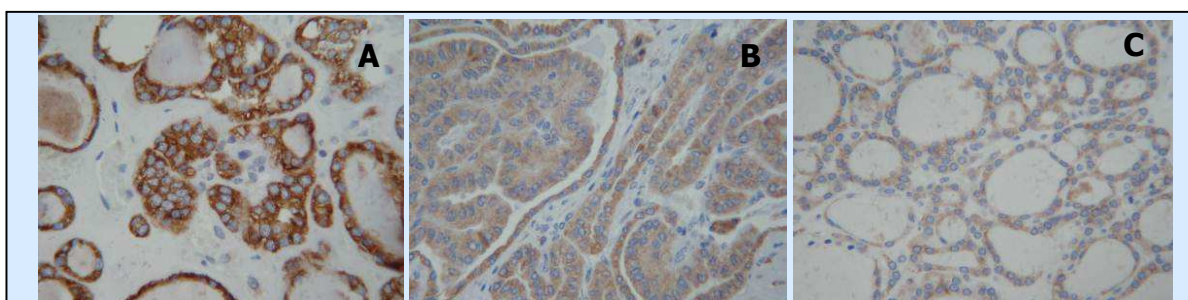


Figura 4 Expresión del IMP-3

**A:** Patrón con intensidad fuerte en las células foliculares de un adenoma folicular, donde se observa la negatividad en las células endoteliales de las estructuras vasculares. IMP-3 (x20).

**B:** Patrón con intensidad moderada en una lesión con el diagnóstico de CPT donde se aprecia una tinción homogénea citoplasmática con negatividad en los escasos linfocitos acompañantes así como en el espacio vascular IMP-3 (x40).

**C:** Patrón de tinción citoplasmática con intensidad leve en una lesión con diagnóstico de adenoma folicular IMP-3 (x40).

La expresión del IMP-3 fue posible en 519 casos (96,4%) del total, en los que se obtuvieron 82 casos con una puntuación igual o superior a 2 (15,9%).

IMP-3	Positivo	Negativo	p	$\chi^2$
Patología benigna	9,6% (38)	<b>90,4%</b> (357)	<b>1,324e-12</b>	<b>50,292</b>
Patología maligna	35,5% (44)	<b>64,5%</b> (80)		

Tabla 16 Valoración del IMP-3. Puntuación semicuantitativa >2.

El porcentaje de casos positivos para este marcador en el grupo de patología benigna fue de 9,6%, alcanzando el 35,5% en los casos englobados dentro de la categoría de patología maligna ( $\chi^2=50,2924$ ;  $p=1,3245e-12$ :  **$p<0,001$** ).

En el análisis segmentado por grupos se observó en el caso de los clasificados dentro de la categoría de Patología benigna una positividad que osciló entre el 9,4% en el caso de la tiroiditis al 7,4% en los diagnosticados como hiperplasia coloide nodular, destacando que tanto las muestras de tiroides normal como las diagnosticadas como Graves-Basedow no mostraron positividad frente al IMP-3 (Tabla 17).

Expresión de IMP-3	≤2	3	4	5	6	p	$\chi^2$
<b>HCN (n=244)</b>	226 (92,6%)	7	4 18 (7,4%)	3	4	<b>2,0e-11</b>	<b>39,176</b>
<b>Tiroiditis (n=32)</b>	29 (90,6%)	3	0 3 (9,4%)	0	0		
<b>Graves-Basedow (n=50)</b>	50 (100%)	0	0 (0%)	0	0		
<b>Adenoma folicular (n=53)</b>	36 (68%)	4	9 (32%)	1	3		
<b>Tiroides normal (n=16)</b>	16 (100%)	0	0 (0%)	0	0		

Tabla 17. Valoración del IMP-3 en el grupo de patología benigna. Valor p calculado según test de Fisher

La expresión de IMP-3 en el apartado de lesiones malignas fue mayor con respecto a las lesiones benignas, como se ha comentado antes; en el caso del carcinoma papilar mostró un gradiente creciente en relación al peor comportamiento clínico, oscilando del 32,1% en el microcarcinoma papilar al 38,1% en el carcinoma papilar y ascendiendo al 40% en las metástasis de carcinoma papilar (MCPT) (Tabla 18).

Por otro lado, en el conjunto de lesiones foliculares se observó igualmente un gradiente de expresión ascendente desde el 32% en el caso de los adenomas foliculares al 40% en los carcinomas foliculares.

Resultados.

Expresión de IMP-3	≤2	3	4	5	6	p	χ <sup>2</sup>
<b>Microcarcinoma papilar (n=29)</b>	19 (67,9%)	5	1	3	0	<b>0,690</b>	<b>5,649</b>
			9 (31%)				
<b>Carcinoma papilar (n=42)</b>	26 (61,9%)	5	6	4	1		
			16 (38%)				
<b>Metástasis de CPT (n=10)</b>	6 (60%)	2	2	0	0		
			4 (40%)				
<b>Carcinoma folicular (n=30)</b>	18 (60%)	2	6	4	0		
			12 (40%)				
<b>Carcinoma medular (n=4)</b>	3 (75%)	0	1	0	0		
			1 (25%)				
<b>Carc. anaplásico (n=2)</b>	0 (0%)	0	0	1	1		
			2 (100%)				
<b>C. Pobremente diferenciado (n=2)</b>	2 (100%)	0	0	0	0		
			0 (0%)				

Tabla 18. Valoración del IMP-3 en el grupo de patología maligna

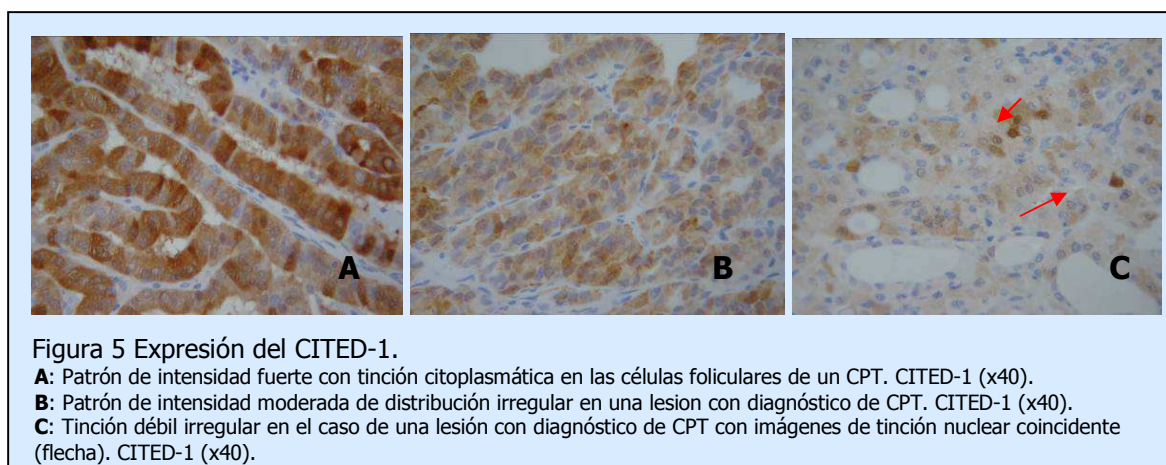
El IMP-3 mostró una sensibilidad del 35,5% en el diagnóstico diferencial entre las lesiones benignas y las lesiones malignas con una especificidad del 90,4% así como una eficiencia diagnóstica del 77,3%. El VPP y el VPN alcanzaron el 53,7% y el 81,7% respectivamente (Tabla 80). Por otro lado, en el diagnóstico diferencial entre las lesiones foliculares malignas y el tejido tiroideo normal mostró una sensibilidad del 60% y una especificidad del 100%, con un VPP del 100% y del 57,1% para el VPN. La eficiencia diagnóstica fue del 73,9% (Tabla 91).



#### 4.3.1.1.2 CITED-1

El estudio inmunohistoquímico de este marcador mostró una tinción citoplasmática homogénea, con una disposición ocasionalmente granular, en las células foliculares tiroideas, presentando tinción nuclear acompañante en alguno de los casos estudiados (coincidiendo con tinción citoplasmática), si bien no se observó tinción nuclear de forma aislada en ninguno de los casos incluidos en el presente estudio (Figura 5C).

La técnica se consideró según los criterios aportados por otros autores, como queda reflejado en el punto 3.2.4 (Tabla 6) (Scognamiglio *et al.*, 2006; Prasad *et al.*, 2005).



La valoración de la expresión del CITED1 fue posible en 526 constituyendo el 98,5% del total de casos aptos, obteniéndose en 52 casos una puntuación superior a 2 (9,9%).

La valoración semicuantitativa obtenida tras la realización del estudio inmunohistoquímico dió una puntuación superior a 2 en el 3,7% de los casos de patología benigna, alcanzando el 29,8% en el grupo de patología maligna ( $X^2=72,5066$ ;  $p=1,6646e-17$ :  **$p<0,001$** ) (Tabla 19).

## Resultados.

<b>CITED1</b>	Positivo	Negativo	p	$\chi^2$
Patología benigna	3,7% (15)	<b>96,3%</b> (387)	<b>&lt;0,001</b>	<b>72,506</b>
Patología maligna	29,8% (37)	<b>70,2%</b> (87)		

Tabla 19 Valoración del CITED-1. Puntuación semicuantitativa >2.

La valoración dentro de cada grupo, una vez segregados los datos por patologías, mostró una expresión inmunohistoquímica frente al CITED1 en el grupo de patologías benignas muy reducida, oscilando del 6,2% en los casos de tiroiditis al 4% en los casos diagnosticados como Graves-Basedow, sin encontrarse expresión en ninguna de las muestras incluidas como tejido tiroideo normal (Tabla 20).

<b>Expresión de CITED1</b>	<b>≤2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>p</b>	<b><math>\chi^2</math></b>
<b>HCN (n=250)</b>	247 (98,8%)	1	0	1	1	<b>0,005</b>	<b>13,824</b>
<b>Tiroiditis (n=32)</b>	30 (93,8%)	0	2	0	0		
<b>Graves-Basedow (n=52)</b>	50 (96,2%)	2	0	0	0		
<b>Adenoma folicular (n=52)</b>	44 (84,6)	5	1	0	2		
<b>Tiroides normal (n=16)</b>	16 (100%)	0	0	0	0		

Tabla 20. Valoración del CITED-1 en el grupo de patología benigna

Por el contrario, si se obtuvo un porcentaje de casos significativamente mayor en el grupo de lesiones papilares con una tasa de positividad progresivamente mayor en relación con el diagnóstico, progresando del 20% en los casos clasificados como microcarcinoma papilar, al 37,8% en los casos de carcinoma papilar y al 50% en las metástasis de los carcinomas papilares (MCPT) (Tabla 21).

En el caso de las lesiones foliculares la expresión inmunohistoquímica de CITED1 fue más baja, con una positividad del 15,4% en los adenomas foliculares y del 29% en los carcinomas foliculares.

En ninguno de los casos con diagnóstico de carcinoma medular, carcinoma anaplásico y carcinoma pobremente diferenciado (CPD) se observó expresión inmunohistoquímica (Tabla 21).

Expresión de CITED1	≤2	3	4	5	6	p	χ <sup>2</sup>
<b>Microcarcinoma papilar (n=30)</b>	24 (80%)	2	3 6 (20%)	1	0	0,253	8,095
<b>Carcinoma papilar (n=45)</b>	28 (62,2%)	6	4 17 (37,8%)	3	4		
<b>Metástasis de CPT (n=10)</b>	5 (50%)	1	3 5 (50%)	1	0		
<b>Carcinoma folicular (n=31)</b>	22 (71%)	3	3 9 (29%)	3	0		
<b>Carcinoma medular (n=4)</b>	4 (100%)	0	0 0 (0%)	0	0		
<b>Carc. anaplásico (n=2)</b>	2 (100%)	0	0 0 (0%)	0	0		
<b>C. Pobremente diferenciado (n=2)</b>	2 (100%)	0	0 0 (0%)	0	0		

Tabla 21. Valoración del CITED-1 en el grupo de patología maligna

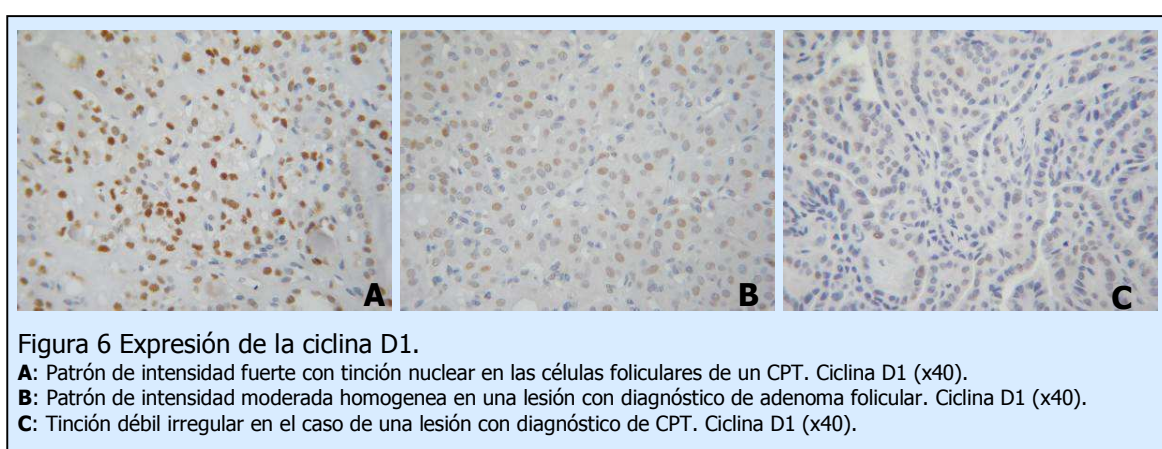
Este marcador mostró en el diagnóstico diferencial entre lesiones benignas y malignas una sensibilidad del 29.8% con una especificad del 96,3%; el VPP fue del 71.1% y el VPN del 81.6%. La eficiencia diagnóstica mostrada por esta técnica de forma individual fue del 80.6% (Tabla 80).

### 4.3.1.2 Proteínas reguladoras del ciclo celular

#### 4.3.1.2.1 Ciclina D1

El patrón de tinción fue exclusivamente nuclear aunque, de forma esporádica, se observó tinción citoplasmática con una intensidad leve, en un número de casos muy reducidos; asimismo, se observó tinción nuclear en células endoteliales.

El criterio de puntuación fue el expresado en el punto 3.2.4 (Tabla 6), adoptando el baremo aplicado por otros autores previamente (Saiz *et al.*, 2002).



La valoración inmunohistoquímica fue realizada sobre 524 casos del total valorable incluido en el estudio, representando el 98,1%. De éstos se obtuvo una puntuación semicuantitativa igual o superior a 3 en 173 casos (el 33,1% del total).

En el análisis de la expresión inmunohistoquímica de la Ciclina D1 se apreció una puntuación superior a 2 en el 24,6% de las lesiones benignas, frente al 60,7% de los casos con lesiones malignas ( $\chi^2=54,9370$ ;  $p=1,2445e-13$ :  **$p<0,001$** ).

<b>Ciclina D1</b>	Positivo	Negativo	p	$\chi^2$
Patología benigna	24,6% (99)	<b>75,4%</b> (303)	<b>1,244e-13</b>	<b>54,937</b>
Patología maligna	60,7% (74)	<b>39,3%</b> (48)		

Tabla 22 Valoración de la Ciclina D1. Puntuación semicuantitativa >2.

En el apartado de lesiones benignas, la distribución de la expresión de la ciclina D1 con una puntuación semicuantitativa inferior o igual a 2 fue de más del 75% en la mayoría de los subgrupos, oscilando del 93,8% en el tejido tiroideo normal al 75% en el grupo de casos con diagnóstico de Graves-Basedow (Tabla 23).

Expresión de Ciclina D1	≤2	3	4	5	6	p	χ <sup>2</sup>
<b>HCN (n=247)</b>	205 (83%)	18	14	8	4	<b>4,918e-11</b>	<b>54,140</b>
<b>Tiroiditis (n=32)</b>	25 (78,1%)	3	3	1	0		
<b>Graves-Basedow (n=52)</b>	39 (75%)	8	3	1	1		
<b>Adenoma folicular (n=53)</b>	19 (35,8%)	5	13	10	6		
<b>Tiroides normal (n=16)</b>	15 (93,8%)	0	0	1	0		

Tabla 23. Valoración de la Ciclina D1 en el grupo de patología benigna

En el examen de las lesiones neoplásicas se observó una expresión de la Ciclina D1 progresivamente mayor, que en el caso de las lesiones papilares osciló del 50% en los microcarcinomas papilares al 65,9% en los carcinomas papilares y llegando al 90% en las metástasis de carcinoma papilar (Tabla 24).

Por otro lado, en el espectro de las lesiones foliculares los resultados no mostraron una variación significativa obteniéndose porcentajes similares, que osciló entre el 64,2% en los adenomas foliculares al 56,7% en los carcinomas foliculares, sin mostrar diferencias estadísticamente significativas (Tabla 23) (Tabla 24).

La sensibilidad obtenida por la ciclina D1 en el diagnóstico diferencial entre lesiones benignas y malignas fue del 60,7% con una especificidad del 75,4% alcanzando la eficiencia diagnóstica el 71,9%. El VPP fue del 42,8% y el VPN del 86,3% (Tabla 80).

En el caso del diagnóstico diferencial entre carcinoma papilar y tejido normal la Ciclina D1 mostró una sensibilidad de 63,1%, una especificidad del 93,7%; con un VPP y VPN de 98,1% y 32,6% respectivamente. La eficiencia diagnóstica fue de 68,05 (Tabla 88).

Resultados.

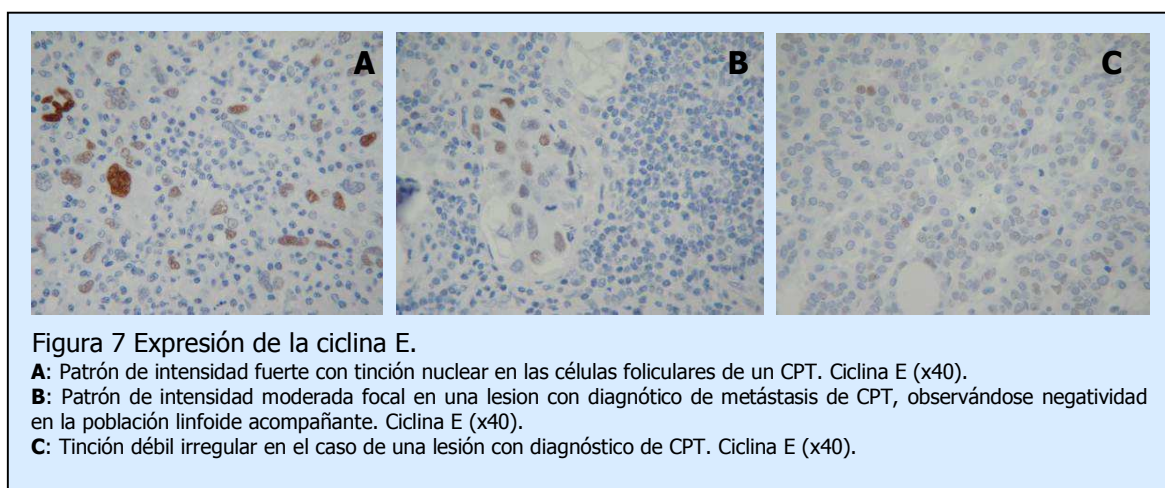
Expresión de Ciclina D1	≤2	3	4	5	6	p	$\chi^2$
<b>Microcarcinoma papilar (n=30)</b>	15 (50%)	10	3	2	0	0,063	9,268
<b>Carcinoma papilar (n=44)</b>	15 (34,1%)	5	4	13	7		
<b>Metástasis de CPT (n=10)</b>	1 (10%)	0	4	1	4		
<b>Carcinoma folicular (n=30)</b>	13 (43,3%)	8	4	3	2		
<b>Carcinoma medular (n=4)</b>	1 (25%)	0	1	0	2		
<b>Carc. anaplásico (n=2)</b>	2 (100%)	0	0	0	0		
<b>C. Pobremente Diferenc. (n=2)</b>	1 (50%)	0	0	0	1		
			15 (50%)	29 (65,9%)	9 (90%)		
			17 (56,7%)	3 (75%)	0 (0%)		
			0 (0%)	1 (50%)			

Tabla 24. Valoración de la ciclina D1 en el grupo de patología maligna

#### 4.3.1.2.2 Ciclina E

La valoración de este marcador mostró en las células foliculares tiroideas una tinción nuclear en todos los casos estudiados sin evidencia de tinción citoplasmática en ninguno de los casos representados en la presente serie. Asimismo, tampoco se observó en la población linfocitaria acompañante ni en el estroma fibrovascular elementos celulares con tinción positiva.

El patrón de puntuación fue aplicado según lo establecido en el apartado 3.2.4 (Tabla 6).



El examen inmunohistoquímico fue posible en 515 casos, representando el 91,4% del total, obteniéndose una puntuación igual o superior a 3 en 12 casos (2,3%).

En la valoración inmunohistoquímica de la ciclina E se obtuvo una puntuación semicuantitativa mayor a 2 en el 0,8% de las lesiones benignas y del 7,6% en el caso de las lesiones malignas ( $\chi^2=18,6214$ ;  $p=1,5941e-05$ :  **$p<0,001$** ).

<b>Ciclina E</b>	Positivo	Negativo	p	$\chi^2$
Patología benigna	0,8% (3)	<b>99,2%</b> (393)	<b>1,594e-05</b>	<b>18,621</b>
Patología maligna	7,6% (9)	<b>92,4%</b> (110)		

Tabla 25 Valoración de la ciclina E. Puntuación semicuantitativa >2.

## Resultados.

Dentro del apartado de las lesiones benignas resultó ampliamente mayoritaria la ausencia de expresión de la ciclina E, tanto en el tejido tiroideo normal (0%), como en el resto de casos que integran los otros subgrupos (hiperplasia coloide nodular, tiroiditis, Graves-Basedow), todos con ausencia de expresión (Tabla 26).

Expresión de Cyclina E	≤2	3	4	5	6	p	$\chi^2$
<b>HCN (n=244)</b>	244 (100%)	0	0	0	0	<b>8,4e-15</b>	<b>19,563</b>
<b>Tiroiditis (n=32)</b>	32 (100%)	0	0	0	0		
<b>Graves-Basedow (n=51)</b>	51 (100%)	0	0	0	0		
<b>Adenoma folicular (n=53)</b>	50 (94,3%)	1	2	0	0		
<b>Tiroides normal (n=15)</b>	15 (100%)	0	0	0	0		

Tabla 26. Valoración de la ciclina E en el grupo de patología benigna

En el apartado de lesiones malignas se observó que las lesiones papilares mostraron una escasa expresión de la ciclina E, sin objetivarse dentro de los casos de microcarcinomas papilares (0%) o de forma muy reducida en los casos de carcinoma papilar (7,3%); el porcentaje fue más alto en las metástasis de carcinomas papilares (30%).

Las lesiones foliculares presentaron una expresión igualmente baja, observándose en el 5,7% de los adenomas foliculares y en el 3,3% en los carcinomas foliculares (Tabla 26) (Tabla 27).

En el diagnóstico diferencial entre lesiones benignas y lesiones malignas se observó que esta técnica inmunohistoquímica alcanzó una sensibilidad muy reducida (7,6%) con una alta especificidad (99,2%) así como un VPP y un VPN elevados (75,0% y 78,1%). La eficiencia diagnóstica fue del 78,1% (Tabla 80).



Análisis mediante micromatrices de tejido de marcadores inmunohistoquímicos de utilidad en el diagnóstico diferencial del carcinoma diferenciado de tiroides

Expresión de Ciclina E	≤2	3	4	5	6	p	χ <sup>2</sup>
<b>Microcarcinoma papilar (n=30)</b>	30 (100%)	0	0	0	0	<b>4,9e-04</b>	<b>35,362</b>
<b>Carcinoma papilar (n=41)</b>	38 (92,7%)	2	1	0	0		
<b>Metástasis de CPT (n=10)</b>	7 (70%)	1	1	1	0		
<b>Carcinoma folicular (n=30)</b>	29 (96,7%)	1	0	0	0		
<b>Carcinoma medular (n=4)</b>	4 (100%)	0	0	0	0		
<b>Carc. anaplásico (n=2)</b>	0 (0%)	0	1	0	1		
<b>C. Pobremente Diferenc. (n=2)</b>	2 (100%)	0	0	0	0		
			0 (0%)				

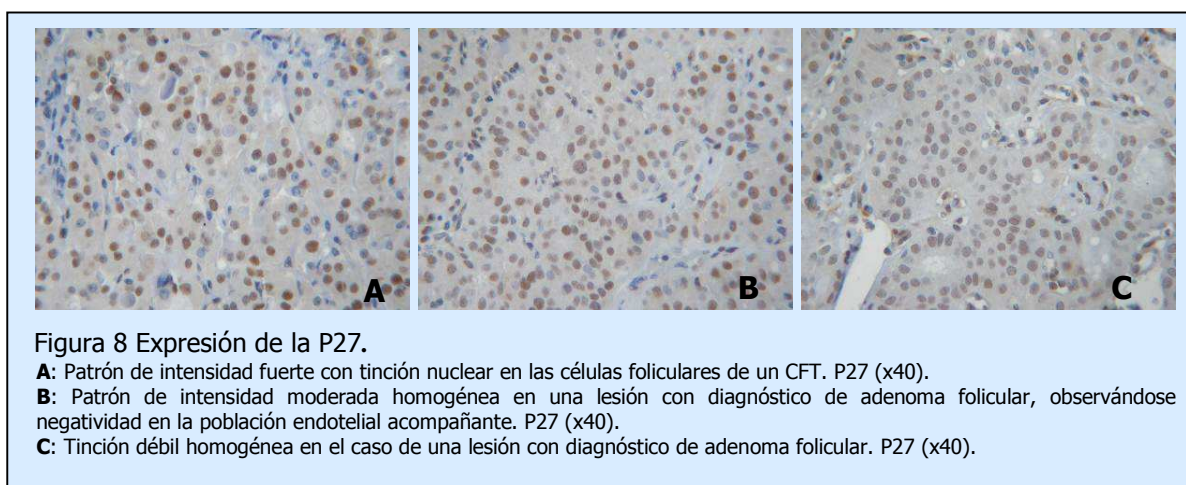
Tabla 27. Valoración de la ciclina E en el grupo de patología maligna

## Resultados.

### 4.3.1.2.3 P27

En el examen inmunohistoquímico de este marcador se constató una tinción nuclear, sin evidencia de tinción citoplásmica, asimismo se tampoco se observó tinción nuclear en las células endoteliales representadas en los casos incluidos en esta serie.

Para la valoración semicuantitativa se aplicó la escala reflejada en la Tabla 6 (apartado 3.2.4) según los criterios aportados por otros autores (Saiz *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2010).



La valoración del estudio inmunohistoquímico fue posible en 521 casos, representando el 97,6% del total con una puntuación igual o superior a 3 en 186 casos (35,7%).

Se obtuvo una puntuación semicuantitativa superior a 2 en el 36,8% de los casos de patología benigna, frente al 32,2% de los casos de patología maligna ( $\chi^2=0,8263$ ;  $p=0,363$ ) (Tabla 28).

<b>P27</b>	Positivo	Negativo	p	$\chi^2$
Patología benigna	36,8% (147)	<b>63,2%</b> (253)	0,363	0,826
Patología maligna	32,2% (39)	<b>67,8%</b> (82)		

Tabla 28 Valoración de la P27. Puntuación semicuantitativa >2.

Una vez se segmentados los datos dentro de cada grupo se observó en el caso de los incluidos en el apartado de lesiones benignas una expresión reducida, oscilando entre el 31,4% de los casos incluidos en el subgrupo de hiperplasia nodular, al 46,9% en el grupo de tiroiditis crónica linfocitaria, encontrándose en un rango intermedio las muestras de tejido tiroideo normal, con una frecuencia de casos con una puntuación superior a 2 en el 37,5% de los casos (Tabla 29).

Expresión de P27	≤2	3	4	5	6	p	$\chi^2$
<b>HCN (n=248)</b>	170 (68,6%)	48	19	8	3	0,078	8,415
<b>Tiroiditis (n=32)</b>	17 (53,1%)	9	4	2	0		
<b>Graves-Basedow (n=51)</b>	28 (54,9%)	8	8	4	3		
<b>Adenoma folicular (n=53)</b>	28 (52,8%)	11	6	7	1		
<b>Tiroides normal (n=16)</b>	10 (62,5%)	3	2	1	0		
			78 (31,4%)	15 (46,9%)	23 (45,1%)		
			25 (47,2%)	6 (37,5%)			

Tabla 29. Valoración de la P27 en el grupo de patología benigna

En el segundo apartado, lesiones malignas, mostró en el conjunto de las lesiones papilares una puntuación semicuantitativa superior a 2 similar entre el carcinoma papilar y los casos de microcarcinoma papilar (25% frente al 33,4% respectivamente), con un incremento para los casos de metástasis de carcinoma papilar (50%) (Tabla 30).

El grupo de las lesiones foliculares presentó de la misma manera un rango de expresión similar entre los diferentes integrantes del mismo (41,4% del carcinoma folicular y 47,2% en los adenomas foliculares) (Tabla 29) (Tabla 30).

Tanto los carcinomas medulares como los anaplásicos incluidos en la muestra manifestaron una muy escasa expresión inmunohistoquímica de la P27 (Tabla 30).

La aplicación de la P27 en el diagnóstico diferencial entre las lesiones benignas y las malignas ofreció una sensibilidad del 67,8% y una especificidad del 36,7%; el VPP fue del 24,5% y el VPN del 79%, con una baja eficiencia diagnóstica (44,0%) (Tabla 80).

Resultados.

Expresión de P27	≤2	3	4	5	6	p	χ <sup>2</sup>
<b>Microcarcinoma papilar (n=30)</b>	20 (66,6%)	3	3	2	2	0,500	5,625
<b>Carcinoma papilar (n=44)</b>	33 (75%)	6	10 (33,4%)	3	0		
<b>Metástasis de CPT (n=10)</b>	5 (50%)	2	2	1	0		
<b>Carcinoma folicular (n=29)</b>	17 (58,6%)	1	5	1	5		
<b>Carcinoma medular (n=4)</b>	3 (75%)	1	0	0	0		
<b>Carc. anaplásico (n=2)</b>	2 (100%)	0	0	0	0		
<b>C. Pobremente Diferenc. (n=2)</b>	2 (100%)	0	0	0	0		
			0 (0%)				

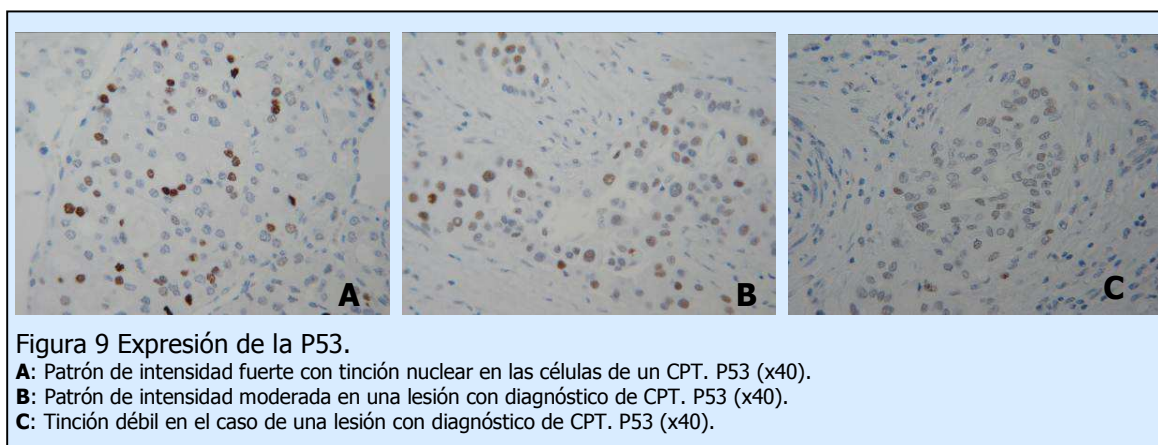
Tabla 30. Valoración de la P27 en el grupo de patología maligna

## 4.3.2 Proteínas supresoras o de comportamiento supresor

### 4.3.2.1 P53

La expresión de este marcador, en los casos positivos, fue siempre exclusivamente nuclear; además de en células tumorales se observó positividad para P53 en ocasionales células linfoides.

El sistema de puntuación fue aplicado según los criterios recogidos por otros autores previamente, tal como se refleja en el apartado 3.2.4 (Tabla 6) (Morita *et al.*, 2008).



Del total de casos incluidos, se obtuvo un patrón inmunohistoquímico valorable en 513 casos, representando al 96,1% del total, observándose una puntuación igual o superior a 2 en el 14% (75 casos valorables).

Tras la determinación inmunohistoquímica del anticuerpo frente a la P53 y su posterior valoración semicuantitativa, se obtuvo una puntuación superior a 2 en el 10,7% de las lesiones benignas, frente al 27,7% de las lesiones malignas ( $\chi^2=21,3379$ ;  $p=3,8503e-06$ :  **$p<0,001$** ) (Tabla 29).

Resultados.

<b>P53</b>	Positivo	Negativo	p	$\chi^2$
Patología benigna	10,7% (42)	<b>89,3%</b> (352)	<b>3,8503e-06</b>	<b>21,337</b>
Patología maligna	27,7% (33)	<b>72,3%</b> (86)		

Tabla 31 Valoración de la P53. Puntuación semicuantitativa >2.

La distribución de la expresión del anticuerpo frente a la P53, una vez diferenciados los grupos, mostró dentro del grupo de lesiones benignas una expresión que osciló entre el 15,6% en las lesiones clasificadas como tiroiditis al 7,7% en el subgrupo de lesiones etiquetadas de hiperplasia coloide nodular, reduciéndose al 4,1% para las muestras con diagnóstico de Graves-Basedow (Tabla 32).

En el grupo de muestras de tejido tiroideo normal, incluido en este estudio, no se observó expresión de este marcador en ninguno de los 15 casos.

<b>Expresión de P53</b>	$\leq 2$	3	4	5	6	p	$\chi^2$
<b>HCN (n=246)</b>	227 (92,3%)	13	6	0	0	<b>7,287e-06</b>	<b>29,152</b>
<b>Tiroiditis (n=32)</b>	27 (84,4%)	2	3	0	0		
<b>Graves-Basedow (n=49)</b>	47 (95,9%)	2	0	0	0		
<b>Adenoma folicular (n=52)</b>	36 (69,2%)	9	5	2	0		
<b>Tiroides normal (n=15)</b>	15 (100%)	0	0	0	0		

Tabla 32. Valoración del P53 en el grupo de patología benigna

En el segundo apartado integrado por lesiones malignas se apreció dentro del subgrupo de lesiones papilares una expresión directamente relacionada con el diagnóstico, partiendo del 13,3% en los microcarcinomas papilares de tiroides, al 19% en los carcinomas papilares y llegando al 70% en los casos de metástasis de carcinomas papilares (Tabla 31).

Dentro de las lesiones foliculares se advirtió expresión de P53 en el 30,8% de los adenomas y el 41,4% en los carcinomas (Tabla 32 y 33).

Expresión de P53	≤2	3	4	5	6	p	$\chi^2$
<b>Microcarcinoma papilar (n=30)</b>	26 (86,7%)	4	0	0	0	<b>0,004</b>	<b>17,571</b>
<b>Carcinoma papilar (n=42)</b>	34 (81%)	4	4 (13,3%)	1	0		
<b>Metástasis de CPT (n=10)</b>	3 (30%)	5	8 (19%)	2	0		
<b>Carcinoma folicular (n=29)</b>	17 (58,6%)	4	7 (70%)	2	0		
<b>Carcinoma medular (n=4)</b>	3 (75%)	1	12 (41,4%)	0	0		
<b>Carc. anaplásico (n=2)</b>	2 (100%)	0	1 (25%)	0	0		
<b>C. Pobremente Diferenc. (n=2)</b>	1(50%)	1	0 (0%)	0	0		
			1 (50%)				

Tabla 33. Valoración de P53 en el grupo de patología maligna

Tanto los carcinomas anaplásicos como los carcinomas medulares incluidos en el estudio tuvieron una baja puntuación semicuantitativa como se observa en la tabla 33.

La sensibilidad mostrada por este test en el diagnóstico diferencial entre las lesiones benignas y malignas fue del 27,7% con una especificidad del 89,3% y una eficiencia diagnóstica del 75,1%. Asimismo, se constató un VPP del 44,0% y un VPN del 90,4% (Tabla 80). En el caso del diagnóstico diferencial entre las lesiones malignas foliculares y el tejido tiroideo normal se obtuvo una sensibilidad del 41,4%, una especificidad del 100%; el VPP alcanzó el 100%, con un VPN del 46,9%. La eficiencia diagnóstica fue del 61,4% (Tabla 91).

Resultados.

4.3.2.2 p63

En el estudio de este marcador se constató una tinción nuclear en todos los casos valorados, sin objetivarse en ninguno de los casos incluidos en la serie expresión citoplasmática.

La técnica fue considerada según la valoración aportada por otros autores previamente como queda reflejado en el apartado 3.2.4 (Tabla 6) (Burstein *et al.*, 2004).

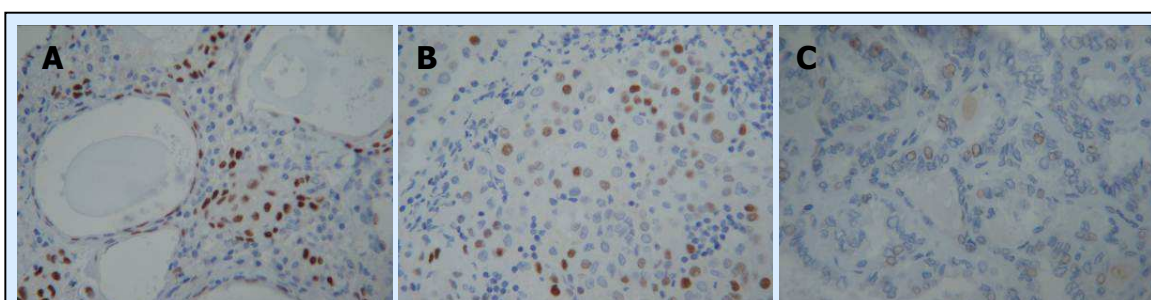


Figura 10 Expresión de la p63.

- A:** Patrón de intensidad fuerte con tinción nuclear en las células foliculares de un CPT. p63 (x40).
- B:** Patrón de intensidad moderada focal en una lesión con diagnóstico de metástasis de CPT. p63 (x40).
- C:** Tinción débil en el caso de una lesión con diagnóstico de CPT. p63 (x40).

La valoración de la expresión inmunohistoquímica fue posible en 517 casos (96,8% del total) obteniéndose una puntuación semicuantitativa igual o superior a 3 en el 2,5% (13 casos), de éstos 3 correspondieron a casos de patología benigna (0,8%) y los 10 restantes a casos de patología maligna (8,3%) ( $\chi^2=21,5853$ ;  $p=3,3842e-06$ :  **$p<0,001$** ).

<b>p63</b>	Positivo	Negativo	p	$\chi^2$
Patología benigna	0,8% (3)	<b>99,2%</b> (394)	<b>3,384e-06</b>	<b>21,585</b>
Patología maligna	8,3% (10)	<b>91,7%</b> (110)		

Tabla 34 Valoración de la p63. Puntuación semicuantitativa >2.

En el análisis fraccionado de los grupos se apreció en el primero de ellos, correspondiente al grupo de Patología benigna, una expresión uniformemente negativa en todos los subapartados con tres casos esporádicos positivos, sin alcanzar una puntuación



semicuantitativa superior a 4 en ninguno de ellos, correspondientes a un caso de HCN, otro de tiroiditis y de adenoma folicular (Tabla 35).

Expresión de p63	≤2	3	4	5	6	p	χ <sup>2</sup>
<b>HCN (n=244)</b>	243 (99,6%)	1	0	0	0	0,535	4,206
<b>Tiroiditis (n=32)</b>	31 (96,9%)	0	1 (0,4%)	0	0		
<b>Graves-Basedow (n=52)</b>	52 (100%)	0	1 (3,1%)	0	0		
<b>Adenoma folicular (n=53)</b>	52 (98,1%)	1	0 (0%)	0	0		
<b>Tiroides normal (n=16)</b>	16 (100%)	0	1 (1,9%)	0	0		

Tabla 35. Valoración de la p63 en el grupo de patología benigna *Valor p calculado según test de Fisher*

En el siguiente apartado, correspondiente al subgrupo de lesiones neoplásicas malignas, se obtuvo una valoración semicuantitativa superior a 2 en el 8,3% de los casos (Tabla 36), destacando que la positividad correspondía a los carcinomas papilares, con un aumento del porcentaje de casos en directa relación con el peor pronóstico de éstos, ascendiendo desde el 3,3% en el caso de los microcarcinomas papilares al 14,6% de los carcinomas papilares y llegando al 30% de los casos de las metástasis del CPT (Tabla 36).

En el grupo de las lesiones foliculares no se observó positividad significativa en ninguno de éstos, a excepción de un caso perteneciente al grupo de los adenomas foliculares con una puntuación semicuantitativa de 3 (Tabla 35).

Igualmente, en ninguno de los casos de los carcinomas anaplásicos, así como en ninguno de los carcinomas medulares se obtuvo una puntuación semicuantitativa superior a 2.

La sensibilidad observada tras la aplicación de esta técnica inmunohistoquímica en el diagnóstico diferencial entre lesiones benignas y lesiones malignas fue muy reducida (8,3%), con una especificidad de 99,2%, y un VPP así como un VPN de 76,9% y 78,2% respectivamente. La eficiencia diagnóstica fue del 78,1% (Tabla 80).

Resultados.

Expresión de p63	≤2	3	4	5	6	p	$\chi^2$
<b>Microcarcinoma papilar (n=30)</b>	29 (96,7%)	0	1 (3,3%)	0	0	<b>0,034</b>	<b>12,530</b>
<b>Carcinoma papilar (n=41)</b>	35 (85,4%)	6	6 (14,6%)	0	0		
<b>Metástasis de CPT (n=10)</b>	7 (70%)	1	3 (30%)	0	0		
<b>Carcinoma folicular (n=30)</b>	30 (100%)	0	0 (0%)	0	0		
<b>Carcinoma medular (n=4)</b>	4 (100%)	0	0 (0%)	0	0		
<b>Carc. anaplásico (n=2)</b>	2 (100%)	0	0 (0%)	0	0		
<b>C. Pobremente Diferenc. (n=2)</b>	2 (100%)	0	0 (0%)	0	0		

Tabla 36. Valoración de la p63 en el grupo de patología maligna *Valor p calculado según test de Fisher*

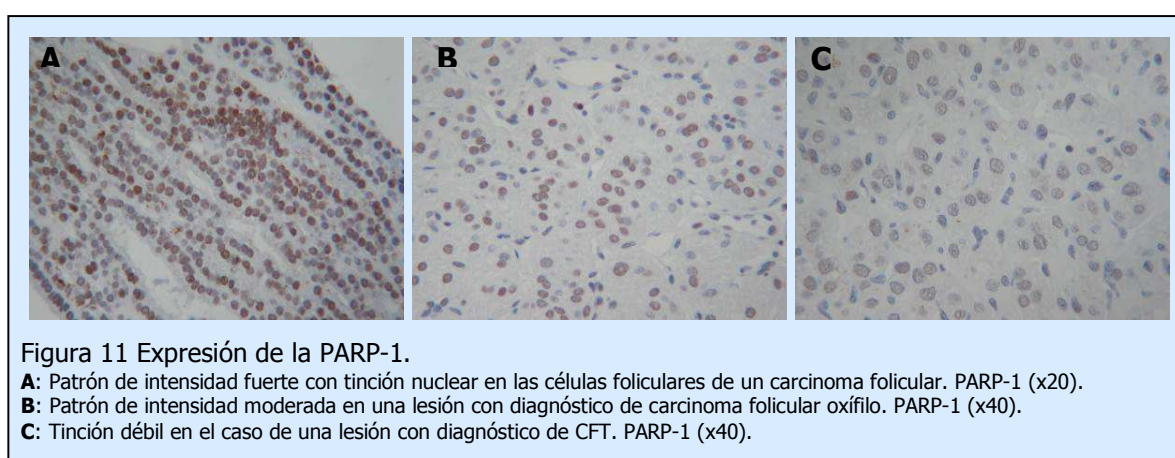
En el diagnóstico diferencial entre el tejido tiroideo normal y los carcinomas papilares la p63 mostró una sensibilidad muy baja, del 12,3%, con una alta especificidad y VPP (100%) observándose un VPN de 18,4%. La eficiencia diagnóstica del test fue del 26,8% (Tabla 88).

### 4.3.3. Proteínas reparadoras del ADN

#### 4.3.3.1 PARP-1

En la valoración de este marcador se observó una expresión nuclear limpia con discreto refuerzo en la membrana nuclear en las células foliculares sin apreciarse tinción ni en las células linfoides acompañantes ni en las endoteliales de los capilares presentes en las lesiones incluidas en el estudio.

El patrón aplicado en la valoración de esta técnica fue el señalado en el apartado 3.2.4 (Tabla 6).



La valoración de la expresión inmunohistoquímica fue posible en 513 casos (96,1% del total) obteniéndose una puntuación semicuantitativa igual o superior a 3 en el 13,9% (74 casos). La valoración semicuantitativa de la expresión inmunohistoquímica de la PARP-1 reveló una puntuación superior a 2 en el 12,7% de las lesiones benignas, frente a un 20% de las lesiones malignas ( $\chi^2=3,9440$ ; **p=0.04703**).

PARP-1	Positivo	Negativo	p	$\chi^2$
Patología benigna	12,7% (50)	<b>87,3%</b> (343)	<b>0,047</b>	<b>3,9440</b>
Patología maligna	20% (24)	<b>80%</b> (96)		

Tabla 37 Valoración de la PARP-1. Puntuación semicuantitativa >2.

## Resultados.

En el análisis pormenorizado de los grupos se apreció en el primero de ellos (patología benigna) una expresión baja tanto en las tiroiditis (3,1%) como en las muestras con diagnóstico de Graves-Basedow (8,3%) y en el caso de las hiperplasias coloides nodulares (11,8%) (Tabla 38).

Expresión de PARP-1	≤2	3	4	5	6	p	χ <sup>2</sup>
<b>HCN (n=246)</b>	217 (88,2%)	16	11	2	0	<b>0,011</b>	<b>13,129</b>
<b>Tiroiditis (n=32)</b>	31 (96,9%)	1	0	0	0		
<b>Graves-Basedow (n=48)</b>	44 (91,7%)	3	1	0	0		
<b>Adenoma folicular (n=52)</b>	38 (73%)	8	5	1	0		
<b>Tiroides normal (n=15)</b>	13 (86,7%)	2	0	0	0		
			29 (11,8%)	1 (3,1%)	4 (8,3%)		
			14 (27%)	2 (13,3%)			

Tabla 38. Valoración de la PARP-1 en el grupo de patología benigna

En el subgrupo de tejido tiroideo normal se observó una valoración semicuantitativa superior a 2 en el 13,3% de los casos, mayor que el resto de los integrantes de este grupo, a excepción de las lesiones foliculares, que se analizarán en el siguiente apartado. Este aumento relativo fue a expensas de una puntuación débil concentrándose el resultado de los dos casos en 3 puntos.

En el segundo grupo constituido por patología maligna se observó en las lesiones papilares una expresión dual, mostrando una mayor expresión tanto en las lesiones de comportamiento benigno (20% de los miCPT), como en aquellas más agresivas (20% en las MCPT); siendo redicida en los CPT (7,1%) (Tabla 39).

Dentro del apartado de las lesiones foliculares se constató una expresión superior al 20% en todos los casos, con un rango que osciló entre el 27% de los adenomas foliculares (Tabla 38) al 40% de los carcinomas foliculares (Tabla 39).

En el caso de los carcinomas medulares se observó positividad en uno de los cuatro casos; ninguno de los carcinomas anaplásicos fue positivo para PARP-1.

Expresión de PARP-1	≤2	3	4	5	6	p	χ <sup>2</sup>
<b>Microcarcinoma papilar (n=30)</b>	24(80%)	6	0	0	0	<b>0,006</b>	<b>12,902</b>
<b>Carcinoma papilar (n=42)</b>	39 (92,9%)	2	6 (20%)	1	0		
<b>Metástasis de CPT (n=10)</b>	8 (80%)	2	3 (7,1%)	0	0		
<b>Carcinoma folicular (n=30)</b>	18 (60%)	3	0	0	0		
<b>Carcinoma medular (n=4)</b>	3 (75%)	1	12 (40%)	0	0		
<b>Carcinoma anaplásico (n=2)</b>	2 (100%)	0	1 (25%)	0	0		
<b>C. Pobremente Diferenc. (n=2)</b>	2 (100%)	0	0 (0%)	0	0		
		0	0 (0%)	0	0		

Tabla 39. Valoración de la PARP-1 en el grupo de patología maligna

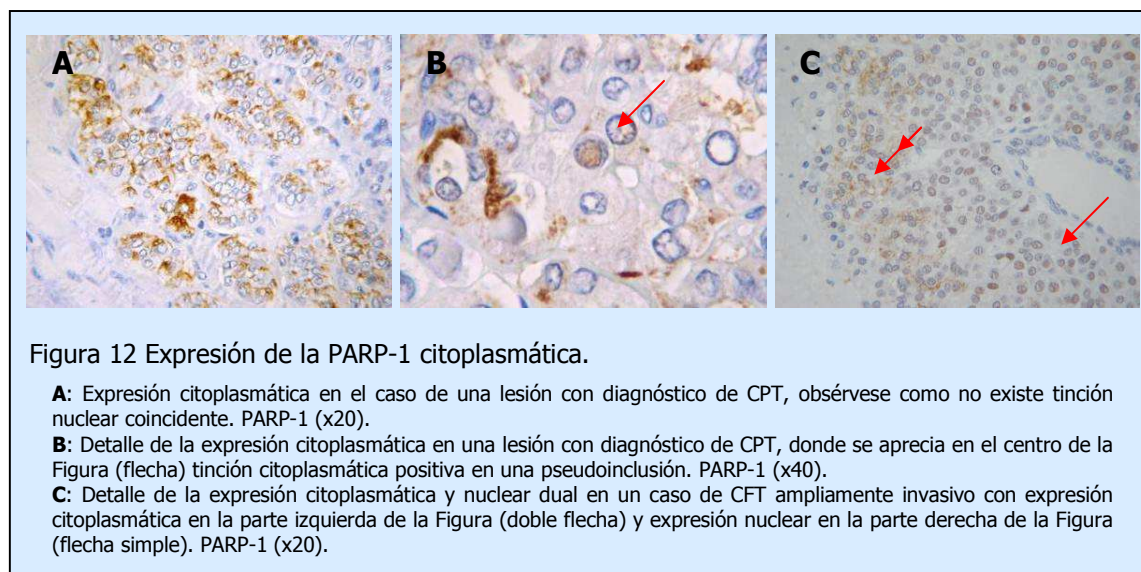
La sensibilidad de la PARP-1 en el diagnóstico diferencial entre el grupo de lesiones malignas y de lesiones benignas fue baja (20,0%), mostrando una especificidad del 87,3% y una eficiencia diagnóstica del 71,5%, así como un VPN del 78,1%; el VPP mostró igualmente un valor bajo con un 32,4% (Tabla 80).

#### 4.3.3.2. PARP-1 citoplasmática

Debido a que en algunos casos durante la evaluación de la tinción nuclear se observó una expresión citoplasmática se decidió valorar de forma independiente este suceso. La positividad en el citoplasma se observó a veces en lesiones que presentaban también tinción nuclear, pero nunca ambas tinciones se observaron de forma simultánea en una célula (Figura 12C).

Por tanto, se realizó una segunda valoración de la expresión de la PARP-1, esta vez atendiendo a su localización citoplasmática para lo cual se siguió el esquema aportado por otros autores previamente recogido en la Tabla 6 del apartado 3.2.4 (von Minckwitz *et al.*, 2011). Para la catalogación de una tinción como citoplasmática, esta debía ser homogénea, sin valorar en este caso la intensidad cromática, atendiendo exclusivamente a la presencia o no de tinción (Figura 12).

## Resultados.



Del total de casos recogidos en los bloques de TMA se pudieron examinar 513 discos, representando el 96,1% del total, de los que 31 de ellos mostraron un resultado positivo (6,1%) frente a los 482 restantes que carecieron de expresión citoplasmática (93,9%) ( $\chi^2=26,4446$ ;  $p=2,71203-07$ :  **$p<0,001$** ).

<b>PARP-1c</b>	Positivo	Negativo	p	$\chi^2$
Patología benigna	3,1% (12)	<b>96,9%</b> (381)	<b>2,712e-07</b>	<b>26,444</b>
Patología maligna	15,8% (19)	<b>84,2%</b> (101)		

Tabla 40 Valoración citoplasmática de la PARP-1.

En la valoración de las lesiones benignas se obtuvo un rango de expresión positiva del 0% al 3,1%. En el caso del tejido tiroideo normal se apreció tinción citoplasmática en un único caso y de forma focal (Tabla 41).

En el segundo apartado correspondiente a las lesiones malignas el rango de expresión citoplasmática de este marcador en el carcinoma diferenciado de tiroides fue del 10% al 20%, observándose en los casos con diagnóstico de lesión papilar una frecuencia ascendente en relación con la severidad del diagnóstico pasando del 10% (n=3) en los

miCPT al 19% (n=8) en los CPT y llegando al 20% en las metástasis de CPT (n=2) (Tabla 42).

Expresión de PARP-1c	Tinción negativa	Tinción positiva	p	$\chi^2$
<b>HCN (n=244)</b>	241 (98%)	5 (2%)	<b>0,020</b>	<b>15,498</b>
<b>Tiroiditis (n=32)</b>	31 (96,9%)	1 (3,1%)		
<b>Graves-Basedow (n=47)</b>	47 (100%)	0 (0%)		
<b>Adenoma folicular (n=52)</b>	46 (88,5%)	6 (11,5%)		
<b>Tiroides normal (n=16)</b>	15 (93,8%)	1 (6,2%)		

Tabla 41. Valoración citoplasmático de la PARP-1 en el grupo de patología benigna

Analizando las diferentes variantes del carcinoma papilar se apreció una frecuencia similar entre éstas, con un rango desde el 22,3% en el CPTc al 20% en los CPTvf, disminuyendo al 12,5% en el CPTvca (Tabla 81).

Asimismo, atendiendo al estadio clínico y la tinción citoplasmática de este marcador se observó una expresión similar, oscilando del 12,8% (5/39) en los casos con estadio pT1 al 16,7% (1/6) en los clasificados como pT2 y al 23,8% (5/21) en el pT3, con ausencia de expresión en aquellos encuadrados dentro de la categoría pT4 (0/6).

Expresión de PARP-1c	Tinción negativa	Tinción positiva	p	$\chi^2$
<b>Microcarcinoma papilar (n=30)</b>	27 (90%)	3 (10%)	<b>0,367</b>	<b>5,744</b>
<b>Carcinoma papilar (n=42)</b>	34 (81%)	8 (19%)		
<b>Metástasis de CPT (n=10)</b>	8 (80%)	2 (20%)		
<b>Carcinoma folicular (n=30)</b>	27 (90%)	3 (10%)		
<b>Carcinoma medular (n=4)</b>	3 (75%)	1 (25%)		
<b>Carcinoma anaplásico (n=2)</b>	1 (50%)	1 (50%)		
<b>C. Pobrementemente Diferenc. (n=2)</b>	1 (50%)	1 (50%)		

Tabla 42. Valoración citoplasmática de PARP-1 en el grupo de patología maligna

Por otro lado, en el caso de las lesiones foliculares el rango de expresión con un patrón citoplasmático fue bajo, observándose en el 10% de los casos con diagnóstico de CFT, ascendiendo discretamente al 11,5% en los adenomas foliculares.

## Resultados.

En la valoración de los criterios pronósticos incluidos en esta serie se apreció un ligero incremento en los casos ampliamente invasivos frente a los mínimamente invasivos (16,7% frente al 5,3%), sin alcanzar significación estadística ( $\chi^2= 1,06$   $p=0,589$ ) (Tabla 89).

En el caso de los carcinomas medulares se observó una expresión similar a la observada en el punto anterior atendiendo al patrón nuclear. En el caso de las lesiones incluidas con diagnóstico de carcinoma anaplásico se constató expresión citoplasmática para la PARP en uno de los dos casos de esta serie.

La sensibilidad de la PARP1-c en el diagnóstico diferencial entre lesiones neoplásicas malignas y benignas fue baja (15,8%), mostrando una especificidad del 96,9% y una eficiencia diagnóstica del 78,0%. El VPN y el VPV observado fue del 61,3% y del 79,0%, respectivamente (Tabla 80).



#### 4.3.4. Moléculas relacionadas con el metabolismo, adhesividad y proliferación celular.

##### 4.3.4.1 Enzimas

##### 4.3.4.1.1. Tiroperoxidasa (TPO 47)

El patrón de tinción observado en las células foliculares mostró una disposición citoplasmática homogénea, ocasionalmente granular, sin tinción nuclear y más infrecuentemente con refuerzo apical.

La expresión de la TPO fue considerada según los criterios aportados por otros autores previamente, como queda reflejado en el apartado 3.2.4 (Tabla 6) (Yousaf *et al.*, 2008; Christensen *et al.*, 2000).

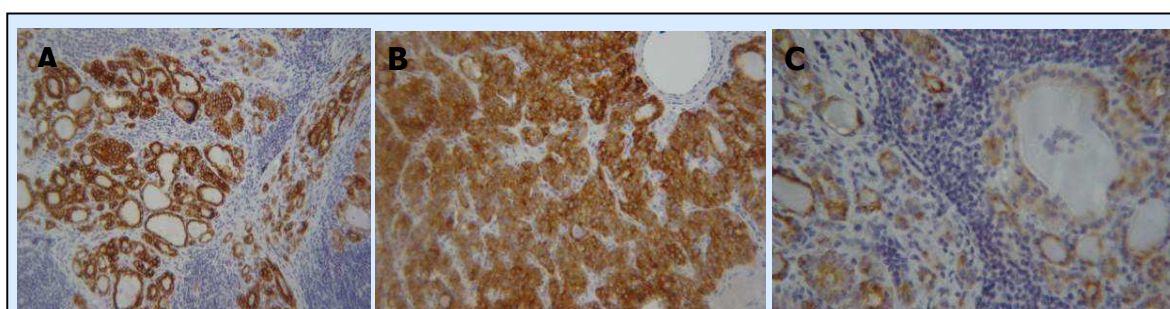


Figura 13 Expresión de la TPO 47.

**A:** Patrón con intensidad fuerte en las células foliculares de una lesión con diagnóstico de tiroiditis, donde se aprecia la negatividad en los linfocitos presentes. TPO47 (x20).

**B:** Patrón con intensidad fuerte en una lesión con el diagnóstico de CPT donde se aprecia una tinción homogénea citoplasmática con negatividad en los linfocitos acompañantes así como en el espacio vascular (esquina superior derecha) TPO 47 (x40).

**C:** Patrón con intensidad mayoritariamente leve con áreas moderadas (margen izquierdo de la Figura) con ausencia de expresión inmunohistoquímica en el extenso infiltrado linfocitario TPO47 (x40).

La valoración de la técnica inmunohistoquímica fue posible en 520 casos (97,4% del total), obteniéndose una puntuación semicuantitativa igual o superior a 4 en el 68,5% de los casos (n=366). El hecho de situar en 4 puntos el umbral de discriminación fue teniendo en cuenta la expresión mayoritaria para este tipo de anticuerpo en el tejido tiroideo normal, por lo que definimos el punto de corte atendiendo a la necesidad de disminuir lo máximo posible el número de FP a pesar de incrementar los FN (Saggiorato *et al.*, 2005).

## Resultados.

TPO	Positivo	Negativo	p	$\chi^2$
Patología benigna	<b>80,2%</b> (304)	19,8% (78)	<b>1,248e-18</b>	<b>77,621</b>
Patología maligna	38,5% (47)	<b>61,5%</b> (75)		
Tej. tiroideo normal	<b>93,7%</b> (15)	6,3% (1)		

Tabla 43. Valoración de la TPO. Puntuación semicuantitativa >3.

El resultado obtenido tras la determinación inmunohistoquímica de la TPO mostró que el 80,2% de las lesiones benignas obtuvieron una puntuación semicuantitativa superior a 4 frente al 38,5% de los casos con diagnóstico de malignidad ( $\chi^2=77,621$ ;  $p=1,248e-18$ ;  **$p<0,001$** ).

En el examen detallado dentro del grupo de casos con diagnóstico de lesiones benignas se observó que existe una homogeneidad en cuanto al porcentaje de casos con una puntuación superior a 3, con alta expresión del mismo, oscilando del 71,9% de los casos diagnosticados como tiroiditis al 75,7% de los incluidos en el subgrupo de las hiperplasias coloides nodulares y alcanzando el 90% de los adenomas foliculares (Tabla 44).

En el caso de las muestras integrantes del grupo control (tejido tiroideo normal) se apreció expresión inmunohistoquímica en todos de ellos, aunque en uno de ellos no se alcanzó una puntuación semicuantitativa superior a 3; esta muestra correspondía a tejido tiroideo procedente de una lobectomía parcial desarrollada en el curso de una laringectomía.

Expresión de TPO	≤2	3	4	5	6	p	$\chi^2$
<b>HCN (n=249)</b>	28 60 (24,1%)	32	58	62	69	<b>0,008</b>	<b>13,730</b>
<b>Tiroiditis (n=32)</b>	4 9 (28,1%)	5	7	7	9		
<b>Graves-Basedow (n=51)</b>	0 4 (7,8%)	4	7	14	26		
<b>Adenoma folicular (n=50)</b>	3 5 (10%)	2	7	9	29		
<b>Tiroides normal (n=16)</b>	0 1 (6,2%)	1	7	4	4		

Tabla 44. Valoración de la TPO en el grupo de patología benigna

La determinación inmunohistoquímica de la TPO en las lesiones malignas mostró una expresión disminuida, que en el caso del carcinoma papilar de tiroides reveló un gradiente en relación con el diagnóstico, pasando del 56,6% de los casos de microcarcinoma papilar de tiroides con una valoración semicuantitativa superior a 3, al 36,4% en los carcinomas papilares y alcanzando sólo el 10% de los casos de carcinoma papilar metastásico (Tabla 45).

Por otro lado en el contexto de las lesiones foliculares se apreció una disminución de su expresión en función del diagnóstico: el 90% de los casos con diagnóstico de adenoma folicular presentaron una puntuación superior a 3 (Tabla 44), mientras que esta puntuación la obtuvieron sólo el 40% de los carcinomas foliculares (Tabla 45). Dentro de este grupo diagnóstico se observó una pérdida de expresión en relación con la agresividad en el comportamiento clínico, disminuyendo su expresión del 50% de los CFmi al 23,1% en los CFai (apartado 4.4.2).

Expresión de TPO	≤2	3	4	5	6	p	$\chi^2$
<b>Microcarcinoma papilar (n=30)</b>	11 13 (43,4%)	2	5	1 17 (56,6%)	11	<b>0,028</b>	<b>11,590</b>
<b>Carcinoma papilar (n=44)</b>	25 28 (63,6%)	3	3	9 16 (36,4%)	4		
<b>Metástasis de CPT (n=10)</b>	8 9 (90%)	1	0	1 1 (10%)	0		
<b>Carcinoma folicular (n=30)</b>	14 18 (60%)	4	3	4 12 (40%)	5		
<b>Carcinoma medular (n=4)</b>	4 4 (100%)	0	0	0 0 (0%)	0		
<b>Carcinoma anaplásico (n=2)</b>	2 2 (100%)	0	0	0 0 (0%)	0		
<b>C. Pobrementemente Diferenc (n=2)</b>	1 1 (50%)	0	0	0 1 (50%)	1		

Tabla 45. Valoración de la TPO en el grupo de patología maligna

En el resto de los integrantes del grupo de patología maligna se constató una pérdida de la expresión superior a la media con un porcentaje que osciló entre el 50% en el carcinoma pobremente diferenciado a la pérdida total de la expresión

## Resultados.

inmunohistoquímica tanto en el carcinoma anaplásico como en aquellos casos que integran el subgrupo diagnóstico de carcinoma medular.

La sensibilidad de este anticuerpo aplicado de forma aislada en el diagnóstico diferencial entre lesiones benignas y lesiones neoplásicas tiroideas fue del 61,5%, con una especificidad del 80,2% y un VPP del 48,7% así como un VPN del 87,2%. La eficiencia de esta técnica de forma aislada fue del 75,7% (Tabla 80).

#### 4.3.4.1.2. Ciclooxigenasa (COX-2)

La ciclooxigenasa (COX-2) mostró un patrón de tinción citoplasmático, granular, heterogéneo con refuerzo apical ocasional, sin evidenciarse en ninguno de los casos estudiados tinción nuclear. Por otro lado, se apreció de forma ocasional tinción citoplasmática en el infiltrado inflamatorio acompañante de algunos casos a expensas de las células plasmáticas.

La valoración de la expresión de la COX-2 fue considerada atendiendo a los criterios aportados por otros autores previamente, como queda reflejado en el apartado 3.2.4 (Tabla 6) (Kajita *et al.*, 2005; Liang *et al.*, 2009).

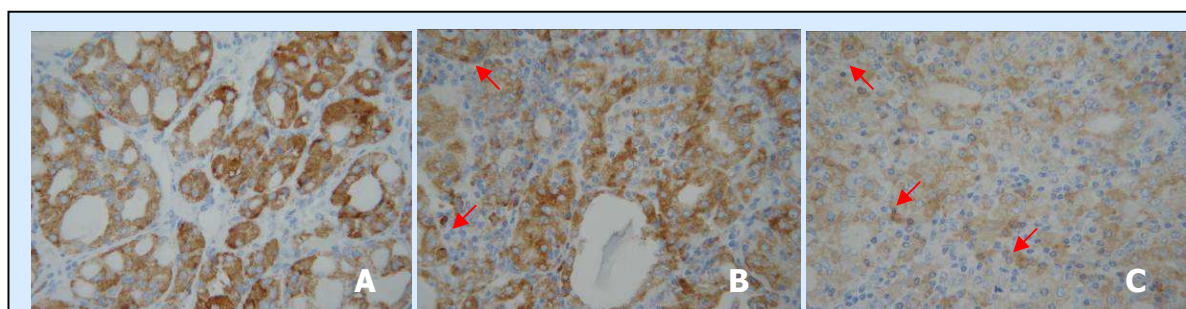


Figura 14 Expresión de la COX-2.

**A:** Patrón de intensidad fuerte con tinción citoplasmática en las células foliculares en un adenoma folicular, mostrando negatividad en las células endoteliales. COX2 (x40).

**B:** Patrón de intensidad moderada en una lesión con diagnóstico de tiroiditis, donde junto a la tinción citoplasmática de las células foliculares se aprecia positividad ocasional en el infiltrado inflamatorio (células plasmáticas) (flecha). COX2 (x20).

**C:** Tinción débil en el caso de una lesión con diagnóstico de tiroiditis, donde además de la expresión citoplasmática en las células del epitelio tiroideo se constata igualmente la expresión inmunohistoquímica en el infiltrado de células plasmáticas acompañantes (flecha) COX2 (x20).

La expresión inmunohistoquímica de la COX-2 se pudo valorar en 527 casos del total (98,7%), observándose una puntuación superior a 2 en 416 casos, de éstos el 78,6% de los casos pertenecían al grupo de lesiones benignas y el 21,4% restante a los casos de lesiones malignas, con diferencias estadísticamente significativas entre ambas ( $\chi^2=4.1777$ ; **p=0,041**) (Tabla 46).

## Resultados.

<b>COX-2</b>	Positivo	Negativo	p	$\chi^2$
Patología benigna	<b>80,9%</b> (327)	19,1% (77)	<b>0,041</b>	<b>4,1477</b>
Patología maligna	<b>72,4%</b> (89)	27,6% (34)		

Tabla 46. Valoración de la COX-2. Puntuación semicuantitativa >2.

El análisis del resultado en el grupo de las lesiones benignas, reveló una distribución de la expresión de COX-2 heterogénea, con una puntuación semicuantitativa intermedia (rango de 3 a 5). Destacó en la observación, tanto en los casos con diagnóstico de Graves-Basedow como en los incluidos dentro del subgrupo de tiroiditis linfocitaria, una puntuación superior o igual a 4 en más del 60% de los casos (Tabla 47).

<b>Expresión de COX-2</b>	$\leq 2$	3	4	5	6	p	$\chi^2$
<b>HCN (n=252)</b>	54 (21,4%)	58	78	54	8	0.080	8,349
<b>Tiroiditis (n=32)</b>	6 (18,8%)	7	14	4	1		
<b>Graves-Basedow (n=51)</b>	3 (5,9%)	6	14	16	12		
<b>Adenoma folicular (n=53)</b>	9 (17%)	7	23	11	3		
<b>Tiroides normal (n=16)</b>	5 (31,3%)	2	7	2	0		

Tabla 47. Valoración de la COX-2 en el grupo de patología benigna

La expresión de COX-2 en las lesiones malignas se distribuyó de forma heterogénea apreciándose en el carcinoma papilar en más del 60% de los casos una puntuación superior 3 sin poder identificar una pauta diferenciadora entre el carcinoma papilar y el carcinoma papilar metastásico o el microcarcinoma papilar.

En el caso de las lesiones foliculares tampoco se observó un patrón diferenciador entre su espectro morfológico, con una puntuación semicuantitativa superior a 2 en el 80% de los casos (Tabla 47 y 48).

El carcinoma medular mostró un rango similar a las lesiones previamente descritas con una puntuación media de 4 (Tabla 48).

Tanto el carcinoma anaplásico como el carcinoma pobremente diferenciado no mostraron expresión de la COX-2 en ninguno de los casos (Tabla 48).

Expresión de COX-2	≤2	3	4	5	6	p	χ <sup>2</sup>
<b>Microcarcinoma papilar (n=30)</b>	7(24,1%)	9	6	8	0	0,070	16,297
			23 (76,7%)				
<b>Carcinoma papilar (n=44)</b>	16 (36,4%)	8	15	4	1		
			28 (63,6%)				
<b>Metástasis de CPT (n=10)</b>	2 (20%)	3	4	1	0		
			8 (80%)				
<b>Carcinoma folicular (n=31)</b>	5 (16,1%)	7	12	7	0		
			26 (83,9%)				
<b>Carcinoma medular (n=4)</b>	0 (0%)	1	2	1	0		
			4 (100%)				
<b>Carcinoma anaplásico (n=2)</b>	2 (100%)	0	0	0	0		
			0 (0%)				
<b>C. Pobremente Diferenc. (n=2)</b>	2 (100%)	0	0	0	0		
			0 (0%)				

Tabla 48. Valoración de la COX-2 en el grupo de patología maligna Valor p calculado según test de Fisher

Esta técnica en el diagnóstico diferencial entre lesiones benignas frente a lesiones malignas mostró una sensibilidad del 21,4% con una especificidad del 69,4%. El VPP así como el VPN resultaron desiguales (72,4% y 19,1% respectivamente). Asimismo, la precisión diagnóstica de este anticuerpo en el diagnóstico diferencial entre lesiones benignas y malignas de forma aislada tampoco ofreció un resultado óptimo (31,5%) (Tabla 80).

#### 4.3.4.2 Moléculas relacionadas con la adhesividad celular

##### 4.3.4.2.1 Galectina-3

La expresión inmunohistoquímica de este marcador mostró una ubicación tanto citoplasmática como citoplasmática y membranosa, observándose de forma ocasional una tinción nuclear esporádica, asociada siempre a uno de los patrones previos, sin apreciarse en ninguno de los casos examinados tinción nuclear aislada. Por otro lado, la expresión de la Gal-3 estuvo limitada a las células del epitelio folicular tiroideo sin expresión en el estroma fibrovascular ni en las células inflamatorias acompañantes de alguno de los casos.

La valoración semicuantitativa fue desarrollada según los parámetros descritos en la literatura y recogidos en el apartado 3.2.4 (Tabla 6) (Franco *et al.*, 2008; Bartolazzi *et al.*, 2001) (Figura 15).

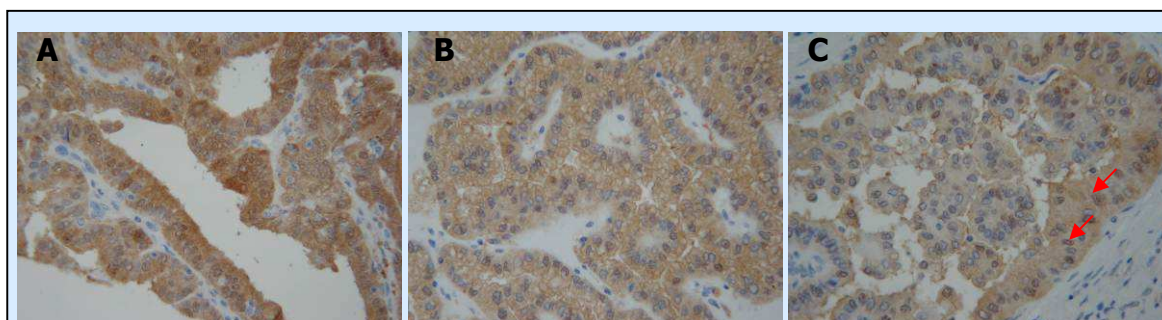


Figura 15 Expresión de la Galectina-3.

**A:** Patrón de intensidad fuerte con tinción citoplasmática en las células foliculares en el caso de un carcinoma papilar, mostrando negatividad en las células endoteliales del eje vascular. Gal-3 (x40).

**B:** Patrón de intensidad moderada en una lesión con diagnóstico de carcinoma papilar, observándose tanto tinción citoplasmática como de membrana. Gal-3 (x40).

**C:** Tinción débil en el caso de una lesión con diagnóstico de carcinoma papilar, apreciándose además de la expresión citoplasmática tinción nuclear ocasional (flecha). Gal-3 (x40).

La expresión de la Galectina-3 fue posible en 518 de los 534 casos totales (97%), obteniéndose 61 casos con una puntuación superior a 2 (14,3%) y 457 casos con una puntuación igual o inferior a 2 (85,6%).

Tras la valoración semicuantitativa de la Gal-3 se apreció que sólo el 3,8% de los casos con diagnóstico de patología benigna obtuvieron una puntuación superior a 2, mientras que en el grupo de casos con diagnóstico de patología maligna ascendieron al 37,4% ( $\chi^2=107,4376$ ;  $p=3,5696e-025$ :  **$p<0,001$** ).



<b>Galectina-3</b>	Positivo	Negativo	p	$\chi^2$
Patología benigna	3,8% (15 )	<b>96,2%</b> (384)	<b>3,569e-025</b>	<b>107,437</b>
Patología maligna	37.4% (46)	<b>62.6%</b> (77)		

Tabla 49 Valoración de la Gal-3. Puntuación semicuantitativa >2.

Fragmentando el bloque de casos con diagnóstico de benignidad, la distribución de la puntuación mostró una ausencia de tinción tanto en el subgrupo de tejido tiroideo normal como en el grupo de casos con diagnóstico de Graves-Basedow, así como de forma casi absoluta en los clasificados dentro de HCN (97,6%) (Tabla 50).

<b>Expresión de Gal-3</b>	<b>≤2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>p</b>	<b><math>\chi^2</math></b>
<b>HCN (n=247)</b>	241 (97,6%)	3	2	1	0	<b>5,9e-04</b>	<b>24,230</b>
<b>Tiroiditis (n=32)</b>	26 (81,3%)	4	2	0	0		
<b>Graves-Basedow (n=51)</b>	51 (100%)	0	0	0	0		
<b>Adenoma folicular (n=53)</b>	50 (94,3%)	1	1	1	0		
<b>Tiroides normal (n=16)</b>	16 (100%)	0	0	0	0		

Tabla 50. Valoración de la Gal-3 en el grupo de patología benigna

En el examen del segundo bloque se obtuvo, dentro de las lesiones papilares, un incremento de la frecuencia de casos con una valoración semicuantitativa superior a 2 en relación directa con la severidad del diagnóstico, pasando del 26,7% en los microcarcinomas papilares, al 58,5% en los carcinomas papilares y llegando en el caso de los carcinomas papilares metastáticos al 90% de éstos (Tabla 51).

En el grupo de las lesiones foliculares la expresión fue reducida, con un porcentaje que osciló entre el 16,7% en los carcinomas foliculares y el 5,7% en los adenomas foliculares (Tabla 50 y 51).

## Resultados.

Por otro lado, tanto en el grupo de casos con diagnóstico de carcinoma medular como en el grupo de casos de carcinoma anaplásico no se obtuvo una puntuación superior a 2 en ninguno de los casos (Tabla 49).

Expresión de Gal-3	≤2	3	4	5	6	p	χ <sup>2</sup>
<b>Microcarcinoma papilar (n=30)</b>	22 (73,3%)	0	3	3	2	<b>2,4e-05</b>	<b>30,928</b>
<b>Carcinoma papilar (n=41)</b>	17 (41,5%)	6	6	9	3		
<b>Metástasis de CPT (n=10)</b>	1 (10%)	0	3	6	0		
<b>Carcinoma folicular (n=30)</b>	25 (83,3%)	2	2	1	0		
<b>Carcinoma medular (n=5)</b>	4 (100%)	0	0	0	0		
<b>Carcinoma anaplásico (n=3)</b>	2 (100%)	0	0	0	0		
<b>C. Pobremente Diferenc. (n=2)</b>	2 (100%)	0	0	0	0		

Tabla 51. Valoración de la Gal-3 en el grupo de patología maligna Valor p calculado según test de Fisher

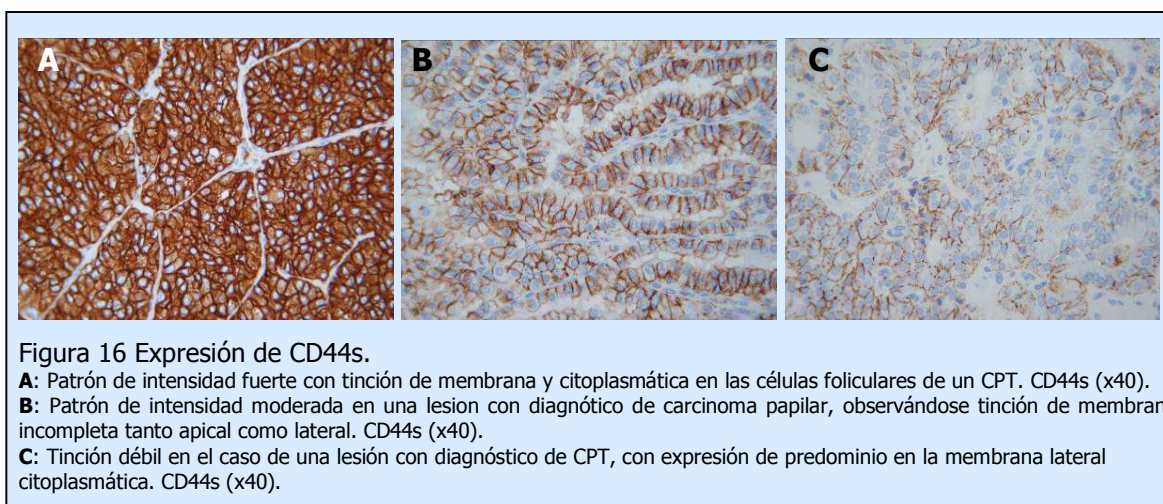
La sensibilidad observada con esta técnica inmunohistoquímica en el diagnóstico diferencial entre lesiones malignas y benignas fue baja (37,4%) alcanzando una especificidad del 96,2%. El VPP y el VPN obtenido ascendió al 75,4% y al 83,3% respectivamente; con una precisión diagnóstica del 82,4% (Tabla 80).

Por otro lado, en el diagnóstico diferencial entre carcinoma papilar y tejido normal la sensibilidad de esta técnica mejoró, alcanzando un valor del 50,6%, con una especificidad y VPP del 100%, aunque con un bajo VPN (28,6%). La precisión diagnóstica fue del 58,8% (Tabla 88).

#### 4.3.4.2.2 CD44s

La expresión inmunohistoquímica observada tras la aplicación de este marcador evidenció una tinción de membrana limpia exclusivamente en las células del epitelio folicular tiroideo, observándose en algunos casos tinción citoplasmática asociada, la cual mostró, en algunos casos de CPT, un halo perinuclear. Por otro lado no se apreció en ninguno de los casos estudiados en esta serie tinción nuclear.

En su valoración se siguieron las mismas pautas que las reflejadas por otros autores previamente (Zlobec *et al.*, 2009), tal como queda señalado en el apartado 3.2.4 (Tabla 6)



La técnica inmunohistoquímica fue valorable en 515 casos (96,4% del total) obteniéndose una puntuación semicuantitativa igual o superior a 3 en el 47,8% (n=246) de los casos.

La valoración semicuantitativa, tras la determinación inmunohistoquímica para CD44s, mostró una positividad en el grupo de patología benigna del 42% y del 66,7% en el grupo de patología maligna ( $\chi^2=22,39892$ ;  $p=2,21497-06$ :  **$p<0,001$** ).

Resultados.

CD44s	Positivo	Negativo	p	$\chi^2$
Patología benigna	42% (166)	<b>58% (229)</b>	<b>2,2149e-06</b>	<b>22,398</b>
Patología maligna	<b>66,7% (80)</b>	33,3% (40)		

Tabla 52 Valoración del CD44s. Puntuación semicuantitativa >2.

El análisis detallado dentro del grupo de patología benigna presentó una expresión inferior al 50% tanto en la hiperplasia nodular (43,4%), como en el Graves-Basedow (47,1%), reduciéndose más significativamente en las muestras de tejido tiroideo normal (6,7%) y en las diagnosticadas como tiroiditis (3,1%) (Tabla 53).

Expresión de CD44s	≤2	3	4	5	6	p	$\chi^2$
<b>HCN (n=244)</b>	138 (56,6%)	36	38	25	7	<b>4,532e-08</b>	<b>39,903</b>
<b>Tiroiditis (n=32)</b>	31 (96,9%)	0	0	1	0		
<b>Graves-Basedow (n=51)</b>	27 (52,9%)	9	9	6	0		
<b>Adenoma folicular (n=52)</b>	18 (34,6%)	4	8	10	12		
<b>Tiroides normal (n=15)</b>	14 (93,3%)	0	1	0	0		

Tabla 53 Valoración del CD44s en el grupo de patología benigna

En el grupo de patología maligna se observó una expresión de CD44s en el 60% de los microcarcinomas papilares aumentando al 80% en los carcinomas papilares metastáticos y al 85,7% en los carcinomas papilares (Tabla 54).

Las lesiones foliculares mostraron una expresión positiva (valor semicuantitativo superior a 2) en más del 50% de los casos, oscilando del 65,4% en los adenomas foliculares al 53,3% de los carcinomas foliculares (Tabla 53 y Tabla 54).

Por otro lado, los casos diagnosticados como carcinoma anaplásico mostraron una puntuación baja con sólo uno de ellos con más de 2 puntos en la valoración

semicuantitativa. Asimismo, en los casos registrados como carcinoma medular no se observó expresión positiva para CD44s (Tabla 54).

Expresión de CD44s	≤2	3	4	5	6	p	χ <sup>2</sup>
<b>Microcarcinoma papilar (n=30)</b>	12 (40%)	6	2	3	7	<b>0,80e-03</b>	<b>19,157</b>
			18 (60%)				
<b>Carcinoma papilar (n=42)</b>	6 (14,3%)	3	8	11	14		
			36 (85,7%)				
<b>Metástasis de CPT (n=10)</b>	2 (20%)	0	3	2	3		
			8 (80%)				
<b>Carcinoma folicular (n=30)</b>	14 (46,7%)	0	4	6	6		
			16 (53,3%)				
<b>Carcinoma medular (n=4)</b>	4 (100%)	0	0	0	0		
			0 (0%)				
<b>Carcinoma anaplásico (n=2)</b>	1 (50%)	0	0	0	1		
			1 (50%)				
<b>C. Pobremente Diferenc. (n=2)</b>	1 (50%)	0	0	0	1		
			1 (50%)				

Tabla 54. Valoración del CD44s en el grupo de patología maligna

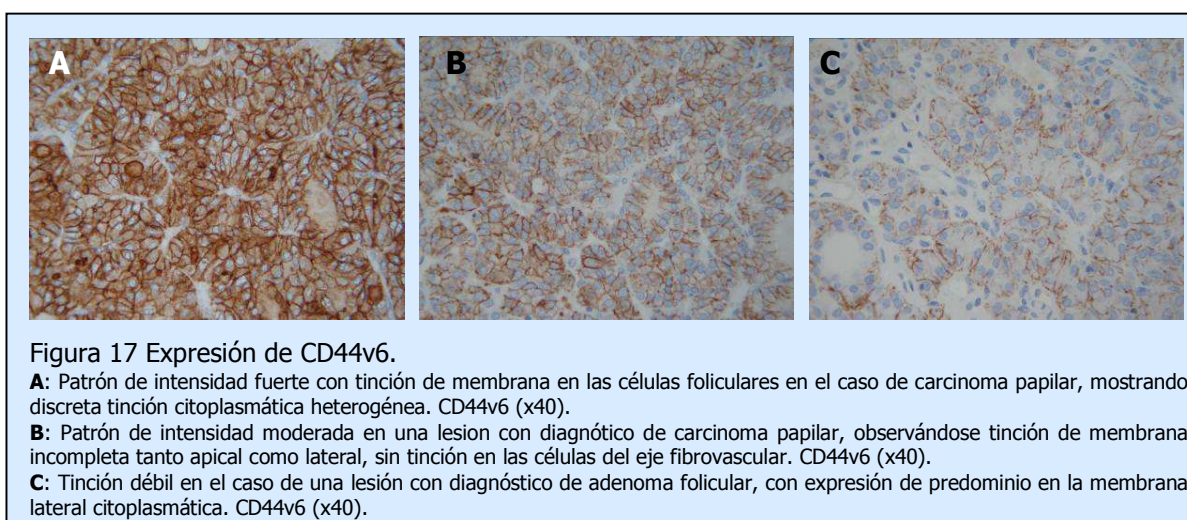
La sensibilidad y especificidad de este anticuerpo en el diagnóstico diferencial entre lesiones malignas y lesiones benignas fue del 66,7% y del 58,0% respectivamente, con un VPP del 32,5% y con un VPN del 85,1%, así como una eficiencia diagnóstica del 60,0% (Tabla 80).

## Resultados.

### 4.3.4.2.3 CD44v6

Al igual que en el caso de CD44s la expresión inmunohistoquímica de este marcador se observó a nivel de la membrana y ocasionalmente asociada a tinción citoplasmática como de membrana (Figura 17).

La técnica fue valorada siguiendo los mismos parámetros que lo reflejados en el apartado anterior (4.3.4.2.2)



La técnica inmunohistoquímica fue valorable en 521 casos (97,6% del total) observándose una puntuación semicuantitativa igual o superior a 3 en el 28,6% de los mismos.

La valoración semicuantitativa, tras la realización del estudio inmunohistoquímico para el CD44v6, mostró una positividad en el grupo de patología benigna del 21,5% y del 51,6% en el grupo de patología maligna ( $\chi^2=40,4003$ ;  $p=2,0690e-10$ :  **$p<0,001$** ).

CD44v6	Positivo	Negativo	P	$\chi^2$
Patología benigna	21,5% (86)	<b>78,5%</b> (313)	<b>2,0690e-10</b>	<b>40,4003</b>
Patología maligna	<b>51,6%</b> (63)	48,4% (59)		

Tabla 55 Valoración del CD44v6. Puntuación semicuantitativa >2.

En el estudio pormenorizado del grupo de patología benigna se observó una expresión muy baja tanto en los casos con diagnóstico de hiperplasia nodular (16%), como en los incluidos en el subgrupo de tiroiditis (18,7%), si bien en los casos diagnosticados como enfermedad de Graves se constató un ligero repunte con un porcentaje de expresión ligeremante superior, alcanzando el 31,4%. Por otro lado en ninguna de las muestras de tejido normal incluidas como control se evidenció tinción para este marcador (Tabla 56).

Expresión de CD44v6	≤2	3	4	5	6	p	χ <sup>2</sup>
<b>HCN (n=250)</b>	210 (84%)	14	14	10	2	<b>4,3445e-06</b>	<b>30,253</b>
<b>Tiroiditis (n=32)</b>	26 (81,3%)	2	4	0	0		
<b>Graves-Basedow (n=51)</b>	35 (68,6%)	7	3	6	0		
<b>Adenoma folicular (n=52)</b>	28 (53,8%)	4	9	4	7		
<b>Tiroides normal (n=14)</b>	14 (100%)	0	0	0	0		

Tabla 56. Valoración del CD44v6 en el grupo de patología benigna

En el segundo grupo, correspondiente a las lesiones malignas, se apreció una mayor expresión, que en el caso de las lesiones papilares se manifiesta con una tinción inmunohistoquímica progresivamente mayor en relación directa con el pronóstico de cada patología ascendiendo desde el 44,8% en los miCPT al 50% en el caso de los CPT y llegando al 70% en los CPT metastáticos (Tabla 57).

Dentro de las lesiones foliculares se aprecia un patrón de expresión similar entre ellas con un valor del 46,2% para los adenomas foliculares en y del 56,7% en para los CFT (Tabla 56 y 57)

Tanto en aquellos casos diagnosticados como carcinoma medular como en los diagnosticados como carcinomas anaplásicos el patrón de expresión fue muy bajo alcanzando exclusivamente en el caso del CMT una puntuación de 3 en la valoración

## Resultados.

semicuantitativa en uno de los casos. Por el contrario en los casos recogidos dentro del grupo de carcinomas pobremente diferenciados se observó una expresión positiva en los dos casos incluidos en esta serie (Tabla 57).

Expresión de CD44v6	≤2	3	4	5	6	p	$\chi^2$
<b>Microcarcinoma papilar (n=29)</b>	16 (55,2%)	4	5	2	2	0,448	7,374
			13 (44,8%)				
<b>Carcinoma papilar (n=44)</b>	22 (50%)	7	7	4	4		
			22 (50%)				
<b>Metástasis de CPT (n=10)</b>	3 (30%)	1	2	3	1		
			7 (70%)				
<b>Carcinoma folicular (n=30)</b>	13 (43,3%)	4	4	5	4		
			17 (56,7%)				
<b>Carcinoma medular (n=4)</b>	3 (75%)	1	0	0	0		
			1 (25%)				
<b>Carcinoma anaplásico (n=2)</b>	2 (100%)	0	0	0	0		
			0 (0%)				
<b>C. Pobremente Diferenc (n=2)</b>	0 (0%)	0	1	0	1		
			2 (100%)				

Tabla 57. Valoración del CD44v6 en el grupo de patología maligna

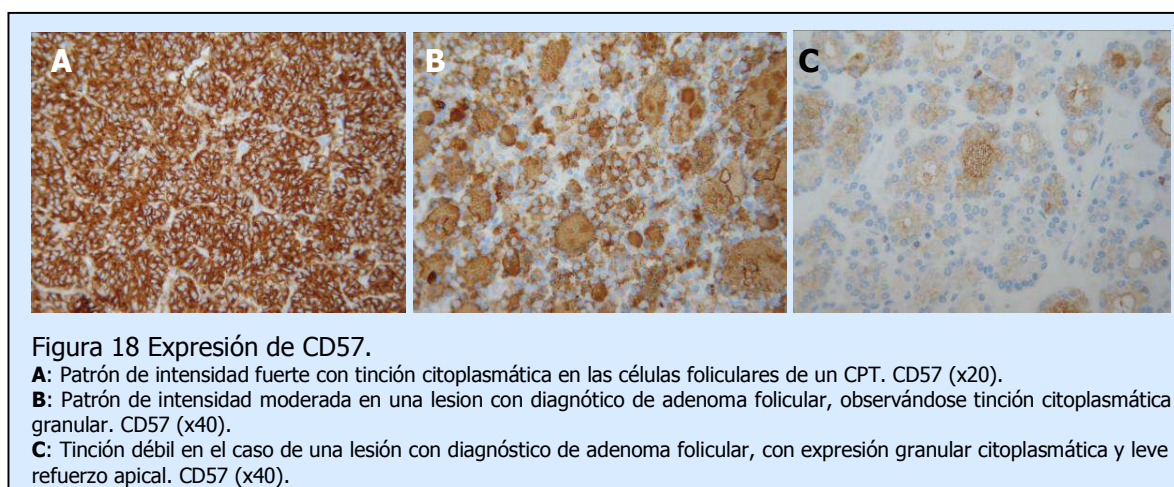
El CD44v6 presentó una sensibilidad del 61,6% y una especificidad del 78,5% con un VPP del 42,3% y un VPN del 84,2% en el diagnóstico diferencial de lesiones benignas frente a lesiones malignas. Asimismo presentó una eficiencia diagnóstica, para este supuesto, del 72,2% (Tabla 80).



#### 4.3.4.2.4 CD57

La aplicación de este marcador mostró una tinción citoplasmática/membranosa homogénea en las células foliculares tiroideas, con una disposición ocasionalmente granular, sin evidencia de tinción nuclear en ninguno de los casos estudiados.

La técnica fue considerada según los criterios aportados en la literatura (Khan *et al.*, 2005; Liang *et al.*, 2009). El esquema de puntuación semicuantitativo aplicado fue el recogido en el apartado 3.2.4 (Tabla 6).



De los 534 casos examinados se pudo realizar la valoración en el 98,1% de los mismos (524 casos) con una puntuación superior a 2 en 62 de ellos (el 11,7% del total de casos válidos), de los que 34 casos correspondían a lesiones benignas (8,5%) y los 28 casos restantes a lesiones malignas (22,2%) ( $\chi^2=18,8454$ ;  $p=1,4175e-05$ :  **$p<0,001$** ).

<b>CD 57</b>	Positivo	Negativo	p	$\chi^2$
Patología benigna	8,5% (34)	<b>91,5% (368)</b>	<b>1,417e-05</b>	<b>18,8454</b>
Patología maligna	23% (28)	<b>77% (94)</b>		

Tabla 58 Valoración del CD57. Puntuación semicuantitativa >2.

## Resultados.

El examen de los datos, una vez segregados por grupos de patología, mostró en el primer apartado de patología benigna una expresión débil, oscilando del 3,2% en el caso de las tiroiditis, al 3,8% de las muestras con diagnóstico de Graves-Basedow y al 5,2% en los incluidos en el subgrupo de hiperplasia coloide nodular.

Cabe destacar la ausencia de expresión del CD57 en los casos de tejido tiroideo normal incluidos en el estudio (Tabla 59).

Expresión de CD 57	≤2	3	4	5	6	p	$\chi^2$
<b>HCN (n=250)</b>	237 (94,8%)	4	6 13 (5,2%)	1	2	<b>4,5e-09</b>	<b>51,958</b>
<b>Tiroiditis (n=31)</b>	30 (96,8%)	1	0 1 (3,2%)	0	0		
<b>Graves-Basedow (n=52)</b>	50 (96,2%)	1	1 2 (3,8%)	0	0		
<b>Adenoma folicular (n=53)</b>	35 (66%)	10	3 18 (34%)	3	2		
<b>Tiroides normal (n=16)</b>	16 (100%)	0	0 0 (0%)	0	0		

Tabla 59. Valoración del CD57 en el grupo de patología benigna *Valor p calculado según test de Fisher*

En el segundo apartado que comprende a las lesiones malignas se observó en el grupo de lesiones papilares una expresión progresivamente mayor en relación con la agresividad del diagnóstico, pasando del 10% en los microcarcinomas papilares al 25% de los carcinomas papilares y al 40% en los carcinomas papilares metastáticos (Tabla 60).

Por otro lado, en las lesiones foliculares se ha observado una expresión con una valoración superior a 2 en el 34% de los adenomas foliculares, descendiendo al 26,7% en los carcinomas foliculares.

La aplicación de esta técnica inmunohistoquímica en el diagnóstico diferencial entre lesiones benignas frente a lesiones malignas obtuvo una sensibilidad del 23,0%, con una especificidad del 91,5%. El VPP y el VPN resultantes fueron del 45,2% y del 79,6% respectivamente; la eficiencia diagnóstica de esta técnica fue del 75,6% (Tabla 80).

Expresión de CD 57	≤2	3	4	5	6	p	χ <sup>2</sup>
<b>Microcarcinoma papilar (n=30)</b>	27(90%)	0	3 (10%)	0	0	0.156	7,674
<b>Carcinoma papilar (n=44)</b>	33 (75%)	3	6 (25%)	2	0		
<b>Metástasis de CPT (n=10)</b>	6 (60%)	0	2 (40%)	2	0		
<b>Carcinoma folicular (n=30)</b>	22 (73,3%)	2	2 (26,7%)	3	1		
<b>Carcinoma medular (n=4)</b>	2 (50%)	0	1 (50%)	1	0		
<b>Carcinoma anaplásico (n=2)</b>	2 (100%)	0	0 (0%)	0	0		
<b>C. Pobremente Diferenc. (n=1)</b>	1 (100%)	0	0 (0%)	0	0		

Tabla 60. Valoración del CD57 en el grupo de patología maligna Valor p calculado según test de Fisher

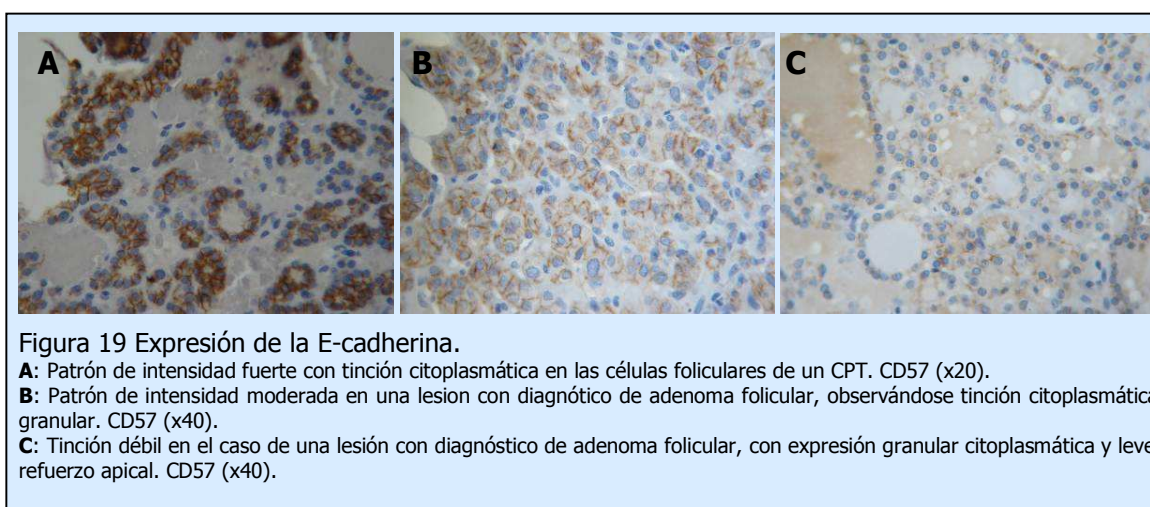
La sensibilidad de este anticuerpo en el diagnóstico diferencial entre lesiones neoplásicas malignas foliculares y tejido normal fue baja, con un resultado del 29,0% y una especificidad y VPP del 100%; el VPN fue del 42,1%, con una eficiencia diagnóstica del 53,2% (Tabla 91).

## Resultados.

### 4.3.4.2.5 E-cadherina

Tras el estudio de este marcador se observó una tinción de membrana citoplasmática de predominio homogéneo en las células foliculares tiroideas (con tendencia a la disposición lateral y/o basal-lateral), con un refuerzo apical ocasional, sin evidencia de tinción nuclear en ninguno de los casos estudiados.

El esquema de puntuación semicuantitativo seguido fue el recogido en la literatura (Demellawy *et al.*, 2008) como queda reflejado en el apartado 3.2.4 (Tabla 6).



Se obtuvo una expresión valorable en 512 casos (el 95,9% del total), observándose una puntuación igual o superior a 3 en el 95,3% (488 casos) del total valorable.

El estudio inmunohistoquímico para la determinación del anticuerpo E-cadherina mostró una valoración semicuantitativa superior a 2 en el 97,4% de las lesiones benignas, mostrando una valoración igualmente elevada en el grupo de lesiones malignas con un 88,3% de los casos, con significación estadística ( $\chi^2=17,0876$ ;  $p=3,5694e-05$ :  **$p<0,001$** ).

E-Cadherina	Positivo	Negativo	p	$\chi^2$
Patología benigna	<b>97,4%</b> (382)	2,6% (10)	<b>3,5694e-05</b>	<b>17,087</b>
Patología maligna	<b>88,3%</b> (106)	11,7% (14)		

Tabla 61 Valoración de la E-cadherina. Puntuación semicuantitativa >2.

Una vez separados los grupos por patologías se observó que la expresión de la E-cadherina fue mayoritaria, con un porcentaje superior al 90% en el caso de las muestras de tejido tiroideo normal, llegando al 98,3% de los casos de hiperplasia coloide nodular y al 100% en los casos de Graves-Basedow. En el subgrupo de casos clasificados con el diagnóstico de tiroiditis el porcentaje de casos con una valoración superior a 2 fue del 90,6% (Tabla 62).

Expresión de E-Cadherina	≤2	3	4	5	6	p	χ <sup>2</sup>
<b>HCN (n=240)</b>	4 (1,7%)	26	63	91	56	<b>0,014</b>	<b>8,665</b>
			236 (98,3%)				
<b>Tiroiditis (n=32)</b>	3 (9,4%)	4	8	14	3		
			29 (90,6%)				
<b>Graves-Basedow (n=51)</b>	0 (0%)	1	11	9	30		
			51 (100%)				
<b>Adenoma folicular (n=53)</b>	1 (1,9%)	0	6	22	24		
			52 (98,1%)				
<b>Tiroides normal (n=15)</b>	1 (6,6%)	2	8	2	2		
			14 (93,4%)				

Tabla 62. Valoración de la E-cadherina en el grupo de patología benigna *Valor p calculado según test de Fisher*

En el segundo grupo, integrado por lesiones malignas, se observó dentro de las neoplasias papilares una expresión elevada tanto en los microcarcinomas papilares de tiroides con un 93,1% de los casos con una valoración superior a 2, como en los carcinomas papilares con un 86%, reduciéndose al 70% en el caso de los carcinomas papilares metastásicos (Tabla 63).

La valoración de las lesiones foliculares mostró asimismo una expresión de la E-cadherina superior al 96% tanto en los adenomas foliculares como en el carcinoma folicular (Tabla 62 y 63).

Por otro lado, tanto en los casos con diagnóstico de carcinoma medular como en los agrupados dentro de los carcinomas pobremente diferenciados se observó una expresión mayoritaria con una valoración semicuantitativa mayor a 2 en todos los casos recogidos en esta Tesis (Tabla 63).

Resultados.

Expresión de E-Cadherina	≤2	3	4	5	6	p	χ <sup>2</sup>
<b>Microcarcinoma papilar (n=29)</b>	2 (6,9%)	2	6	12	7	<b>0,008</b>	<b>22,077</b>
			27 (93,1%)				
<b>Carcinoma papilar (n=43)</b>	6 (14%)	3	13	15	6		
			37 (86%)				
<b>Metástasis de CPT (n=10)</b>	3 (30%)	0	1	3	3		
			7 (70%)				
<b>Carcinoma folicular (n=30)</b>	1 (3,3%)	0	2	7	20		
			29 (96,7%)				
<b>Carcinoma medular (n=4)</b>	0 (0%)	1	2	0	1		
			4 (100%)				
<b>Carcinoma anaplásico (n=2)</b>	2 (100%)	0	0	0	0		
			0 (0%)				
<b>C. Pobrementemente Diferenc. (n=2)</b>	0 (0%)	1	0	0	1		
			2 (100%)				

Tabla 63. Valoración del E-cadherina en el grupo de patología maligna

El carcinoma anaplásico presentó la menor expresión de toda la serie con ausencia de este marcador en todos los casos.

La E-Cadherina mostró una baja sensibilidad en el diagnóstico diferencial entre lesiones benignas y malignas, con una sensibilidad del 11,7%, especificidad del 97,4%, un VPP del 58,3% y un VPN del 78,3%. La eficiencia diagnóstica fue del 77,3% (Tabla 80).

#### 4.3.4.2.6 $\beta$ -catenina (expresión nuclear y citoplasmática)

Debido al variable patrón de tinción que presenta la  $\beta$ -catenina, en función de su status biológico, se consideraron dos patrones de forma independiente. Primero se valoró el patrón nuclear y citoplasmático puntuándose como 0 a aquellos con menos del 10% de las células valoradas con tinción específica; 1 para los casos entre 11 al 25%; 2 para los que mostraban una positividad entre el 26 al 50% y 3 puntos para los casos con una tinción específica superior al 50% (Rezk *et al.*, 2004).

La intensidad de tinción cromática fue valorada en tres escalas: débil: 1; moderada: 2; fuerte: 3.

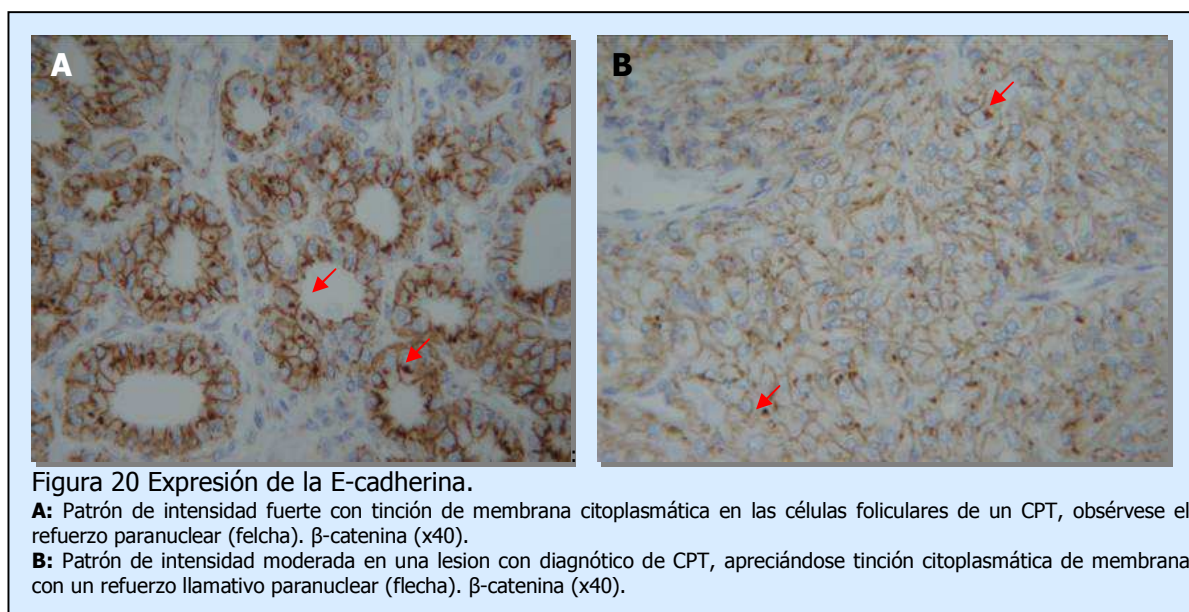
Una vez realizado el estudio inmunohistoquímico se valoraron 522 casos, representando el 97% del total de estudios integrados en las micromatrices de tejido sin apreciarse en ninguno de ellos ni tinción nuclear ni citoplasmática positiva.

#### 4.3.4.2.7 $\beta$ -catenina (expresión membranosa)

En el caso de la valoración membranosa de este marcador se evidenció su disposición en dicha ubicación con discreta tendencia a presentar un refuerzo apical, así como de forma llamativa se observó una tinción en "gota" paranuclear (Figura 20). Se aplicó el sistema de medición semicuantitativo aportados por otros autores (Rezk *et al.*, 2004) y reflejado en el apartado 3.2.4 (Tabla 6).

Igualmente el patrón de intensidad cromática fue aplicado al igual que en el resto de anticuerpos con una escala cromática dividida en tres apartados: débil: 1; moderada: 2; fuerte: 3.

## Resultados.



Esta tinción pudo valorarse en 518 casos (el 97% del total), observándose una puntuación igual o superior a 3 en el 22,6% (117 casos).

$\beta$ -catenina	Positivo	Negativo	P	$\chi^2$
Patología benigna	19,9% (79)	<b>80,1%</b> (317)	<b>0,009</b>	<b>6,688</b>
Patología maligna	31,1% (38)	<b>68,9%</b> (84)		

Tabla 64 Valoración de la  $\beta$ -catenina. Puntuación semicuantitativa >2.

Tras el estudio inmunohistoquímico para la determinación del anticuerpo frente a la  $\beta$ -catenina se obtuvo una valoración semicuantitativa superior a 2 en el 19,9% de las lesiones benignas, y ligeramente mayor en el grupo de lesiones malignas alcanzando el 31,1% de los casos ( $\chi^2=6,6886$ ; **p=0.0097**).

Una vez segregados los grupos por patologías se observó que la expresión de la  $\beta$ -catenina fue ampliamente negativa en la mayoría de las patologías, oscilando del 6,7% en las muestras de tejido tiroideo normal al 15,6% en los casos de tiroiditis. Cabe destacar que en los casos de enfermedad de Graves-Basedow mostró una tasa superior alcanzando más del 58,8% del total (Tabla 65).



Expresión de $\beta$ -catenina	$\leq 2$	3	4	5	6	p	$\chi^2$
<b>HCN (n=245)</b>	217 (88,6%)	0	5 28 (11,4%)	7	16	<b>4,725e-13</b>	<b>63,747</b>
<b>Tiroiditis (n=32)</b>	27 (84,4%)	0	1 5 (15,6%)	2	2		
<b>Graves-Basedow (n=51)</b>	21 (41,2%)	0	7 30 (58,8%)	5	18		
<b>Adenoma folicular (n=53)</b>	38 (71,7%)	0	0 15 (28,3%)	5	10		
<b>Tiroides normal (n=15)</b>	14 (93,3%)	0	0 1 (6,7%)	1	0		

Tabla 65. Valoración de la  $\beta$ -catenina en el grupo de patología benigna

En el segundo grupo, constituido por las lesiones malignas, se observó dentro del subgrupo de las neoplasias papilares una expresión discretamente elevada con una disminución progresiva en relación con el pronóstico, partiendo del 36,7% en el caso de los miCPT al 29,5% en los CPT y descendiendo al 20% en las metástasis de carcinomas papilares. En el subgrupo de lesiones foliculares el número de casos positivos para este marcador fué similar en los casos de lesiones benignas (28,3% de los adenomas foliculares) y malignas (26,7% de los carcinomas foliculares) (Tabla 65 y Tabla 66).

Expresión de $\beta$ -catenina	$\leq 2$	3	4	5	6	p	$\chi^2$
<b>Microcarcinoma papilar (n=30)</b>	19 (63,3%)	0	4 11 (36,7%)	2	5	<b>0,750</b>	<b>2,665</b>
<b>Carcinoma papilar (n=44)</b>	31 (70,5%)	0	3 13 (29,5%)	4	6		
<b>Metástasis de CPT (n=10)</b>	8 (80%)	0	0 2 (20%)	2	0		
<b>Carcinoma folicular (n=30)</b>	22 (73,3%)	0	3 8 (26,7%)	1	4		
<b>Carcinoma medular (n=4)</b>	2 (50%)	0	1 2 (50%)	1	0		
<b>Carcinoma anaplásico (n=2)</b>	1 (50%)	0	0 1 (50%)	0	1		
<b>C. Pobremente Diferenc. (n=2)</b>	1(50%)	0	0 1 (50%)	0	1		

Tabla 66. Valoración de la  $\beta$ -catenina en el grupo de patología maligna

## Resultados.

En el caso del carcinoma anaplásico y en el pobremente diferenciado se observó expresión para  $\beta$ -catenina en una de las dos muestras; en el carcinoma medular fueron positivos 2 de 4 casos (Tabla 66).

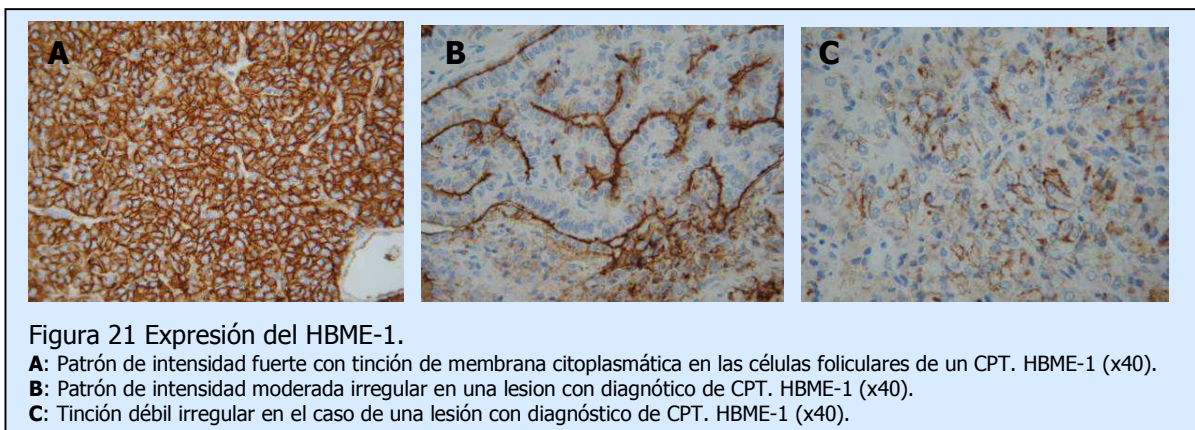
La sensibilidad y especificidad mostrada por esta técnica en el diagnóstico diferencial entre lesiones benignas y lesiones malignas fue del 31,1% y del 80% respectivamente con un VPP del 32,5% y un VPN del 79,1%, asimismo se observó una eficiencia diagnóstica del 68,5% (Tabla 80).

#### 4.3.4.3 Proteínas de superficie celular

##### 4.3.4.3.1 HBME-1

La expresión inmunohistoquímica de este marcador mostró una tinción de membrana con refuerzo apical, observándose en ocasiones tinción citoplásmica acompañante. Por otro lado, en las células con cambios oncocíticos se apreció expresión del HBME-1 limitada al citoplasma del epitelio folicular tiroideo sin expresión membranosa, no valorándose por tanto como tinción positiva, si bien el número de casos donde se constató este hecho fue muy reducido. No se observó tinción nuclear en ninguno de los casos incluidos en la serie.

La técnica fue considerada según lo establecido en la Tabla 6 (apartado 3.2.4) y coincidiendo con lo aportado por otros autores previamente (Nikiforova *et al.*, 2003).



La expresión del HBME-1 fue posible en 520 representando el 97,4% del total de casos aptos, obteniéndose 76 casos con una puntuación igual o superior a 3 (14,6%).

La puntuación fue superior a 2 en el 3,2% de los casos de patología benigna, ascendiendo al 52,9% en el grupo de patología maligna ( $\chi^2=181,6345$ ;  $p=2,1308e-41$ ;  **$p<0,001$** ).

Resultados.

<b>HBME-1</b>	Positivo	Negativo	p	$\chi^2$
Patología benigna	3,2% (13)	<b>96,8%</b> (388)	<b>2,1308e-41</b>	<b>181,6345</b>
Patología maligna	<b>52,9%</b> (63)	47,1% (56)		

Tabla 67 Valoración de HBME-1. Puntuación semicuantitativa >2.

La valoración dentro de cada grupo, una vez segmentados los datos por patologías, mostró una expresión muy reducida de HBME-1 dentro del grupo de patologías benigna, oscilando del 3,1% en los casos de tiroiditis al 2,4% en los casos diagnosticados como hiperplasia nodular, sin encontrarse expresión en ninguno de los casos registrados de Graves-Basedow así como en las muestras incluidas de tejido tiroideo normal (Tabla 68).

<b>Expresión de HBME-1</b>	<b>≤2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>p</b>	<b><math>\chi^2</math></b>
<b>HCN (n=249)</b>	243 (97,6%)	3	0	0	3	<b>0,003</b>	<b>22,793</b>
<b>Tiroiditis (n=32)</b>	31 (96,9%)	1	0	0	0		
<b>Graves-Basedow (n=52)</b>	52(100%)	0	0	0	0		
<b>Adenoma folicular (n=53)</b>	47 (88,6%)	1	0	0	5		
<b>Tiroides normal (n=15)</b>	15 (100%)	0	0	0	0		

Tabla 68. Valoración de HBME-1 en el grupo de patología benigna

Por el contrario, se obtuvo un porcentaje de casos significativamente mayor en el grupo de lesiones papilares con una tasa de positividad progresivamente mayor en relación con el diagnóstico, progresando del 48,3% en los casos clasificados dentro del subgrupo de microcarcinoma papilar, pasando al 73,8% en los casos de carcinoma papilar y al 80% en los carcinomas papilares metastáticos (Tabla 69).

Dentro del grupo de las lesiones foliculares la expresión del HBME-1 fue menos significativa, con una positividad del 11,4% en los adenomas foliculares y del 26,7% en los carcinomas foliculares.

Sólo uno de los carcinomas medulares se consideró positivo y ninguno de los carcinomas anaplásicos mostró tinción con este marcador.

Expresión de HBME-1	≤2	3	4	5	6	p	χ <sup>2</sup>
<b>Microcarcinoma papilar (n=29)</b>	15 (53,6%)	1	3 14 (48,3%)	3	7	<b>0,16e-03</b>	<b>22,375</b>
<b>Carcinoma papilar (n=42)</b>	11 (26,2%)	0	10 31 (73,8%)	7	14		
<b>Metástasis de CPT (n=10)</b>	2 (20%)	1	1 8 (80%)	1	5		
<b>Carcinoma folicular (n=30)</b>	22 (73,3%)	1	2 8 (26,7%)	2	3		
<b>Carcinoma medular (n=4)</b>	3 (75%)	0	0 1 (25%)	1	0		
<b>Carc. anaplásico (n=2)</b>	2 (100%)	0	0 0 (0%)	0	0		
<b>C. Pobremente Diferenc. (n=2)</b>	1 (50%)	0	0 1 (50%)	0	1		

Tabla 69. Valoración de HBME-1 en el grupo de patología maligna

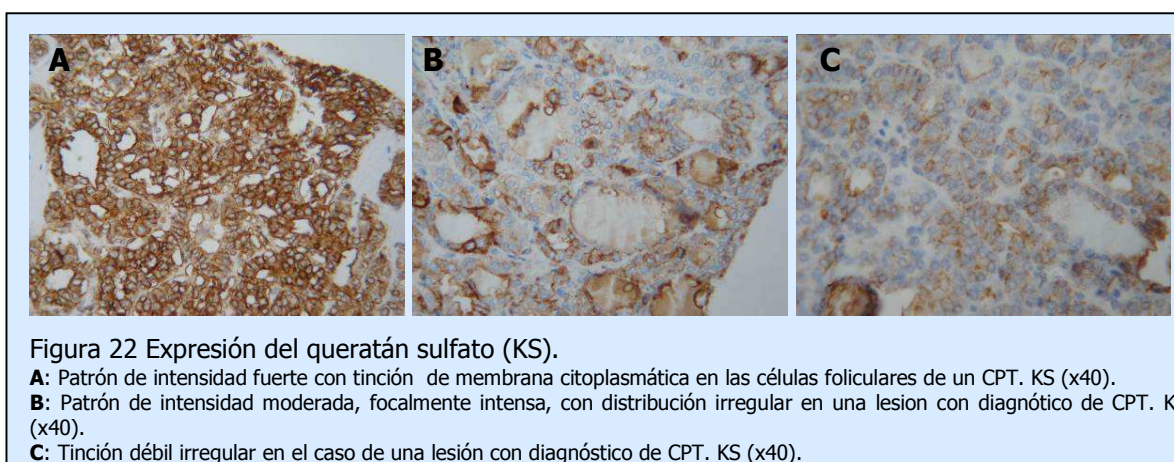
Este marcador mostró una alta especificidad (96,8%) en el estudio de las lesiones malignas frente a benignas, con una sensibilidad del 52,9%, VPP y VPN altos del 82.9% y del 87.4% respectivamente. La eficiencia diagnóstica fue del 86,7% (Tabla 80).

En el caso del diagnóstico diferencial entre carcinoma papilar y tejido normal la sensibilidad mejoró, alcanzando el 65,4%, con una especificidad y VPP del 100%. El VPN fue del 34,9% y la eficiencia diagnóstica del 70,8% (Tabla 91).

#### 4.3.7.2 Queratán sulfato

La aplicación de este marcador mostró una tinción de membrana y citoplasmática de distribución homogénea en las células foliculares tiroideas (aunque esporádicamente presentó un patrón granular), con un refuerzo apical, sin evidencia de tinción nuclear en ninguno de los casos estudiados.

Para la valoración de este marcador siguió las pautas establecidas en el punto 3.2.4 (Tabla 6), obteniéndose los siguientes resultados.



El estudio de la expresión inmunohistoquímica fue posible en 513 casos (96,1%), obteniéndose una puntuación igual o superior a 3 en 63 casos (12,3%) con respecto al total valorable.

La puntuación semicuantitativa obtenida fue superior a 2 en el 2,3% de las lesiones benignas frente al 45% del grupo de las lesiones malignas ( $\chi^2=155,6667$ ;  $p=1,00116e-35$ ;  $p<0,001$ ).

Queratán Sulf	Positivo	Negativo	p	$\chi^2$
Patología benigna	2,3% (9)	97,7% (384)	<b>1,00116e-35</b>	<b>155,666</b>
Patología maligna	45% (54)	55% (66)		

Tabla 70 Valoración del KS. Puntuación semicuantitativa >2.

El análisis, una vez diferenciado los resultados por diagnósticos, mostró en el grupo de las lesiones benignas que el 100% de las biopsias con diagnóstico de Graves-Basedow, de tiroiditis y muestras de tejido normal eran negativas. En el subgrupo de casos con hiperplasia nodular se obtuvieron resultados muy similares, con el 98,8% de los casos negativos (Tabla 71).

Expresión de KS	≤2	3	4	5	6	p	χ <sup>2</sup>
<b>HCN (n=244)</b>	241 (98,8%)	0	2 3 (1,2%)	0	1	<b>3,5e-13</b>	<b>22,793</b>
<b>Tiroiditis (n=32)</b>	32 (100%)	0	0 0 (0%)	0	0		
<b>Graves-Basedow (n=49)</b>	49 (100%)	0	0 0 (0%)	0	0		
<b>Adenoma folicular (n=53)</b>	47 (88,6%)	0	0 6 (11,4%)	3	3		
<b>Tiroides normal (n=15)</b>	15 (100%)	0	0 0 (0%)	0	0		

Tabla 71. Valoración del KS en el grupo de patología benigna

En el segundo bloque, integrado por muestras con diagnósticos de patología maligna, los resultados con una valoración semicuantitativa superior a 2 (expresión positiva) fue del 38% en los microcarcinomas papilares, ascendiendo al 67,4% en los carcinoma papilares y al 80% en metástasis de carcinoma papilar (Tabla 72).

En el caso de las lesiones foliculares la expresión del anticuerpo fue muy discreta con un 11,4% de adenomas foliculares positivos y 19,3% de carcinomas foliculares.

Tanto el carcinoma anaplásico como el carcinoma medular mostraron una expresión muy pobre, observándose sólo en éste último en uno de los casos analizados.

Resultados.

Expresión de KS	≤2	3	4	5	6	p	χ <sup>2</sup>
<b>Microcarcinoma papilar (n=29)</b>	18(62%)	2	1	3	5	<b>0,47e-04</b>	<b>27,029</b>
<b>Carcinoma papilar (n=43)</b>	14 (32,6%)	3	4	6	16		
<b>Metástasis de CPT (n=10)</b>	2 (20%)	0	1	2	5		
<b>Carcinoma folicular (n=31)</b>	25 (80,7%)	0	2	2	1		
<b>Carcinoma medular (n=4)</b>	3 (75%)	0	1	0	0		
<b>Carc. anaplásico (n=2)</b>	2 (100%)	0	0	0	0		
<b>C. Pobremente diferenciado (n=2)</b>	1 (50%)	0	0	0	1		
			11 (38%)	29 (67,4%)	8 (80%)		
			0 (0%)	0 (0%)	1 (50%)		

Tabla 72. Valoración del KS en el grupo de patología maligna

En el análisis de este marcador inmunohistoquímico frente al diagnóstico diferencial de las lesiones benignas frente a las lesiones malignas se obtuvo una sensibilidad del 45.0%, con una alta especificidad (97.7%). Asimismo, se apreció un alto VPP y VPN del 85.7% y del 85.3%, respectivamente. La eficiencia diagnóstica fue del 85.4% (Tabla 80).

En el caso del diagnóstico diferencial entre carcinoma papilar y tejido normal el KS mostró una sensibilidad del 58,5% y una especificidad así como un VPP del 100%. El VPN fue del 30,6% y la eficiencia diagnóstica del 64,9% (Tabla 88).

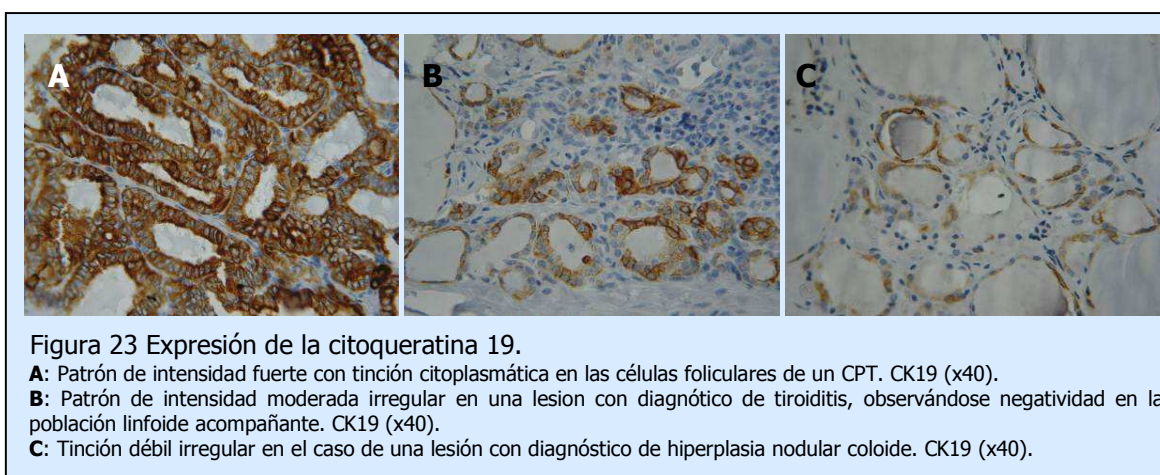


#### 4.3.4.4 Citoesqueleto

##### 4.3.5.1 Citoqueratina 19

La distribución de la tinción observada con este marcador fue citoplasmática, sin apreciarse en ninguno de los casos tinción nuclear, observándose en ocasiones un refuerzo focal apical coincidiendo con los casos de tinción fuerte.

La expresión de la citoqueratina 19 fue considerada según los criterios reflejados en la literatura (Prasad *et al.*, 2005; Nasr *et al.*, 2006; El Demellawy *et al.*, 2008), quedando expuesta en la tabla resumen del apartado 3.2.4 (Tabla 6).



La valoración de la técnica inmunohistoquímica fue posible en 522 casos del total de 534 valorables (97,7% del total), obteniéndose una puntuación igual o superior 3 en el 19,5% (102 casos).

La determinación inmunohistoquímica frente a la citoqueratina 19 mostró una valoración semicuantitativa mayor de 2 en el 11% de las lesiones benignas, frente al 47,5% de las lesiones malignas ( $\chi^2=79,3965$ ;  $p=5,08162e-19$ :  **$p<0,001$** ).

Resultados.

<b>CK 19</b>	<b>Positivo</b>	<b>Negativo</b>	<b>p</b>	<b><math>\chi^2</math></b>
Patología benigna	11% (44)	<b>89%</b> (356)	<b>5,0816e-19</b>	<b>79,396</b>
Patología maligna	47,5% (58)	<b>52,5%</b> (64)		

Tabla 73 Valoración de la CK19. Puntuación semicuantitativa >2.

En el grupo de patología benigna la expresión fue mayoritariamente débil oscilando entre el 0% de los casos con diagnóstico de Graves-Basedow al 8,6% en los diagnosticados como hiperplasia nodular coloide. Dentro de la muestras de tejido tiroideo normal la expresión de la citoqueratina 19 estuvo restringida a un caso. Destacó, sin embargo, la expresión aumentada en los integrantes del grupo de tiroiditis linfocitaria con una frecuencia del 46,9% (Tabla 74).

<b>Expresión de CK 19</b>	<b>≤2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>p</b>	<b><math>\chi^2</math></b>
<b>HCN (n=247)</b>	226 (91,4%)	11	7	3	0	<b>2,576e-10</b>	<b>50,702</b>
<b>Tiroiditis (n=32)</b>	17 (53,1%)	6	5	2	2		
<b>Graves-Basedow (n=52)</b>	52 (100%)	0	0	0	0		
<b>Adenoma folicular (n=53)</b>	46 (86,8%)	2	1	2	2		
<b>Tiroides normal (n=16)</b>	15 (93,8%)	0	1	0	0		
			7 (13,2%)				
			1 (6,2%)				

Tabla 74. Valoración de la CK-19 en el grupo de patología benigna

En el segundo apartado y dentro de las lesiones papilares malignas se obtuvo una valoración semicuantitativa superior a 2 en el 38% de los casos diagnosticados como microcarcinomas papilares, ascendiendo al 63,6% en los carcinomas papilares y al 80% en las metástasis de carcinoma papilar (Tabla 75).

El grupo de lesiones foliculares mostró una expresión más reducida, con un porcentaje del 13,2% en los adenomas foliculares, pasando al 29% en los carcinomas foliculares (Tabla 74 y 75).

Dos de los 4 carcinomas medulares fueron positivos, con una puntuación semicuantitativa débil (3 puntos) y ninguno de los carcinomas pobremente diferenciados y anaplásicos expresó este marcador (Tabla 75).

Expresión de CK 19	≤2	3	4	5	6	p	$\chi^2$
<b>Microcarcinoma papilar (n=29)</b>	18(62%)	4	1	2	4	<b>0,005</b>	<b>17,762</b>
<b>Carcinoma papilar (n=44)</b>	16 (36,4%)	4	9	10	5		
<b>Metástasis de CPT (n=10)</b>	2 (20%)	0	1	2	5		
<b>Carcinoma folicular (n=31)</b>	22 (71%)	2	4	1	2		
<b>Carcinoma medular (n=4)</b>	2 (50%)	2	0	0	0		
<b>Carc. anaplásico (n=2)</b>	2 (100%)	0	0	0	0		
<b>C. Pobremente Diferenc. (n=2)</b>	2 (100%)	0	0	0	0		

Tabla 75. Valoración de la CK-19 en el grupo de patología maligna

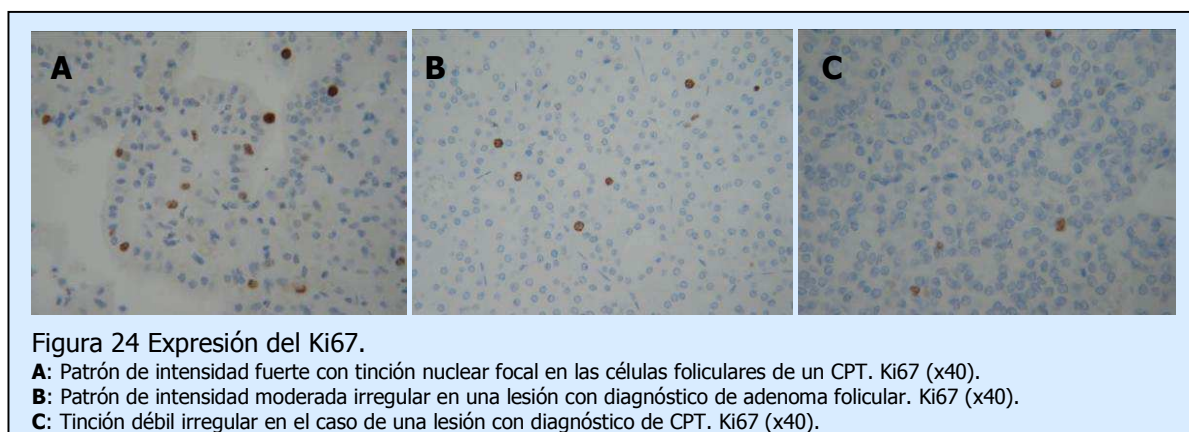
La valoración inmunohistoquímica de la CK19 en el diagnóstico diferencial entre lesiones malignas y benignas mostró una sensibilidad del 47,5%, con una especificidad del 89,0% y una eficiencia diagnóstica del 79,3%. EL VPP fue de 56,9% y el VPN de 84,8% (Tabla 80). En el diagnóstico diferencial entre el grupo de los carcinomas papilares y el tejido tiroideo normal, la sensibilidad ascendió al 63,6% obteniendo una especificidad del 93,7%, resultando un VPP y un VPN del 96,5% y del 48,4%, respectivamente. La eficiencia diagnóstica en este supuesto fue del 71,7% (Tabla 88).

#### 4.3.4.5 Marcadores de proliferación

##### 4.3.4.5.1 Ki67

Este marcador presentó siempre una tinción nuclear tanto en las células neoplásicas como en los linfocitos acompañantes en los casos de tiroiditis incluidos en la serie, si bien en un número muy reducido.

La tinción fue considerada específica cuando se observó coloración nuclear exclusiva, la puntuación semicuantitativa fue aplicada según los criterios aportados por otros autores en la literatura (Ito *et al.*, 2010), como queda reflejado en el apartado 3.2.4 (Tabla 6).



De los 534 casos valorables se pudieron estudiar el 97,4% (515 casos), obteniéndose una valoración semicuantitativa igual o superior a 3 en 89 casos, representando el 17,3% de los casos valorables.

Ki67	Positivo	Negativo	p	$\chi^2$
Patología benigna	8,1% (32)	<b>91,9%</b> (361)	<b>7,1822e-22</b>	<b>96,929</b>
Patología maligna	46,7% (57)	<b>53,3%</b> (65)		

Tabla 76 Valoración del Ki67. Puntuación semicuantitativa >2.

Al estudiar la expresión del Ki67 con una puntuación semicuantitativa superior a 2 comparando el grupo de casos con lesiones benignas con el grupo de lesiones malignas se observó una diferencia estadísticamente significativa entre el primer grupo (8,1%) con respecto al segundo (46,7%) ( $\chi^2=96,9299$ ;  $p=7,18225e-22$ :  **$p<0,001$** ).

Dentro de la distribución del grupo con patología benigna cabe destacar que el 4,5% de los incluidos en el subgrupo con diagnóstico de hiperplasia coloidal mostraron una puntuación superior a 2; por el contrario, aquellos con lesiones adenomatosas foliculares presentaron una puntuación mayor a 2 en el 30,2% de los casos (Tabla 77).

Expresión de Ki67	≤2	3	4	5	6	p	$\chi^2$
<b>HCN (n=242)</b>	231 (95,5%)	4	6	1	0	<b>5,0e-08</b>	<b>43,590</b>
<b>Tiroiditis (n=31)</b>	27 (87,1%)	1	0	2	1		
<b>Graves-Basedow (n=51)</b>	50 (98%)	1	0	0	0		
<b>Adenoma folicular (n=53)</b>	37 (69,8%)	4	11	1	0		
<b>Tiroides normal (n=16)</b>	16 (100%)	0	0	0	0		

Tabla 77. Valoración del Ki67 en el grupo de patología benigna

En el grupo de lesiones malignas se observó una puntuación semicuantitativa similar en el carcinoma papilar y el microcarcinoma papilar (36,7% y 38,6%, respectivamente) con un aumento en el caso de las metástasis de carcinoma papilar (60%.) (Tabla 78).

Destacó igualmente una valoración semicuantitativa mayor a 2 en el carcinoma anaplásico en todos los casos (n=2), con una puntuación alta (5 puntos), así como en el carcinoma pobremente diferenciado, si bien el tamaño muestral limita una comparación estadísticamente significativa.

La expresión del Ki67 en el carcinoma folicular mostró una puntuación superior a 2 en el 60% de los casos con una diferencia significativa frente a los adenomas foliculares (30,2%); obteniéndose una  $\chi^2=7,780$  con una  $p=0,020$  (Tabla 89), apartado 4.4.2.

Resultados.

Expresión de Ki67	≤2	3	4	5	6	p	χ <sup>2</sup>
<b>Microcarcinoma papilar (n=30)</b>	19 (63,3%)	6	3	2	0	0,194	7,514
<b>Carcinoma papilar (n=44)</b>	27 (61,4%)	7	6	1	3		
<b>Metástasis de CPT (n=10)</b>	4 (40%)	2	1	3	0		
<b>Carcinoma folicular (n=30)</b>	12 (40%)	7	6	2	3		
<b>Carcinoma medular (n=4)</b>	2 (50%)	1	1	0	0		
<b>Carc. anaplásico (n=2)</b>	0 (0%)	0	0	2	0		
<b>C. Pobremente diferenciado (n=2)</b>	1 (50%)	1	0	0	0		
			11 (36,7%)	17 (38,6%)	6 (60%)		
			18 (60%)	2 (50%)	2 (100%)		
			2 (100%)	1 (50%)			

Tabla 78. Valoración del Ki67 en el grupo de patología maligna

La valoración inmunohistoquímica del Ki67 en el diagnóstico diferencial entre lesiones malignas y benignas mostró una sensibilidad del 46,7% y una especificidad del 91,9%, alcanzando el 81,2% para la eficiencia diagnóstica; el VPP fue del 64,0% y el VPN del 84,7% (Tabla 80).

Marcadores	TN	HCN	Ts	GB	AF	CFT	miCPT	CPT	MCPT
IMP-3	0/16 (0%)	18/244 (7,4%)	3/32 (9,4%)	0/50 (0%)	17/53 (32%)	12/30 (40%)	9/29 (31%)	16/42 (38%)	4/10 (40%)
CITED-1	0/16 (0%)	3/250 (1,2%)	2/32 (6,2%)	2/50 (4%)	8/52 (15,4%)	9/31 (29%)	6/30 (20%)	17/45 (37,8%)	5/10 (50%)
Ciclina D1	1/16 (6,2%)	42/247 (17%)	7/32 (21,9%)	13/52 (25%)	34/53 (64,2%)	17/30 (56,7%)	15/30 (50%)	29/44 (65,9%)	9/10 (90%)
Ciclina E	0/15 (0%)	0/244 (0%)	0/32 (0%)	0/51 (0%)	3/53 (5,7%)	1/30 (3,4%)	0/30 (0%)	3/41 (7,3%)	3/10 (30%)
P27	6/16 (37,5%)	78/248 (31,4%)	15/32 (46,9%)	23/51 (45,1%)	25/53 (47,2%)	12/29 (41,4%)	10/30 (33,4%)	11/44 (25%)	5/10 (50%)
P53	0/15 (0%)	19/246 (7,7%)	5/32 (15,6%)	2/49 (4,1%)	16/52 (30,8%)	12/29 (41,4%)	4/30 (13,3%)	8/42 (19%)	7/10 (70%)
P63	0/16 (0%)	1/244 (0,4%)	1/32 (3,1%)	0/52 (0%)	1/53 (1,9%)	0/30 (0%)	1/30 (3,4%)	6/41 (14,6%)	3/10 (30%)
PARP-1	2/15 (14,3%)	29/246 (11,8%)	1/32 (3,1%)	4/48 (8,3%)	14/52 (27%)	12/30 (40%)	6/30 (20%)	3/42 (7,1%)	2/10 (20%)
PARP-1c	1/16 (6,2%)	5/244 (2%)	1/32 (3,1%)	0/47 (0%)	6/52 (11,5%)	3/30 (10%)	3/30 (10%)	8/42 (19%)	2/10 (20%)
TPO	15/16 (93,8%)	189/249 (75,9%)	23/32 (71,9%)	47/51 (92,2%)	45/50 (90%)	12/30 (40%)	17/30 (56,6%)	16/44 (36,4%)	1/10 (10%)
COX-2	11/16 (68,7%)	198/252 (78,6%)	26/32 (81,2%)	48/51 (94,1%)	44/53 (83%)	26/31 (83,9%)	23/30 (76,7%)	28/44 (63,6%)	8/10 (80%)
Gal-3	0/16 (0%)	6/247 (2,4%)	6/32 (18,7%)	0/51 (0%)	3/53 (5,7%)	5/30 (16,7%)	8/30 (26,7%)	24/41 (58,5%)	9/10 (90%)
CD44s	1/15 (6,7%)	106/244 (43,4%)	1/32 (3,1%)	24/51 (47,1%)	34/52 (65,3%)	16/30 (53,4%)	18/30 (60%)	36/42 (85,7%)	8/10 (80%)
CD44v6	0/14 (0%)	40/250 (16%)	6/32 (18,7%)	16/51 (31,4%)	24/52 (46,2%)	17/30 (56,7%)	13/29 (44,8%)	22/44 (50%)	7/10 (70%)
CD57	0/16 (0%)	13/250 (5,2%)	1/31 (3,2%)	2/52 (3,8%)	18/53 (34%)	8/30 (26,7%)	3/30 (10%)	11/44 (25%)	4/10 (40%)
E-Cadherina	14/15 (93,3%)	236/240 (98,3%)	29/32 (90,6%)	51/51 (100%)	52/53 (98,1%)	29/30 (96,7%)	27/29 (93,1%)	37/43 (86%)	7/10 (70%)
β-Catenina	1/15 (6,7%)	28/245 (11,4%)	5/32 (15,6%)	30/51 (58,8%)	15/53 (28,3%)	8/30 (26,7%)	11/30 (36,7%)	13/44 (29,5%)	2/10 (20%)
HBME-1	0/15 (0%)	6/249 (2,4%)	1/32 (3,1%)	0/52 (0%)	6/53 (11,3%)	8/30 (26,7%)	14/29 (48,3%)	31/42 (73,8%)	8/10 (80%)
KS	0/15 (0%)	3/244 (1,2%)	0/32 (0%)	0/49 (0%)	6/53 (11,3%)	6/31 (19,3%)	11/29 (38%)	29/43 (67,4%)	8/10 (80%)
CK19	1/16 (6,2%)	21/247 (8,5%)	15/32 (46,8%)	0/52 (0%)	7/53 (13,2%)	9/31 (29%)	11/29 (38%)	28/44 (63,6%)	8/10 (80%)
Ki67	0/16 (0%)	11/242 (4,5%)	4/31 (12,9%)	1/51 (2%)	16/53 (30,2%)	18/30 (60%)	10/29 (34,5%)	17/44 (38,6%)	6/10 (60%)

Tabla 79 Tabla resumen de la expresión de los marcadores inmunohistoquímicos utilizados

## Resultados.

En el diagnóstico diferencial entre el conjunto de lesiones benignas frente a las lesiones malignas, aplicando los marcadores incluidos en esta serie, se observó una sensibilidad elevada para cinco de éstos (P27, CD44s, CD44v6, TPO y HBME-1); por otro lado los valores obtenidos en el cálculo de la especificidad mostraron resultados superiores a 90 en once de los veinte marcadores estudiados, si bien sólo en dos de éstos se obtuvo una sensibilidad y precisión diagnóstica también aumentada (HBME-1 y KS) (Tabla 80).

Marcador	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN	Precisión
<b>IMP 3</b>	35.5	90.4	53.7	81.7	77.3
<b>CITED-1</b>	29.8	96.3	71.1	81.6	80.6
<b>Ciclina D1</b>	60.7	75.4	42.8	86.3	71.9
<b>Ciclina E</b>	7.6	99.2	75.0	78.1	78.1
<b>P27</b>	67.8	36.7	24.5	79.0	44.0
<b>P53</b>	27.7	89.3	44.0	90.4	75.1
<b>P63</b>	8.3	99.2	76.9	78.2	78.1
<b>PARP-1</b>	20.0	87.3	32.4	78.1	71.5
<b>PARP-1c</b>	15.8	96.9	61.3	79.0	78.0
<b>TPO</b>	61.5	80.2	48.7	87.2	75.7
<b>COX-2</b>	21.4	69.4	72.4	19.1	31.5
<b>Galectina-3</b>	37.4	96.2	75.4	83.3	82.4
<b>CD44s</b>	66.7	58.0	32.5	85.1	60.0
<b>CD44v6</b>	61.6	78.5	42.3	84.2	72.2
<b>CD57</b>	23.0	91.5	45.2	79.6	75.6
<b>E-cadherina</b>	11.7	97.4	58.3	78.3	77.3
<b>β-catenina</b>	31.1	80.0	32.5	79.1	68.5
<b>HBME-1</b>	<b>52.9</b>	<b>96.8</b>	<b>82.9</b>	<b>87.4</b>	<b>86.7</b>
<b>Queratán sulfato</b>	<b>45.0</b>	<b>97.7</b>	<b>85.7</b>	<b>85.3</b>	<b>85.4</b>
<b>CK19</b>	47.5	89.0	56.9	84.8	79.3
<b>Ki67</b>	46.7	91.9	64.0	84.7	81.2

Tabla 80 Sensibilidad, especificidad, VPP, VPN y precisión de la técnica en el diagnóstico diferencial entre patología benigna y maligna. Valores en porcentaje (%).



#### 4.4 Hallazgos por grupos de patología.

##### 4.4.1 Lesiones papilares

En el análisis de los diferentes marcadores estudiados en función del tipo histológico de carcinoma papilar se observó una tendencia incrementada en la expresión de la mayoría de los marcadores que están relacionados con la transformación neoplásica, tales como IMP-3, CITED-1 y P53, en aquellas variantes que implican mayor agresividad (CPTvca) o estadio más avanzado (MCPT), observándose una pérdida de expresión tanto de la TPO como de la E-Cadherina en estos casos con significación estadística ( $p=0,001$  y  $p=0,020$  respectivamente) (Tabla 81). En el caso del CPTvf se apreció una preservación de la expresión inmunohistoquímica de forma mayoritaria tanto para la TPO como para la E-cad.

Marcadores	MiCPT	CPTc	CPTvf	CPTvca	MCPT	p	$\chi^2$
<b>IMP3</b>	9/29 (31%)	2/18 (11,1%)	7/15 (46%)	7/9 (77,8%)	4/10 (40%)	<b>0.015</b>	<b>12.304</b>
<b>CITED1</b>	6/30 (20%)	6/19 (31,6%)	3/15 (20%)	8/11 (72,7%)	5/10 (50%)	<b>0.013</b>	<b>12.600</b>
<b>Ciclina D1</b>	15/30 (50%)	12/18 (66,7%)	8/15 (53,3%)	9/11 (81,8%)	9/10 (90%)	0.086	8.171
<b>Ciclina E</b>	0/30 (0%)	2/17 (11,8%)	1/15 (6,7%)	0/11 (0%)	3/10 (30%)	<b>0.024</b>	<b>11.204</b>
<b>P27</b>	10/30 (33,4%)	5/18 (27,8%)	3/15 (20%)	3/11 (27,3%)	5/10 (50%)	0.585	2.841
<b>P53</b>	4/30 (13,3%)	3/18 (16,7%)	1/15 (6,7%)	4/9 (44,4%)	7/10 (70%)	<b>0.001</b>	<b>18.601</b>
<b>p63</b>	1/30 (3,3%)	5/18 (27,8%)	0/15 (0%)	1/8 (12,5%)	3/10 (30%)	<b>0.024</b>	<b>11.201</b>
<b>PARP-1</b>	6/30 (20%)	1/18 (5,6%)	1/14 (6,7%)	1/9 (11,1%)	2/10 (20%)	0.489	2.981
<b>PARP-1c</b>	3/30 (10%)	4/18 (22,3%)	3/15 (20%)	1/8 (12,5%)	2/10 (20%)	<i>0,757</i>	<i>1,687</i>
<b>TPO</b>	17/30 (56,6%)	7/19 (42,1%)	11/15 (73,3%)	0/10 (0%)	1/10 (10%)	<b>0.001</b>	<b>19.700</b>
<b>COX-2</b>	23/30 (76,7%)	13/18 (72,2%)	8/15 (53,3%)	7/11 (63,6%)	8/10 (80%)	<i>0.791</i>	<i>2.581</i>
<b>Gal-3</b>	8/30 (26,7%)	11/18 (61,1%)	5/14 (35,7%)	8/9 (88,9%)	9/10 (90%)	<b>0.001</b>	<b>19.701</b>
<b>CD44s</b>	18/30 (58,6%)	14/18 (77,8%)	13/15 (86,7%)	9/9 (100%)	8/10 (80%)	0.075	8.510
<b>CD44v6</b>	13/29 (44,8%)	8/19 (42,1%)	8/15 (53,3%)	6/10 (60%)	7/10 (70%)	0.585	2.843
<b>CD57</b>	3/30 (10%)	4/18 (22,2%)	3/15 (20%)	4/11 (36,7%)	4/10 (40%)	0.232	5.590
<b>E-cad</b>	27/29 (93,1%)	16/18 (88,9%)	15/15 (100%)	6/10 (60%)	7/10 (70%)	<b>0.020</b>	<b>11.703</b>
<b>B-cat.</b>	11/30 (36,7%)	7/19 (36,8%)	5/15 (33,3%)	1/10 (10%)	2/10 (20%)	0.490	3.420
<b>HBME-1</b>	14/29 (48,3%)	14/18 (77,8%)	8/15 (53,3%)	9/9 (100%)	8/10 (80%)	<b>0.015</b>	<b>12.301</b>
<b>KS</b>	11/29 (38%)	14/18 (77,8%)	6/15 (40%)	10/11(90%)	8/10 (80%)	<b>0.002</b>	<b>16.654</b>
<b>CK19</b>	11/29 (38%)	12/18 (66,7%)	8/15 (53,3%)	8/11 (72,7%)	8/10 (80%)	0.106	7.630
<b>Ki67</b>	11/30 (36,7%)	8/18 (44,4%)	4/11 (26,7%)	5/11 (45,5%)	6/10 (60%)	0.787	1.720

Tabla 81. Expresión inmunohistoquímica en los tumores papilares. *Valor en cursiva: p calculado según test de Fisher*

## Resultados.

Dos de los marcadores clásicamente relacionados con el pronóstico, como son la P53 y el Ki67, mostraron un perfil de expresión inmunohistoquímica en directa asociación con el pronóstico de las diferentes variantes. En el caso de la expresión de P53 el porcentaje de positividad fue más bajo en el micCPT, CPTc y el CPTvf con respecto a los grupos de CPTvca y MCPT. La expresión de Ki67 fue mayor en el MCPT, similar en el CPTc y el CPTvca, reduciéndose notablemente en el CPTvf (Tabla 81).

Marcadores	CPT encaps	CPT no encaps	p	$\chi^2$
<b>IMP3</b>	4/7 (57,1%)	25/72 (34,7%)	<i>0.248</i>	<i>1.449</i>
<b>CITED1</b>	1/7 (14,3%)	27/76 (35,5%)	<i>0.414</i>	<i>1.294</i>
<b>Ciclina D1</b>	3/7 (42,9%)	49/75 (65,3%)	<i>0.253</i>	<i>1.394</i>
<b>Ciclina E</b>	0/7 (0%)	6/72 (8,3%)	<i>1</i>	<i>0.631</i>
<b>P27</b>	2/7 (28,6%)	24/75 (32%)	<i>1</i>	<i>0,035</i>
<b>P53</b>	0/7 (0%)	19/73 (26%)	<i>0.188</i>	<i>2.389</i>
<b>p63</b>	0/7 (0%)	11/72 (13,9%)	<i>0.587</i>	<i>1.096</i>
<b>PARP-1</b>	0/7 (0%)	11/73 (15,1%)	<i>0.585</i>	<i>1.223</i>
<b>PARP-1c</b>	2/7	11/73 (15,1)	<i>0,318</i>	<i>0,856</i>
<b>TPO</b>	5/7 (71,4%)	27/75 (46%)	<i>0.104</i>	<i>3.377</i>
<b>COX</b>	3/7 (42,9%)	55/75 (73,3%)	<i>0.186</i>	<i>2.872</i>
<b>Gal-3</b>	1/6 (16,7%)	40/73 (54,8%)	<i>0.100</i>	<i>3.229</i>
<b>CD44s</b>	7/7 (100%)	54/73 (74%)	<i>0.188</i>	<i>2.389</i>
<b>CD44v6</b>	4/7 (57,1%)	37/74 (50%)	<i>1</i>	<i>0.131</i>
<b>CD57</b>	1/7 (14,3%)	17/75 (22,7%)	<i>1</i>	<i>0.262</i>
<b>E-cad</b>	7/7 (100%)	63/74 (85,1%)	<i>0.585</i>	<i>1.204</i>
<b><math>\beta</math>-catenina</b>	1/7 (14,3%)	25/75 (33,3%)	<i>0.422</i>	<i>1.078</i>
<b>HBME-1</b>	3/7 (42,9%)	49/72 (68,1%)	<i>0.222</i>	<i>1.801</i>
<b>KS</b>	3/7 (42,9%)	43/73 (58,9%)	<i>0.451</i>	<i>0.673</i>
<b>CK19</b>	6/7 (85,7%)	41/74 (55,4%)	<i>0.229</i>	<i>2.412</i>
<b>Ki67</b>	3/7 (42,9%)	31/75 (41,3%)	<i>1</i>	<i>0.613e-02</i>

Tabla 82 Expresión inmunohistoquímica según el patrón encapsulado del CPT  
 Valor en cursiva: p calculado según test de Fisher

Al comparar los grupos de lesiones encapsuladas y no encapsuladas en el CPT se observó un predominio de la expresión inmunohistoquímica en la mayoría de los marcadores en las lesiones encuadradas dentro del apartado de CPT no encapsulado.

Dentro del grupo de marcadores que reflejan la diferenciación celular se apreció una diferencia poco significativa entre el grupo de CPT encapsulado y no encapsulado, con una mayor expresión tanto de la TPO como de la E-cad en el primero, en el caso de la P27 no se apreciaron diferencias.

Por otro lado, tanto la Gal-3 como la HBME-1 como el KS mostraron mayor expresión en las lesiones no encapsuladas con respecto a las lesiones encapsuladas, al contrario que lo observado con la CK19, mostrando sólo en el caso de la Gal-3 una diferencia poco significativa entre los dos grupos ( $p=0,100$ ); en el resto de marcadores inmunohistoquímicos no se observaron, igualmente, diferencias estadísticamente significativas (Tabla 82).

Marcadores	CPT met	CPT no met	p	$\chi^2$
<b>IMP-3</b>	4/11 (36,4%)	12/31 (38,7%)	1	<i>0,189e-01</i>
<b>CITED 1</b>	7/13 (53,8%)	10/32 (31,3%)	0,156	2,008
<b>Ciclina D1</b>	8/12 (66,7%)	21/32 (65,6%)	1	<i>0,421e-02</i>
<b>Ciclina E</b>	1/11 (9,1%)	2/32 (6,3%)	1	<i>0,102</i>
<b>P27</b>	3/12 (25%)	8/32 (25%)	1	<i>0,00</i>
<b>P53</b>	2/11 (18,2%)	6/31 (19,4%)	1	<i>0,725e-02</i>
<b>p63</b>	2/11 (18,2%)	4/31 (12,9%)	<i>0,643</i>	<i>0,185</i>
<b>PARP-1</b>	2/11 (18,2%)	1/31 (3,2%)	<i>0,163</i>	<i>2,743</i>
<b>PARP-1c</b>	2/11 (18,2%)	6/31 (19,4%)	1	<i>0,725e-02</i>
<b>TPO</b>	0/13 (0%)	16/31 (51,6%)	<b>0,001</b>	<b>10,544</b>
<b>COX</b>	9/12 (75%)	19/32 (59,4%)	<i>0,487</i>	<i>0,921</i>
<b>Gal-3</b>	9/11 (81,8%)	15/30 (50%)	<i>0,085</i>	<i>3,357</i>
<b>CD44s</b>	9/11 (81,8%)	27/31 (87,1%)	<i>0,674</i>	<i>0,185</i>
<b>CD44v6</b>	5/12 (41,7%)	17/32 (53,1%)	0,498	0,458
<b>CD57</b>	3/12 (25%)	8/32 (25%)	1	<i>0,00</i>
<b>E-cad</b>	9/12 (75%)	28/31 (96,9%)	<i>0,325</i>	<i>1,693</i>
<b>B-catenina</b>	4/12 (33,3%)	9/32 (28,1%)	<i>0,727</i>	<i>0,114</i>
<b>HBME-1</b>	9/11 (81,8%)	22/31 (71%)	<i>0,696</i>	<i>0,494</i>
<b>KS</b>	9/12 (75%)	20/31 (64,5%)	0,720	0,433
<b>CK19</b>	7/12 (53,8%)	21/32 (65,6%)	0,732	0,201
<b>Ki67</b>	4/12 (33,3%)	13/32 (40,6%)	0,658	0,196

Tabla 83. Expresión inmunohistoquímica según el perfil metastático  
 Valor en cursiva: p calculado según test de Fisher

## Resultados.

En nuestra muestra se observó que el 28,8% de los casos con CPT presentaba en el momento de la intervención metástasis ganglionares.

Del total de las lesiones neoplásicas papilares incluidas en el estudio se segregaron los miCPT y las metástasis de CPT, quedando un total de 45 casos. Estos casos se dividieron en dos grupos de acuerdo a la presencia o ausencia de metástasis ganglionares y se comparó la expresión inmunohistoquímica de los marcadores analizados en este estudio. Los valores obtenidos se encuentran reflejados en la tabla 83. De todos estos destacó la ausencia total de expresión de la TPO en los casos de CPT con metástasis, siendo una diferencia estadísticamente significativa ( $p=0,0014$ ). El resto de marcadores no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes grupos.

Marcadores	CPTc	CPTvf	p	$\chi^2$
<b>IMP3</b>	2/18 (11,1%)	7/15 (46%)	<b>0,047</b>	5,210
<b>CITED1</b>	6/19 (31,6%)	3/15 (20%)	0,697	0,577
<b>Ciclina D1</b>	12/18 (66,7%)	8/15 (53,3%)	0,435	0,609
<b>Ciclina E</b>	2/17 (11,8%)	1/15 (6,7%)	1	0,244
<b>P27</b>	5/18 (27,8%)	3/15 (20%)	0,699	0,269
<b>P53</b>	3/18 (16,7%)	1/15 (6,7%)	0,607	0,768
<b>p63</b>	5/18 (27,8%)	0/15 (0%)	<b>0,049</b>	4,911
<b>PARP-1</b>	1/18 (5,6%)	1/14 (6,7%)	1	0,339e-01
<b>PARP-1c</b>	4/18 (22,3%)	3/15 (20%)	1	0,0242e-01
<b>TPO</b>	7/19 (42,1%)	11/15 (73,3%)	<b>0,034</b>	4,481
<b>COX-2</b>	13/18 (72,2%)	8/15 (53,3%)	0,261	1,260
<b>Gal-3</b>	11/18 (61,1%)	5/14 (35,7%)	0,154	2,030
<b>CD44s</b>	14/18 (77,8%)	13/15 (86,7%)	0,665	0,435
<b>CD44v6</b>	8/19 (42,1%)	8/15 (53,3%)	0,515	0,424
<b>CD57</b>	4/18 (22,2%)	3/15 (20%)	1	0,242e-01
<b>E-cad</b>	16/18 (88,9%)	15/15 (100%)	0,489	1,77
<b>B-cat.</b>	7/19 (36,8%)	5/15 (33,3%)	0,832	0,452e-01
<b>HBME-1</b>	14/18 (77,8%)	8/15 (53,3%)	0,138	2,200
<b>KS</b>	14/18 (77,8%)	6/15 (40%)	<b>0,027</b>	4,891
<b>CK19</b>	12/18 (66,7%)	8/15 (53,3%)	0,435	0,609
<b>Ki67</b>	8/18 (44,4%)	4/11 (26,7%)	0,717	0,184

Tabla 84 Relación de la expresión de los marcadores inmunohistoquímicos en el grupo de casos de CPTc frente al CPTvf Relación de la expresión de los marcadores inmunohistoquímicos en el grupo de casos de CPTc frente al CPTvf

Marcadores	MiCPT	CPTvf	p	$\chi^2$
<b>IMP3</b>	9/29 (31%)	7/15 (46%)	0,307	1,04
<b>CITED1</b>	6/30 (20%)	3/15 (20%)	1	<i>0,001e-09</i>
<b>Ciclina D1</b>	15/30 (50%)	8/15 (53,3%)	0,833	0,445e-01
<b>Ciclina E</b>	0/30 (0%)	1/15 (6,7%)	0,333	<i>2,05</i>
<b>P27</b>	10/30 (33,4%)	3/15 (20%)	0,492	<i>0,865</i>
<b>P53</b>	4/30 (13,3%)	1/15 (6,7%)	0,651	<i>0,450</i>
<b>p63</b>	1/30 (3,3%)	0/15 (0%)	1	<i>0,511</i>
<b>PARP-1</b>	6/30 (20%)	1/14 (6,7%)	0,401	<i>1,18</i>
<b>PARP-1c</b>	3/30 (10%)	3/15 (20%)	0,384	<i>0,865</i>
<b>TPO</b>	17/30 (56,6%)	11/15 (73,3%)	0,277	1,18
<b>COX-2</b>	23/30 (76,7%)	8/15 (53,3%)	0,172	<i>2,54</i>
<b>Gal-3</b>	8/30 (26,7%)	5/14 (35,7%)	0,724	<i>0,375</i>
<b>CD44s</b>	18/30 (58,6%)	13/15 (86,7%)	0,094	<i>3,32</i>
<b>CD44v6</b>	13/29 (44,8%)	8/15 (53,3%)	0,592	0,287
<b>CD57</b>	3/30 (10%)	3/15 (20%)	0,384	<i>0,865</i>
<b>E-cad</b>	27/29 (93,1%)	15/15 (100%)	0,540	<i>1,08</i>
<b>B-cat.</b>	11/30 (36,7%)	5/15 (33,3%)	0,826	0,485e-01
<b>HBME-1</b>	14/29 (48,3%)	8/15 (53,3%)	0,750	0.101
<b>KS</b>	11/29 (38%)	6/15 (40%)	0,894	0,178e-01
<b>CK19</b>	11/29 (38%)	8/15 (53,3%)	0,328	0,956
<b>Ki67</b>	11/30 (36,7%)	4/11 (26,7%)	1	<i>0,319e-03</i>

Tabla 85 Relación de la expresión de los marcadores inmunohistoquímicos en el grupo de casos de miCPT frente al CPTvf

En la valoración del patrón de expresión inmunohistoquímica del CPTvf respecto al CPTc se observó una diferencia estadísticamente significativa en la expresión de la TPO, la cual está más conservada en la variante folicular (73,3%). Asimismo, se aprecia una ausencia de expresión de la P63 así como un menor porcentaje de inmunotinción en el KS en el CPTvf respecto al CPTc. Por otro lado, se aprecia una expresión diferenciada del IMP-3 en los CPTvf frente a los CPTc, observándose un porcentaje de expresión en los primeros (46%) (Tabla 84) similar al observado en el grupo de los CFT (40%) (Tabla 18).

Resultados.

Marcadores	AF	CPTvf	p	$\chi^2$
<b>IMP3</b>	17/53 (32,1%)	7/15 (46%)	0,296	1,09
<b>CITED1</b>	8/52 (15,4%)	3/15 (20%)	0,699	0,181
<b>Ciclina D1</b>	34/53 (64,2%)	8/15 (53,3%)	0,447	0,579
<b>Ciclina E</b>	3/53 (5,7%)	1/15 (6,7%)	1	0,214e-01
<b>P27</b>	25/53 (47,2%)	3/15 (20%)	0,059	3,56
<b>P53</b>	16/52 (30,8%)	1/15 (6,7%)	0,091	3,57
<b>p63</b>	1/53 (1,9%)	0/15 (0%)	1	0,287
<b>PARP-1</b>	14/52 (26,9%)	1/14 (6,7%)	0,161	2,46
<b>PARP-1c</b>	6/52 (11,5%)	3/15 (20%)	0,407	0,717
<b>TPO</b>	45/50 (90%)	11/15 (73,3%)	0,194	2,69
<b>COX-2</b>	44/53 (83%)	8/15 (53,3%)	<b>0,017</b>	5,73
<b>Gal-3</b>	3/53 (5,7%)	5/14 (35,7%)	<b>0,008</b>	9,51
<b>CD44s</b>	34/52 (65,4%)	13/15 (86,7%)	0,199	5,52
<b>CD44v6</b>	24/52 (53,8%)	8/15 (53,3%)	0,624	0,241
<b>CD57</b>	18/53 (34%)	3/15 (20%)	0,361	1,07
<b>E-cad</b>	52/53(98,1%)	15/15 (100%)	1	0,287
<b>B-cat.</b>	15/53 (28,3%)	5/15 (33,3%)	0,753	0,143
<b>HBME-1</b>	6/53 (11,3%)	8/15 (53,3%)	<b>0,001</b>	12,6
<b>KS</b>	6/53 (11,3%)	6/15 (40%)	<b>0,019</b>	6,62
<b>CK19</b>	7/53 (13,2%)	8/15 (53,3%)	<b>0,003</b>	10,9
<b>Ki67</b>	16/53 (30,2%)	4/11 (26,7%)	0,728	0,162

Tabla 86 Relación de la expresión de los marcadores inmunohistoquímicos en el grupo de casos de AF frente al CPTvf

El patrón de expresión inmunohistoquímico de los casos agrupados dentro del diagnóstico de CPTvf y miCPT no mostraron estadísticamente diferencias significativas (Tabla 85).

El perfil de expresión unmunohistoquímico en los casos de AF frente a los CPTvf mostró un porcentaje superior en los marcadores de superficie celular (HBME-1 y KS) así como del citoesqueleto (CK19) en los casos diagnosticados dentro del CPTvf. Igualmente, la Gal-3 mostró un mayor nivel de expresión en el CPTvf respecto al AF, con suficiente significación estadística. Por el contrario se observó una expresión aumentada de la COX-2 en los AF respecto a los CPTvf con suficiente nivel de significación (Tabla 86)

Marcador	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN	Precisión
IMP 3	36,4	90,4	29,6	92,7	84,8
CITED-1	37,8	96,2	53,1	93,2	90,4
Ciclina D1	65,9	75,4	22,6	95,3	74,4
Ciclina E	7,32	99,2	50	91,2	90,6
P27	25	63,3	6,9	88,5	59,5
P53	19,1	89,3	16	91,2	82,6
P63	14,6	99,2	66,7	91,9	91,3
PARP-1	7,1	87,3	5,7	89,8	79,5
PARP-1c	19,1	96,9	40	91,8	89,4
TPO	60,9	80,1	24,1	95,2	78,4
COX-2	63,6	19,1	7,9	82,8	23,4
Galectina-3	<b>58,5</b>	<b>96,3</b>	<b>61,5</b>	<b>95,8</b>	<b>92,7</b>
CD44s	85,7	58	17,8	97,5	60,6
CD44v6	50	78,4	20,4	93,4	75,6
CD57	25	91,5	24,4	91,8	85
E-cadherina	13,9	97,4	37,5	91,2	89,2
$\beta$ -catenina	29,5	80,1	14,1	91,1	75
HBME-1	<b>73,8</b>	<b>96,8</b>	<b>70,4</b>	<b>97,2</b>	<b>94,6</b>
Queratán sulfato	<b>67,4</b>	<b>97,7</b>	<b>76,3</b>	<b>96,5</b>	<b>94,7</b>
CK19	63,6	89	38,9	95,7	86,5
Ki67	38,6	91,9	34,7	93,1	86,5

Tabla 87 Tabla resumen de la sensibilidad, especificidad, VPP, VPN, y precisión diagnóstica de los marcadores inmunohistoquímicos aplicados de forma individual en el diagnóstico diferencial entre CPT y la patología benigna.

La valoración de los diferentes marcadores empleados en el presente trabajo mostró en el diagnóstico diferencial de las lesiones benignas frente a los CPT una sensibilidad y especificidad adecuadas en tres de ellos (Gal-3, HBME-1, y KS) (Tabla 87).

Resultados.

Marcador	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN	Precisión
<b>IMP 3</b>	37.1	100	100	23.9	47.4
<b>CITED-1</b>	32.9	100	100	21.9	43.5
<b>Ciclina D1</b>	63.1	93.7	98.1	32.6	68.0
<b>Ciclina E</b>	7.4	100	100	16.7	21.9
<b>P27</b>	30.9	62.5	81.2	14.7	36.0
<b>P53</b>	23.2	100	100	19.2	35.0
<b>P63</b>	12.3	100	100	18.4	26.8
<b>PARP-1</b>	25.6	86.5	91.3	18.7	35.7
<b>PARP-1c</b>	15.8	94.1	92.7	18.8	29.3
<b>TPO</b>	40.5	93.7	97.1	23.1	49.0
<b>COX-2</b>	70.2	68.7	92.2	30.6	70.0
<b>Galectina-3</b>	50.6	100	100	28.6	58.8
<b>CD44s</b>	75.6	93.3	98.4	41.2	78.3
<b>CD44v6</b>	50.6	100	100	25.4	57.7
<b>CD57</b>	21.4	100	100	19.5	34
<b>E-cadherina</b>	15.3	93.3	91.7	18.7	28.7
<b><math>\beta</math>-catenina</b>	30.9	93.3	96.3	18.4	40.4
<b>HBME-1</b>	<b>65.4</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>34.9</b>	<b>70.8</b>
<b>Queratán sulfato</b>	<b>58.5</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>30.6</b>	<b>64.9</b>
<b>CK19</b>	63.6	93.7	96.5	48.4	71.7
<b>Ki67</b>	39.8	100	100	24.2	49.5

Tabla 88 Tabla resumen de la sensibilidad, especificidad, VPP, VPN, y precisión diagnóstica de los marcadores inmunohistoquímicos aplicados de forma individual en el diagnóstico diferencial entre CPT y tejido tiroideo normal.

El cálculo de la sensibilidad, especificidad, VPP, VPN y la precisión diagnóstica en la valoración del diagnóstico diferencial entre lesiones malignas papilares (integradas por el conjunto de variantes del CPT incluidas en esta serie) frente a los casos de tejido tiroideo normal mostró una sensibilidad muy elevada para la COX-2 y el CD44s; por otro lado, en el análisis de la especificidad se observó en 11 de estos marcadores un valor de 100, donde en dos de ellos (HBME-1 y KS) se apreció además una sensibilidad acompañante también



elevada. En cuanto a la precisión diagnóstica tanto el CD44s como el HBME-1 mostraron valores elevados. (Tabla 88)

## Resultados.

### 4.4.2 Lesiones foliculares

En el apartado de las lesiones foliculares se observó que los marcadores de diferenciación y función celular tales como la TPO, E-cad y la P27 mostraban una expresión conservada en el caso de las lesiones adenomatosas, con pérdida en la expresión de la TPO en el subgrupo de lesiones foliculares malignas ( $p=9,1e-07$ ). Por otro lado, la P27 presentó un rango de expresión intermedio, discretamente mayor para las lesiones adenomatosas (47,2%) frente a las lesiones foliculares malignas (38,7%) ( $p=0,810$ ), sin significación estadística.

Marcadores	AF	CFmi	CFai	p	$\chi^2$
<b>IMP3</b>	17/53 (32,1%)	9/19 (47,4%)	3/12 (25%)	0.366	2.010
<b>CITED-1</b>	8/52 (15,4%)	5/19 (26,3%)	4/13 (30,8%)	<i>0.306</i>	<i>2.091</i>
<b>Ciclina D1</b>	34/53 (64,2%)	13/19 (68,9%)	5/12 (41,7%)	0.281	2.541
<b>Ciclina E</b>	3/53 (5,7%)	1/19 (5,3%)	0/12 (0%)	<i>1</i>	<i>0.705</i>
<b>P27</b>	25/53 (47,2%)	7/18 (38,9%)	5/12 (41,7%)	0.810	0.421
<b>P53</b>	16/52 (30,8%)	7/18 (38,9%)	5/12 (41,7%)	0.689	0.746
<b>p63</b>	1/53 (1,9%)	0/19 (0%)	0/12 (0%)	<i>1</i>	<i>0.592</i>
<b>PARP-1</b>	14/52 (26,9%)	10/19 (52,6%)	2/12 (16,7%)	0.059	5.681
<b>PARP-1c</b>	6/52 (11,5%)	1/19 (5,3%)	2/12 (16,7%)	<i>0.589</i>	<i>1.060</i>
<b>TPO</b>	45/50 (90%)	9/18 (50%)	3/13 (23,1%)	<b><i>9,1e-07</i></b>	<b><i>26.796</i></b>
<b>COX-2</b>	44/53 (83%)	16/19 (84,2%)	10/13 (76,9%)	0.843	0.325
<b>Gal-3</b>	3/53 (5,7%)	2/19 (10,5%)	3/12 (25%)	<i>0.076</i>	<i>4.281</i>
<b>CD44s</b>	34/52 (65,4%)	8/19 (42,1%)	9/12 (75%)	0.118	4.270
<b>CD44v6</b>	24/52 (53,8%)	11/19 (57,9%)	7/12 (58,3%)	0.576	1.100
<b>CD57</b>	18/53 (34%)	5/19 (26,3%)	3/12 (25%)	0.735	0.615
<b>E-cad</b>	52/53(98,1%)	19/19 (100%)	11/12 (91,7%)	<i>0.316</i>	<i>2.351</i>
<b><math>\beta</math>-catenina</b>	15/53 (28,3%)	6/19 (31,6%)	2/12 (16,7%)	0.643	0.884
<b>HBME-1</b>	6/53 (11,4%)	3/19 (15,8%)	6/12 (50%)	<b><i>0.009</i></b>	<b><i>10.100</i></b>
<b>KS</b>	6/53 (11,4%)	2/19 (10,5%)	4/12 (33,3%)	<i>0.153</i>	<i>4.160</i>
<b>CK19</b>	7/53 (13,2%)	7/19 (36,8%)	2/13 (15,4%)	<i>0.092</i>	<i>5.230</i>
<b>Ki67</b>	16/53 (30,2%)	11/18 (61,1%)	8/13 (61,5%)	<b>0.020</b>	<b>7.780</b>

Tabla 89. Perfil inmunohistoquímico en las lesiones foliculares

AF: Adenoma folicular; CFTmi: Carcinoma folicular mínimamente invasivo; CFTai: Carcinoma folicular ampliamente invasivo  
 Valor en cursiva: p calculado según test de Fisher

Asimismo, los marcadores inmunohistoquímicos clásicamente asociados a las lesiones papilares tales como la Gal-3, CK19, HBME-1 y el KS mostraron una expresión muy baja con un discreto repunte en las lesiones clasificadas dentro del subgrupo de los CFai, tanto para el KS, la Gal-3 y el HBME-1 (siendo estadísticamente significativo para éste último:  $p=0,009$ ).

Tanto la expresión de P53, CITED-1 como de IMP-3 no mostraron un perfil diferenciador significativo entre los diferentes subgrupos de las lesiones foliculares; por el contrario la expresión de Ki-67 si mostró un patrón mayor en las lesiones malignas con suficiente significación estadística ( $p=0,020$ ) (Tabla 89).

Marcadores	CFTmi	FCTai	CFTvo mi	CFTvo ai	p	$\chi^2$
IMP-3	5/13	2/8	4/6	1/4	0.447	0.793
CITED-1	3/13	2/9	2/6	2/4	0.407	1.010
Ciclina D1	10/13	4/8	3/6	1/4	0.247	1.980
Ciclina E	1/13	0/8	0/6	0/4	N/A	N/A
P27	4/13	3/8	3/5	2/4	0.418	1.300
P53	3/13	4/8	4/5	1/4	0.418	1.301
p63	0/13	0/8	0/6	0/4	N/A	N/A
PARP-1	6/13	2/8	4/6	0/4	1	0.104e-01
PARPc-1	1/13	1/8	0/6	1/4	0.467	0.176e-02
TPO	6/13	1/9	3/5	2/4	0.218	1.520
COX-2	11/13	6/9	5/6	4/4	0.637	0.731
Gal-3	<b>0/13</b>	<b>1/8</b>	<b>2/6</b>	<b>2/4</b>	<b>0.026</b>	<b>6.220</b>
CD44s	8/13	6/8	0/6	3/4	0.121	3.680
CD44v6	9/13	5/8	2/6	2/4	0.247	1.981
CD57	3/13	3/9	2/6	0/3	1	0.194
E-cad	13/13	8/8	6/6	3/4	N/A	N/A
$\beta$ -catenina	<b>2/13</b>	<b>0/8</b>	<b>4/6</b>	<b>2/4</b>	<b>0.006</b>	<b>9.010</b>
HBME-1	3/13	3/8	0/6	3/4	1	0.671e-02
KS	2/13	2/8	0/6	2/4	0.365	0.394e-02
CK19	6/13	0/9	1/6	2/4	1	0.253e-01
Ki67	7/13	6/9	4/5	2/4	0.662	0.615e-01

Tabla 90 Expresión de los diferentes marcadores inmunohistoquímicos en relación con las lesiones foliculares incluidas en el estudio.

CFT mi: Carcinoma folicular mínimamente invasivo; CFT ai: Carcinoma folicular ampliamente invasivo

CFTvo mi: Carcinoma folicular mínimamente invasivo, variante oncocítica; CFTvo ai: Carcinoma folicular ampliamente invasivo, variante oncocítica. La valoración del valor p se realizó agrupando los casos en función de la variable presencia o no del patrón oncocítico. Valor en cursiva: p calculado según test de Fisher N/A: Test de Fisher no aplicable

## Resultados.

Dentro del grupo de los casos de CFT fueron segregados aquellos que presentaban un patrón oncocítico valorándose su perfil inmunohistoquímico, observándose una mayor expresión, estadísticamente significativa, tanto en la Gal-3 como en la  $\beta$ -catenina (Tabla 90).

<b>Marcador</b>	<b>Sensibilidad</b>	<b>Especificidad</b>	<b>VPP</b>	<b>VPN</b>	<b>Precisión</b>
<b>IMP 3</b>	<b>60.0</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>57.1</b>	<b>73.9</b>
<b>CITED-1</b>	29.0	100	100	42.1	53.2
<b>Ciclina D1</b>	56.7	93.7	94.4	53.6	69.6
<b>Ciclina E</b>	3.3	100	100	34.1	35.5
<b>P27</b>	58.6	37.5	62.9	33.3	51.1
<b>P53</b>	41.4	100	100	46.9	61.4
<b>P63</b>	0.0	100	---	37.8	34.8
<b>PARP-1</b>	40.0	87.5	85.7	43.7	56.5
<b>PARP-1c</b>	10.0	94.4	75.0	38.6	41.6
<b>TPO</b>	53.4	93.7	94.1	51.7	67.4
<b>COX-2</b>	<b>83.9</b>	<b>68.7</b>	<b>83.9</b>	<b>68.7</b>	<b>78.7</b>
<b>Galectina-3</b>	16.7	100	100	39.0	45.6
<b>CD44s</b>	53.3	93.3	94.1	50.0	66.7
<b>CD44v6</b>	58.1	100	100	51.8	71.1
<b>CD57</b>	29.0	100	100	42.1	53.2
<b>E-cadherina</b>	3.3	93.3	50	32.6	33.3
<b><math>\beta</math>-catenina</b>	26.7	93.3	88.9	38.9	48.9
<b>HBME-1</b>	26.7	100	100	40.5	51.1
<b>Queratán sulfato</b>	19.3	100	100	37.5	45.6
<b>CK19</b>	29.0	87.5	81.8	38.9	48.9
<b>Ki67</b>	<b>60.0</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>57.1</b>	<b>73.9</b>

Tabla 91 Tabla resumen de la sensibilidad, especificidad, VPP, VPN, y precisión diagnóstica de los marcadores inmunohistoquímicos aplicados de forma individual en el diagnóstico diferencial entre CFT y tejido tiroideo normal

La valoración de los marcadores incluidos en esta serie en el diagnóstico diferencial entre las lesiones foliculares malignas y el tejido tiroideo normal mostró una sensibilidad elevada en tres de los marcadores (IMP-3, COX-2 y Ki67), asimismo se observó una

especificidad con un valor de 100% en el caso de nueve de estos marcadores, coincidiendo con una sensibilidad y precisión diagnóstica igualmente elevada en dos de ellos (IMP-3 y Ki67) (Tabla 91).

<b>Marcador</b>	<b>Sensibilidad</b>	<b>Especificidad</b>	<b>VPP</b>	<b>VPN</b>	<b>Precisión</b>
<b>IMP 3</b>	40	90,4	24	95,2	86,8
<b>CITED-1</b>	29,1	96,3	37,5	94,6	91,4
<b>Ciclina D1</b>	56,7	75,4	14,7	95,9	74,1
<b>Ciclina E</b>	3,4	99,2	25	93,1	92,5
<b>P27</b>	41,4	63,2	7,5	93,7	61,8
<b>P53</b>	41,4	89,3	22,2	95,4	86,1
<b>P63</b>	0	99,2	0	92,9	92,3
<b>PARP-1</b>	40	87,3	19,3	95	83,9
<b>PARP-1c</b>	10	96,9	20	93,4	90,8
<b>TPO</b>	60	80,1	18,6	96,4	78,7
<b>COX-2</b>	83,9	19,1	7,4	93,9	23,7
<b>Galectina-3</b>	16,7	96,2	25	93,9	90,7
<b>CD44s</b>	53,3	57,9	8,8	94,3	57,6
<b>CD44v6</b>	56,6	78,4	16,5	96,1	76,9
<b>CD57</b>	26,7	91,5	19,1	94,4	87,1
<b>E-cadherina</b>	3,3	97,4	9,1	92,9	90,7
<b>β-catenina</b>	26,7	80	9,2	93,5	76,3
<b>HBME-1</b>	26,7	96,8	38,1	94,6	91,9
<b>Queratán sulfato</b>	19,3	97,7	40	93,9	91,9
<b>CK19</b>	29,1	89	16,9	94,2	84,7
<b>Ki67</b>	<b>60</b>	<b>91,9</b>	<b>36</b>	<b>96,8</b>	<b>89,6</b>

Tabla 92 Tabla resumen de la sensibilidad, especificidad, VPP, VPN, y precisión diagnóstica de los marcadores inmunohistoquímicos aplicados de forma individual en el diagnóstico diferencial entre CFT y el grupo de casos integrados bajo el epígrafe de Patología benigna.

En el análisis del diagnóstico diferencial entre el grupo de casos con el diagnóstico de CFT frente al conjunto de los casos de patología benigna se observó una especificidad superior al 85% en 13 marcadores, de éstos sólo uno (Ki67) presentó una sensibilidad superior al 50% (Tabla 92).

#### 4.4 Analisis logístico multinomial.

De los 20 marcadores examinados 10 mostraron en el examen bivalente una distribución desigual entre los grupos de adenoma folicular (AF), carcinoma folicular de tiroides (CFT) y carcinoma papilar (CPT). A continuación se detalla de forma individualizada su resultado.

En el caso de la tiroperoxidasa (TPO) se observó, tras la ejecución del modelo de regresión logística multinomial, una mayor probabilidad de presencia de este marcador en el AF que en los dos tipos de carcinomas ( $P < 0.001$ )

Tiroperoxidasa			e.e.	Riesgo	Sig.
<b>CFT</b>	<b>1.281280</b>	<b>-2.60285</b>	0.6009909	0.07	$P < 0.001$
<b>CPT</b>	<b>2.303138</b>	<b>-2.58363</b>	0.5212756	0.07	$P < 0.001$

Tabla 93. Modelo de regresión logística multinomial para la TPO

Para la galectina 3 (Gal-3) este test mostró una expresión 3.34 veces más probable en los CFT respecto a los AF aunque sin significación estadística ( $P = 0.12$ ), siendo mucho mayor en el caso de los CPT donde se objetivó una mayor probabilidad de expresión de la Gal-3 (17.09) frente a los AF con significación estadística ( $P = 0.001$ ). Por tanto, la expresión de la Gal-3 se asocia fuertemente a los casos de CPT.

Galectina-3			e.e.	Riesgo	Sig.
<b>CFT</b>	<b>-0.6932198</b>	<b>1.204589</b>	0.7703640	3.34	0.12
<b>CPT</b>	<b>-0.2231827</b>	<b>2.838603</b>	0.6347202	17.09	$P < 0.001$

Tabla 94. Modelo de regresión logística multinomial para la Galectina-3

La valoración de la E-cadherina (E-cad) mostró que su expresión es aproximadamente la mitad de probable (0.56), en los CFT respecto a los AF pero sin significación estadística ( $P = 0.68$ ); en el caso de los CPT la probabilidad es aún menor: 0.12 ( $P = 0.05$ ) y, por tanto, la ausencia de expresión de dicho marcador se asocia notablemente al diagnóstico de CPT.

<b>E-cadherina</b>		e.e.	Riesgo	Sig.
<b>CFT</b>	<b>0.0008000279 -0.5847949</b>	1.433659	0.56	0.68
<b>CPT</b>	<b>2.3992780922 -2.0878364</b>	1.060869	0.12	0.05

Tabla 95. Modelo de regresión logística multinomial para la E-Cadherina

Tras la valoración de la PARP se constató una mayor probabilidad de expresión, 1.81, en las lesiones de CFT en relación al AF aunque sin significación estadística (P=0.22), disminuyendo sensiblemente en el caso del CPT donde la probabilidad de expresión o riesgo disminuyó al 0.41 con una significación estadística (P=0.05).

<b>PARP-1</b>		e.e.	Riesgo	Sig.
<b>CFT</b>	<b>-0.7472131 0.5930646</b>	0.486450	1.81	0.22
<b>CPT</b>	<b>0.6250938 -0.8662462</b>	0.450264	0.42	0.05

Tabla 96. Modelo de regresión logística multinomial para la PARP

A pesar de obtenerse un resultado llamativo, con un riesgo muy alto en los casos con tinción positiva para la p63 de ser diagnosticados como CFT frente al diagnóstico de AF (768.29), ese riesgo tan elevado es producto de pocos casos. Como se recoge en la siguiente tabla, de los 11 casos positivos todos ocurrieron en el CPT excepto uno en el AF, por tanto no es posible valorar los datos del modelo.

<b>Diagnóstico</b>	<b>p63 negativo</b>	<b>p63 positivo</b>
<b>AF</b>	52	1
<b>CFT</b>	30	0
<b>CPT</b>	72	10

<b>p63</b>		e.e.	Riesgo	Sig.
<b>CFT</b>	<b>-0.5500818 -6.644165</b>	36.521462	768.29	----
<b>CPT</b>	<b>0.3254137 1.977936</b>	1.064839	7.23	----

Tabla 97. Modelo de regresión logística multinomial para la p63

## Resultados.

La expresión de la citoqueratina 19 (CK19) fue 2.69 veces más probable en el caso de los CFT respecto a los AF, con un valor estadístico cercano a la significación ( $P=0.08$ ). Para el CPT la probabilidad fue mucho más alta, 8.58, con una significación estadística adecuada ( $P<0.001$ ).

<b>Citoqueratina 19</b>		e.e.	Riesgo	Sig.
<b>CFT</b>	<b>-0.7375756 0.988929</b>	0.5667115	2.69	0.08
<b>CPT</b>	<b>-0.2451052 2.149360</b>	0.4622265	8.58	$P<0.001$

Tabla 98. Modelo de regresión logística multinomial para la citoqueratina 19

La aplicación del modelo de regresión logística multinomial mostró que la expresión del Ki67 fue 3.47 veces más probable en el CFT respecto al AF con significación estadística ( $p=0.009$ ); en el caso de los CPT la expresión de Ki67 fue mayor que en los casos de AF, 1.57, si bien no alcanzó suficiente significación estadística. Por tanto, se puede concluir que la expresión del Ki67 se asocia a los casos con diagnóstico de CFT.

<b>ki67</b>		e.e.	Riesgo	Sig.
<b>CFT</b>	<b>-1.1259574 1.2437089</b>	0.4779259	3.47	0.009
<b>CPT</b>	<b>0.3010995 0.4526824</b>	0.3727445	1.57	0.23

Tabla 99. Modelo de regresión logística multinomial para el Ki-67

De forma similar a lo observado con la CK19, el HBME-1 mostró una mayor probabilidad de expresión en los casos de CFT frente a los AF (2.85) ascendiendo notablemente en el caso de los CPT, donde su expresión es 14.83 veces más probable en los casos de CPT frente a los AF con una significación estadística ( $P<0.001$ ), por lo que ante una expresión de este marcador debería pensarse, atendiendo a estos resultados, en la presencia de un CPT como el diagnóstico más probable.

<b>HBME-1</b>		e.e.	Riesgo	Sig.
<b>CFT</b>	<b>-0.7591273 1.046838</b>	0.5986635	2.85	0.08
<b>CPT</b>	<b>-0.5179409 2.696482</b>	0.4924702	14.83	$P<0.001$

Tabla 100. Modelo de regresión logística multinomial para el HBME-1

En el caso del queratán sulfato (KS), al igual que en otros marcadores previamente descritos (CK19, HBME-1, Gal-3), se constató una mayor probabilidad de expresión en las lesiones foliculares malignas respecto a las benignas, aunque de forma discreta (1.57) y sin



significación estadística ( $P=0.49$ ), aumentando notablemente en el caso de las lesiones malignas papilares donde se alcanzó una probabilidad de expresión 10.52 veces mayor en los CPT respecto a los AF ( $P<0.001$ ).

<b>Queratán sulfato</b>			e.e.	Riesgo	Sig.
<b>CFT</b>	<b>-0.6313599</b>	<b>0.4492045</b>	0.6541560	1.57	0.49
<b>CPT</b>	<b>-0.2947553</b>	<b>2.3531490</b>	0.4876404	10.52	$P<0.001$

Tabla 101. Modelo de regresión logística multinomial para el queratán sulfato

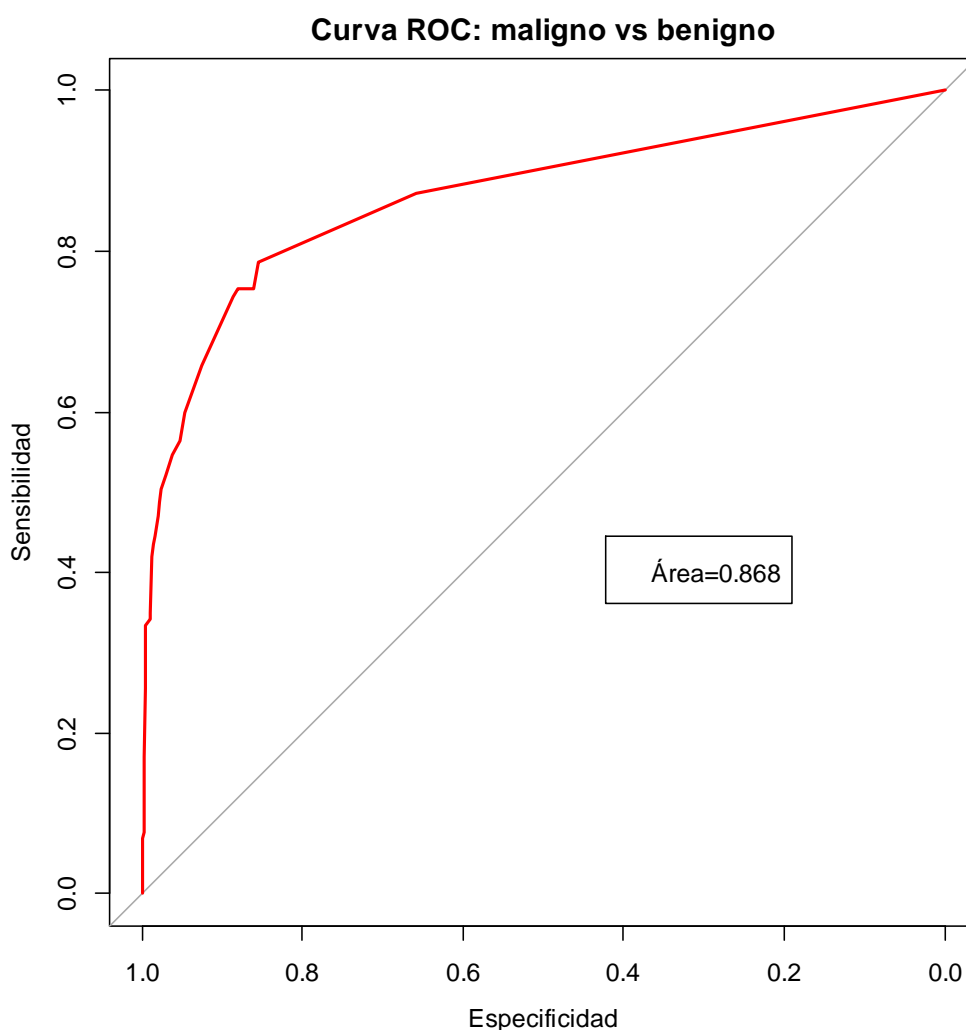
La expresión de CITED1 se asocia principalmente con CPT, con un riesgo de 2.70 con respecto al AF ( $p=0.03$ ). En el análisis del CFT respecto al AF a pesar de mostrar un riesgo incrementado (2.25) no alcanzó suficiente significación estadística ( $p=0.14$ ).

<b>CITED1</b>			e.e.	Riesgo	Sig.
<b>CFT</b>	<b>-0.6931474</b>	<b>0.8109407</b>	0.5516296	2.25	0.14
<b>CPT</b>	<b>0.2588627</b>	<b>0.9939197</b>	0.4483157	2.70	0.03

Tabla 102. Modelo de regresión logística multinomial para el CITED-1

#### 4.5 Analisis multivariante.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el punto anterior, y con el propósito de lograr la combinación de marcadores que mejor distinga entre el conjunto de entidades con diagnóstico benigno frente a aquellas con diagnóstico de malignidad, se realizó una curva ROC (*Receiver-Operating Characteristic*) en función de la expresión inmunohistoquímica de los marcadores estudiados y el diagnóstico dividido en patología benigna y maligna.

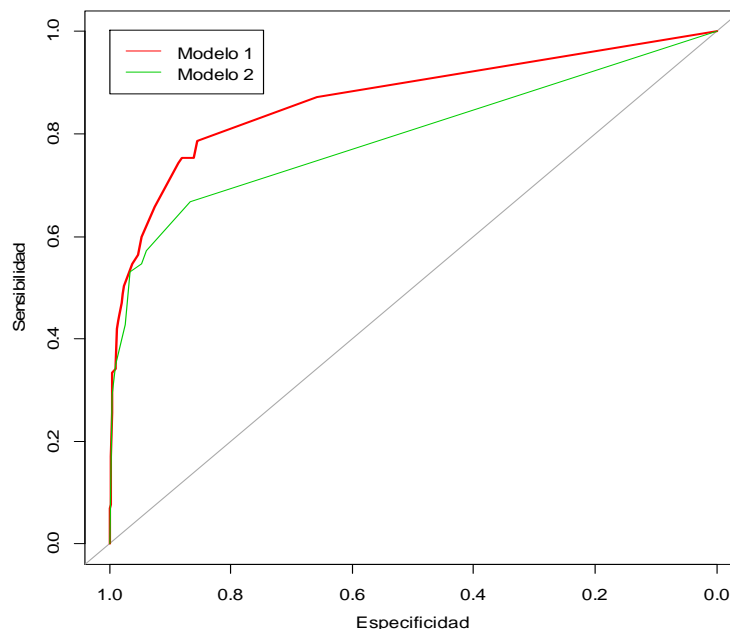


Gráfica 13 Curva ROC

Tras la combinación de todos los marcadores se obtuvo que la suma de cinco de éstos (**Galectina-3, HBME-1, Ki67, CITED1 y TPO**) lograban un área bajo la curva de 0,868. Para corregir el posible optimismo por el hecho de evaluar el modelo sobre los

mismos datos que sirvieron para construirlo, se procedió a un proceso de validación interna mediante la elección de 200 muestras bootstrap dando un valor corregido para el área bajo la curva ROC de **0.863**. Este resultado se puede interpretar como sigue: dadas muchas parejas de un tumor maligno y otro benigno, este modelo identificará acertadamente el tumor maligno en el 86.3% de las ocasiones, es decir, la capacidad discriminativa del modelo es del 86.3%.

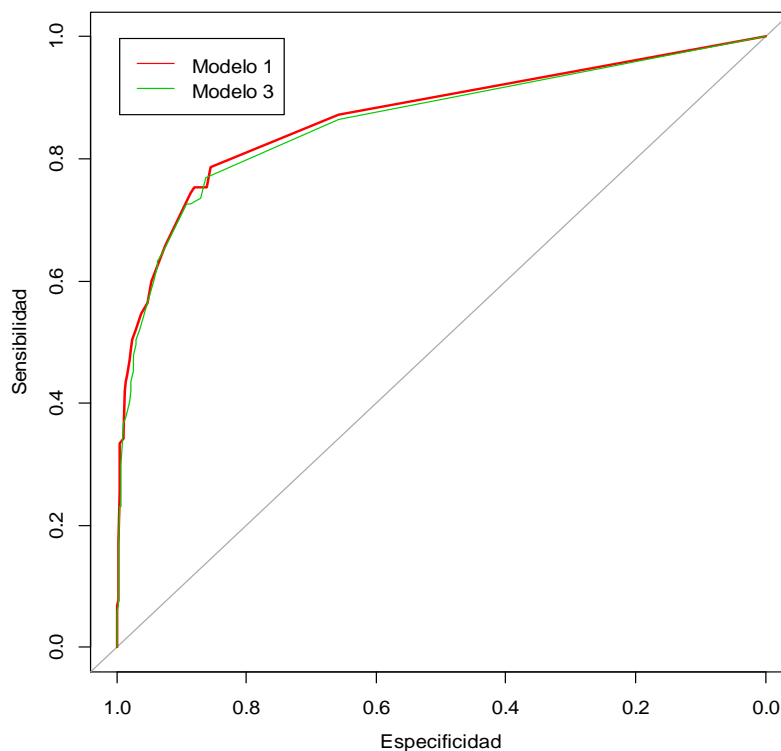
Con la finalidad de contrastar si este modelo es superior para predecir la situación de malignidad que el comunicado previamente en la literatura formado por la combinación de CK19, Gal-3 y HBME-1 (de Matos *et al.*, 2005; Barroeta *et al.*, 2006; Rossi *et al.*, 2006; Park *et al.*, 2007) se calcularon las áreas bajo sus correspondientes curvas ROC que fueron: **0.8685** con un IC al 95% de (0.8271 – 0.9099) para el modelo 1 constituido por la suma de (Gal-3, HBME-1, Ki67, CITED-1 y TPO) y **0.7945** con un IC al 95% (0.7467 – 0.8423) para el modelo 2 integrado por (CK19, Gal-3 y HBME-1). Comparando, mediante el test de DeLong, dichas áreas se obtuvo un valor p de 0.0002, lo que se puede interpretar como que el área bajo la curva ROC del primer modelo es estadísticamente mayor que la del segundo. En definitiva, el primer modelo discrimina mejor entre lesiones neoplásias malignas y lesiones benignas que el segundo modelo. En la siguiente figura aparecen las dos curvas correspondientes a dichos modelos.



Gráfica 14 Curva ROC

## Resultados.

De forma similar, se comparó el anterior modelo 1 con un nuevo modelo (llamado modelo 3) que tiene como predictoras las mismas que el modelo 1 pero sustituyendo **HBME-1** por **KS**; el área bajo la curva ROC de este nuevo modelo es de **0.8612** con un IC al 95% de (0.8188 – 0.9035). La comparación de las áreas de estos dos modelos, mediante el test citado anteriormente, da un valor p de 0.2352, lo que se interpreta como la ausencia de evidencias para decir que los dos modelos discriminan de manera diferente.

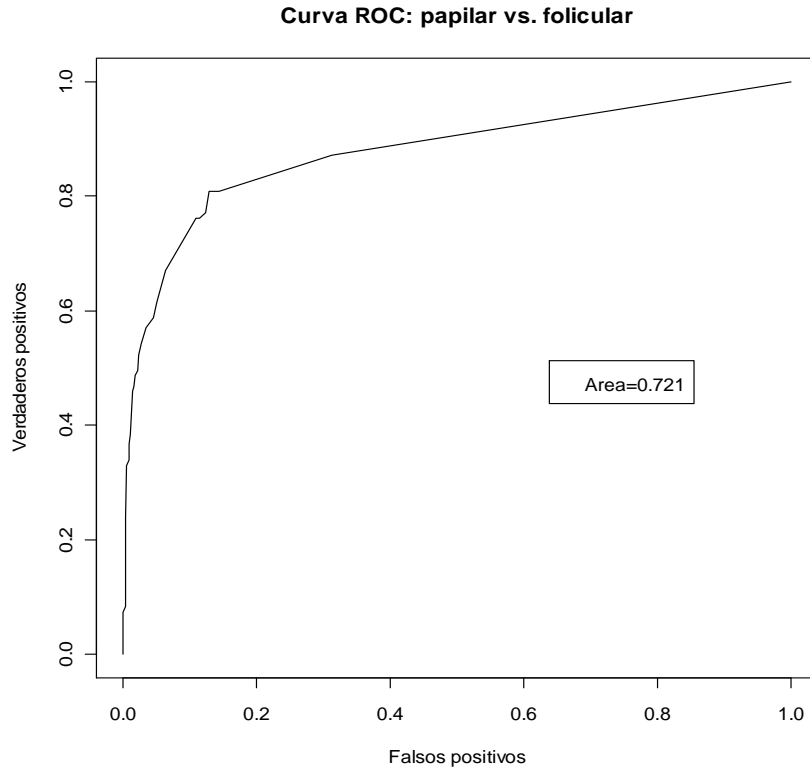


Gráfica 15 Curva ROC

Por último se decidió realizar una segunda curva buscando la combinación de marcadores capaces de diferenciar con la mayor precisión posible entre dos subgrupos de las entidades malignas, el CPT y el CFT. Esto se logró con la aplicación de dos marcadores (**HBME-1 y Ki67**) según las especificaciones reseñadas en el apartado 4.3.

Al igual que en los casos anteriores, se procedió a un proceso de validación interna mediante la elección de 200 muestras bootstrap dando un valor corregido para el área bajo la curva ROC de  $1.416/2$ : **0.708** para corregir el posible optimismo por el hecho de evaluar el modelo sobre los mismos datos que sirvieron para construirlo. Este resultado se

puede interpretar que con estos dos marcadores se acertaría en la clasificación de CFT o CPT en el 70% de las parejas constituidas por un carcinoma papilar y otro folicular.



Gráfica 16 Curva ROC

Resultados.

## **Discusión**

Discusión.



## 5. DISCUSIÓN

*Si no estás dispuesto a equivocarte,  
nunca llegarás a nada original.  
Ken Robinson.*

### 5.1 Generalidades

Un correcto diagnóstico preoperatorio de la patología tiroidea evitaría la repetición de pruebas diagnósticas y tratamientos quirúrgicos innecesarios con la consiguiente disminución de la morbilidad, ahorro en el gasto sanitario y mayor eficiencia diagnóstica. Es por ello que en la actualidad la idoneidad de las técnicas de diagnóstico sigue siendo objeto de debate y de interés científico.

Se estima que el 60% de la población tiene un nódulo tiroideo ecográfico y de este porcentaje más del 25% presenta un nódulo mayor a un centímetro y por tanto subsidiario de estudio (Arora *et al.*, 2008; Guth *et al.*, 2009). Afortunadamente, la frecuencia de lesiones malignas en el tiroides no es elevada, aunque se ha detectado un aumento de la incidencia del cáncer tiroideo en años recientes; este aumento no sólo está motivado por un incremento en el diagnóstico fortuito de lesiones precoces, debido a la difusión de forma generalizada de pruebas diagnósticas de imagen no invasivas como la ecografía, sino que parece obedecer también a factores ambientales (Chen *et al.*, 2009; Enewold *et al.*, 2009). A pesar de la existencia de criterios de malignidad ecográficos la prueba diagnóstica "gold standard" sigue siendo el estudio citológico por punción (PAAF), si bien el estudio de estos nódulos tiene un punto débil en la evaluación de las lesiones de naturaleza folicular, muchas de las cuales se catalogan como lesión folicular de significado indeterminado, suponiendo aproximadamente un 25% del total (Hershman *et al.*, 2011).

En los últimos años se han desarrollado numerosas investigaciones encaminadas a definir un perfil molecular y genético característico de las distintas neoplasias tiroideas y a conocer su rentabilidad diagnóstica. Como se ha comentado en el apartado de Introducción, las mutaciones de *RAS* y los reordenamientos de *PAX8/PPAR $\gamma$* , característicos del carcinoma folicular, se dan prácticamente con la misma frecuencia en el adenoma folicular y en la variante folicular encapsulada del carcinoma papilar (Castro *et*

## Discusión.

*al.*, 2006) y por tanto su detección no es de ayuda para el diagnóstico diferencial de las lesiones foliculares. Con respecto al carcinoma papilar la mutación de BRAF<sup>V600E</sup> se considera muy característica y específica pero no está presente en todos los carcinomas papilares en los que su frecuencia oscila entre el 29 al 69% de los casos (Bansal *et al.*, 2010). Además, estudios recientes indican que este cambio genético predomina en aquellos carcinomas papilares cuyas características morfológicas están relacionadas con mayor agresividad y, por tanto, que son más fácilmente identificables (Koperek *et al.*, 2012; Trovisco *et al.*, 2005). Por todo ello, la búsqueda de marcadores moleculares que faciliten el diagnóstico de los carcinomas diferenciados de tiroides y a pesar de que han sido muchos los estudios realizados a tal fin, no ha perdido vigencia.

De los procedimientos existentes para analizar dichos marcadores, las técnicas de biología molecular no son adecuadas para la rutina diaria por su elevado coste y procedimiento técnico más complejo (Sethi *et al.*, 2010; Escobar-Stein *et al.*, 2006), no disponible en la mayoría de los laboratorios de Anatomía Patológica. Una de estas técnicas es la determinación de ARNm mediante la RT-PCR si bien este procedimiento no es capaz de diferenciar la ubicación de la proteína dentro de la célula (citoplasma/membrana/núcleo) ni el tipo de célula en que se encuentra, a diferencia de la inmunohistoquímica. Los estudios basados en técnicas moleculares sobre material de citología presentan el inconveniente de que muchos de estos extendidos tienen material escaso y se presenta asociado, en muchas ocasiones, con células inflamatorias o epitelio tiroideo normal lo que aumenta de forma notable la complejidad a la hora de la realización y valoración de dichas técnicas (Murphy *et al.*, 2008).

Por lo referido anteriormente, el método más extendido para la evaluación de la expresión de marcadores moleculares que puedan aplicarse idealmente al material obtenido por PAAF para el diagnóstico preoperatorio de las neoplasias tiroideas es el uso de técnicas inmunohistoquímicas. Estas técnicas son actualmente una herramienta común, estandarizada y económicamente asumible en la práctica diagnóstica de cualquier Servicio de Anatomía Patológica (Fowler *et al.*, 2008; Wiseman *et al.*, 2008).

Una limitación que presenta el uso de técnicas inmunohistoquímicas sobre material de citología tiroidea está ocasionada por la cantidad de material disponible, incluso para el estudio de sólo unos pocos marcadores. Una opción para salvar este inconveniente la ofrece la utilización de preparaciones citológicas procedentes de citospins y monocapa

procurando siempre no sacrificar completamente el material obtenido para el estudio citológico en el empleo de técnicas auxiliares (Filie *et al.*, 2008). Además, del material de obtenido por PAAF se pueden desarrollar botones celulares que se incluyen en parafina y de los que se obtienen secciones sobre las que efectuar los mismos procedimientos técnicos que se realizan sobre las preparaciones histológicas convencionales (Filie *et al.*, 2008; Shivakumarswamy *et al.*, 2012).

Desde el desarrollo de la inmunohistoquímica hace más de 40 años hasta nuestros días hemos asistido a un crecimiento espectacular de esta técnica en el número de marcadores, calidad de los mismos así como en los procedimientos técnicos empleados. Es necesario por ello conocer las limitaciones y peculiaridades de cada técnica y tejido a la hora de interpretar los resultados. En el caso del tiroides es necesario tener en cuenta el alto nivel de biotina endógena que posee, si se emplean técnicas de estraptavidina-biotina. Además, la revisión de la literatura científica existente sobre el uso de marcadores en la patología tiroidea pone de manifiesto la necesidad de homogeneizar no sólo los procedimientos técnicos sino también los criterios de valoración para que los resultados de los distintos laboratorios sean reproducibles y comparables (Griffith *et al.*, 2008).

Se calcula que la aplicación de test moleculares (Afirma® Gene Expression Classifier) (Chudova *et al.*, 2010) en el material obtenido por PAAF de nódulos tiroideos lograría reducir hasta en un 74% el número de intervenciones quirúrgicas, con un ahorro de 1,453\$ (entre 1100-1150€) por paciente con un incremento, sin embargo escaso, de 0,07 QALY (Año de vida ajustado por calidad). Teniendo en cuenta que el precio de este tipo de test es 3200\$ (2400-2500€), la obtención de un conjunto de marcadores inmunohistoquímicos que iguallen su sensibilidad tendría una ventaja económica mucho mayor, ya que el precio de una determinación inmunohistoquímica oscila entre los 30 y los 35€ (Li *et al.*, 2011). Estas ventajas son calculadas exclusivamente desde el ámbito sanitario sin tener en cuenta otras tan importantes como la reducción de bajas laborales por intervención quirúrgica, así como las originadas por posibles complicaciones de ésta.

La elaboración de los TMA se ha extendido notablemente esta última década desde que se desarrolló a mediados de los años 80 (Wan *et al.*, 1987), aplicándose actualmente a una gran variedad de lesiones tanto neoplásicas como no neoplásicas. La obtención de cilindros desde el bloque matriz para su estudio junto con otros muchos cilindros procedentes de pacientes diferentes proporciona numerosas ventajas, por cuanto unifica

## Discusión.

el procedimiento técnico, ahorra tiempo y dinero. La interpretación de los resultados es sin embargo un proceso más laborioso. Los cilindros incluidos en las matrices de tejido (TMA) han mostrado una buena correlación en cuanto a la expresión inmunohistoquímica cuando se compara el resultado de la valoración en ellos con el bloque donante. Las mayores discrepancias se observan en aquellos casos con heterogeneidad en el patrón tumoral (Escobar-Stein *et al.*, 2006). Si se tiene cuidado en que el cilindro que se selecciona sea representativo de toda la lesión, el análisis de marcadores mediante micromatrices es un procedimiento adecuado para la búsqueda de marcadores, especialmente para casos como nuestro estudio en que se pretende que estos marcadores puedan ser potencialmente aplicables a la citología y por tanto deben ser moléculas que tengan una expresión en un porcentaje relativamente alto de células. Por esta misma razón se ha considerado tinción positiva cuando la puntuación global era superior a 2, descartando así los casos con tinción muy débil o presente en un porcentaje muy bajo de células (Liang *et al.*, 2009; Nasir *et al.*, 2004).

## 5.2 Hallazgos clínico-patológicos

### 5.2.1 Edad y sexo

La serie objeto de nuestro estudio, con un total de 548 enfermos, mostró un claro predominio femenino con una relación V/M de 1:6,7, en sintonía con lo esperado en el campo de la patología tiroidea; en cuanto a la edad mostró una media superior ( $47,79 \pm 15,42$  años) a la de la población de origen (41,60) (Fuente: Instituto de Estadística de Andalucía, 2009). La edad media de presentación de las lesiones benignas fue de  $48,42 \pm 15,28$  años, y en el grupo de patología maligna se observaron dos picos de incidencia alrededor de los 30 y los 50 años como se observa en la gráfica 5 del apartado de resultados, al igual que lo descrito en otras series previamente (Wartofsky, 2009). Este patrón en cuanto a la distribución etaria está originado principalmente por la mayor frecuencia de casos de CPT recogidos en nuestra serie (66,9%) con respecto a los casos de CFT (25%), en el que es característica esta distribución (DeLellis *et al.*, 2004).

Como se observa en las tablas 9 y 10 se han constatado diferencias en cuanto a la expresión de marcadores en relación con la edad tanto en la patología benigna como maligna. En el caso de ésta última, la menor expresión de TPO en las neoplasias del grupo de más edad claramente puede relacionarse con el hecho de que es en este grupo donde se dan las formas más agresivas; por otro lado, la mayor frecuencia de casos positivos para CK19 en el grupo de menor edad puede ser consecuencia de que este conjunto de pacientes los carcinomas papilares, con los que este marcador se relaciona, son mayoritarios. Tanto en la patología benigna como en la maligna hemos constatado mayor número de casos positivos para CD44v6 en los tiroides de enfermos más jóvenes. A pesar de que este marcador tiende a expresarse en las neoplasias más agresivas la mayor frecuencia de casos positivos en patología benigna y maligna en los tiroides del grupo de menor edad podría reflejar que la expresión de esta molécula, no expresada normalmente por el tiroides, estaría relacionada con la capacidad de respuesta del tiroides frente a la agresión.

### 5.2.2 Tipos histológicos

En nuestra serie se observó un predominio del CPT sobre el resto de las variantes debido a la mayor frecuencia de estos tumores dentro de la patología tiroidea, como queda recogido en numerosas series demográficas, con una frecuencia que oscila del 70 al 90% (DeLellis *et al.*, 2004).

La frecuencia del CFT varía en función de la zona geográfica como consecuencia de la alta influencia que ejerce la deficiencia de yodo en su patogenia. En el caso de la provincia de Granada se estima que el 37,5% de la población infantil padece bocio endémico (Costa *et al.*, 1993), por tanto la frecuencia encontrada en nuestra serie coincide con el rango esperado en las áreas o regiones con déficit de yodo donde se calcula una frecuencia del 25-40% (LiVolsi *et al.*, 2004).

Dentro de los casos incluidos en el grupo de patología maligna se observó que el 28,8% de los pacientes con diagnóstico de CPT, incluyendo a todas sus variantes, presentaron metástasis ganglionares en el momento de la intervención, coincidiendo con lo descrito en otras series previamente, donde este hecho se encuentra en el 30% de los casos (Mazzaferri *et al.*, 2009). El análisis epidemiológico de las variantes observadas en nuestra serie determinó un amplio predominio de miCPT representando el 40% de los casos (n=30), seguido por el CPTc en el 25,3% (n=19) y por el CPTvf en el 20% de los casos (n=15). El porcentaje de miCPT ha sido relativamente alto pero se sabe que la proporción de este tipo de carcinoma papilar es variable de unas series a otras. Como hallazgo en series de autopsia su frecuencia oscila entre el 6,2% al 35,6%, esta frecuencia es más o menos constante en una determinada población, y está estrechamente relacionada con la meticulosidad del estudio macroscópico (DeLellis *et al.*, 2004; Harach *et al.*, 1985; Lang *et al.*, 1988). La frecuencia de los otros subtipos es semejante a los resultados obtenidos por otros autores, coincidiendo en el caso de los CPTvca (14,7%) (Johnson *et al.*, 1988; Sabino de Matos *et al.*, 2008; Van der Breckel *et al.*, 1997).

## 5.3 Resultados inmunohistoquímicos

### 5.3.1 Proteínas codificadoras por oncogénes

#### 5.3.1.1 Proteínas activadoras y coactivadoras transcripcionales

##### 5.3.1.1.1 Hallazgos inmunohistoquímicos del IMP-3

La positividad para IMP-3 ha sido significativamente diferente en los grupos de patología benigna y maligna (Tabla 16) ( $p < 0,001$ ), lo que corrobora estudios previos que analizan este marcador en la patología tiroidea (Jin *et al.*, 2010; Slosar *et al.*, 2009).

En consonancia con lo publicado por otros autores previamente (Li *et al.*, 2008; Yantiss *et al.*, 2005), la expresión del IMP-3 en tejidos no tumorales fue muy reducida, sin observarse expresión en las muestra de tejido tiroideo normal así como tampoco se observó expresión en los casos incluidos dentro de la enfermedad de Graves-Basedow; el mayor porcentaje de positividad, dentro de la patología benigna, se apreció en las tiroiditis (9,4%) (Tabla 17).

En los carcinomas papilares la positividad para IMP3 no ha sido significativamente diferente en los distintos subgrupos aunque si hemos apreciado una mayor expresión del IMP-3 en la variante folicular del CPT con respecto a la variante clásica, lo que está de acuerdo con lo observado por otros autores (Slosar *et al.*, 2009). Sin embargo no hemos podido corroborar la relación entre presencia de metástasis ganglionar en el momento del diagnóstico y expresión de IMP3 comunicado por este mismo autor (Slosar *et al.*, 2009).

Nuestros resultados han sido también diferentes a los comunicados por Slosar M con respecto a las lesiones foliculares. Mientras que en su serie los 63 casos de adenomas estudiados fueron negativos para IMP3 nosotros hemos observado positividad en 17 de los 53 adenomas incluidos en nuestra serie (32%) y, por tanto, la sensibilidad de la determinación de IMP3 obtenida por nosotros fue menor. Ninguno de los casos de tejido normal ( $n=16$ ) fue positivo. Creemos, coincidiendo con otros autores (Zhong *et al.*, 2008), que se requieren más estudios sobre mayor número de casos para precisar la utilidad y sensibilidad de este marcador, así como su implicación pronóstica.

#### 5.3.1.1.2 Hallazgos inmunohistoquímicos de CITED-1

La proteína nuclear CITED-1 pertenece a una familia de cuatro miembros involucrados en la regulación de diferentes factores de transcripción, cuya sobreexpresión parece estar presente en la mayoría de casos de CPT (Scogbamiglio *et al.*, 2006; Yang *et al.*, 2008).

La valoración de la expresión de este marcador en nuestra serie reveló una buena capacidad diferenciadora entre el grupo de lesiones benignas y malignas, pero su baja sensibilidad (29,8%) lo debilita para ser utilizado como marcador aislado en el diagnóstico diferencial de este tipo de casos.

La expresión observada dentro de las entidades incluidas en la patología benigna reveló una inmunotinción muy baja de forma generalizada, oscilando del 6,2% en los casos de tiroiditis al 1,2% en los agrupados dentro del diagnóstico de HCN. No se observaron casos positivos en las muestras de tejido normal (Tabla 20).

En el estudio de las lesiones foliculares se observó un discreto incremento en las incluidas dentro del diagnóstico de CFT (29%) con respecto a las benignas (15,4% de los adenomas foliculares), sin encontrarse diferencias significativas, como tampoco mostró diferencias estadísticas en relación a los criterios pronósticos de los CFT valorados en esta serie (CFTmi frente al CFTai) (Tabla 89).

Nosotros, al igual que otros autores previamente (Scognamiglio *et al.*, 2006; Nasr *et al.*, 2006), no hemos encontrado utilidad en el diagnóstico de las lesiones papilares a pesar de sí observar una tendencia ascendente en relación con el tamaño, pasando de un 20% de los casos de CPT <1cm al 37,8% en los CPT >1cm, pero sin significación estadística (Tabla 21) . En cuanto a la valoración de los criterios pronósticos examinados (presencia o no de metástasis y presencia o no de patrón encapsulado) (Tabla 82 y 83) tampoco hemos logrado encontrar diferencias estadísticamente significativas tras el empleo de este marcador en nuestra serie.



### 5.3.1.2 Proteínas reguladoras del ciclo celular

#### 5.3.1.2.1 Hallazgos inmunohistoquímicos de la ciclina D1

El estudio de los reguladores del ciclo celular ha suscitado desde hace décadas un vivo interés en muchos campos de la medicina y particularmente en los procesos oncológicos (Williams *et al.*, 2012).

A pesar de que los carcinomas bien diferenciados de tiroides poseen un buen pronóstico, de forma global, la constatación de la existencia de un grupo de pacientes que ante patrones histológicos comunes muestran un curso más agresivo con mayor tendencia a metástasis ganglionares e incluso con una supervivencia menor despierta en todos los que investigan este campo la necesidad de encontrar parámetros que permitan diferenciar a este grupo de pacientes del resto, que sean reproducibles y fáciles de implantar en la práctica diaria de cualquier servicio de anatomía patológica. Es por tanto que el estudio de los reguladores del ciclo celular haya sido objeto de interés en el cáncer tiroideo (Lee *et al.*, 2010; Achille *et al.*, 2009).

En nuestra serie la expresión de la ciclina D1 permitió diferenciar, con suficiente peso estadístico, entre los casos de patología benigna y maligna, acorde con lo reflejado por otros autores previamente (Lee *et al.*, 2010; Achille *et al.*, 2009; Melck *et al.*, 2007).

En el grupo lesiones benignas el porcentaje de casos con valoración de la ciclina D1 positiva fue bajo en general, observándose el más alto en los adenomas foliculares (Tabla 23).

Nuestros resultados con respecto a la patología benigna discrepan con algunos estudios (Saiz *et al.*, 2002) que encuentran expresión de ciclina D1 en el 100% en los casos de HCN (frente al 17% recogido por nosotros) y en el 0% en las muestras de tejido normal (en nuestra serie fue del 6,2%). Estas diferencias son probablemente consecuencia en gran medida en diferencias en el tamaño muestral y así en el estudio de Saiz AD (2002), se estudian 14 casos.

En los CPT se ha observado (Tabla 81) un progresivo incremento de la expresión inmunohistoquímica de este marcador en función del tipo histológico y del tamaño, encontrándose en el 50% en los menores a 1cm frente al 65,9% en los mayores a 1cm. Asimismo, se aprecia una variación entre el 53% en los casos de CPTvf al 81,8% de los CPTvca aunque las diferencias no fueron significativas.

## Discusión.

Por otro lado, no hemos encontrado diferencias significativas atendiendo a la existencia o no de encapsulación, a diferencia de otros autores (Pickett *et al.*, 2005; Khoo *et al.*, 2002), y de acuerdo con lo reseñado por otros investigadores (Temmim *et al.*, 2006) aunque el porcentaje de casos positivos fue mayor en los CPT no encapsulados (Tabla 82).

El análisis del comportamiento de la ciclina D1 en las lesiones foliculares arroja unos resultados poco concluyentes; nosotros hemos hallado una alta expresión tanto en los adenomas foliculares (64,2%) como en los CFT (56,7%), sin diferencias significativas en cuanto al análisis realizado en función del subtipo histológico (mínimamente invasivo frente a ampliamente invasivos). Por tanto nuestros resultados están mas cercanos a los resultados obtenidos por algunos autores que obtienen un porcentaje alto de positividad en las lesiones foliculares, que llega al 90% (Saiz *et al.*, 2002) que a aquellos en los que no se observa expresión de ciclina D1 en este tipo de lesiones (Lazzereschi *et al.*, 1998).

### 5.3.1.2.2 Hallazgos inmunohistoquímicos de la ciclina E

Hay discrepancias en la literatura en cuanto al valor de la ciclina E en el diagnóstico diferencial de los carcinomas diferenciados de tiroides. En algunas investigaciones que analizan de forma conjunta distintas moléculas reguladoras del ciclo celular y, entre ellas, la ciclina E (Melck A *et al.*, 2007) se ha observado un incremento en su expresión en los carcinomas con respecto a lesiones benignas. En otros estudios sin embargo se ha encontrado un aumento de su expresión tanto en los adenomas foliculares como en el tejido normal por encima del nivel de expresión encontrado en los CPT (Pickett *et al.*, 2005; Lazzereschi *et al.*, 1998). Nosotros a pesar de haber observado diferencias significativas al comparar las lesiones malignas con las benignas (Tabla 25), hemos obtenido una sensibilidad muy baja para este marcador (Tabla 80) al igual que en el trabajo de S. Lee donde se encontró una significativa sobreexpresión de la ciclina E en los CPT, si bien el valor cuantitativo de los casos estudiados fue bajo, como en nuestro caso (Lee *et al.*, 2010).

En nuestra serie todos los subgrupos integrantes de la patología benigna no mostraron expresión alguna de ciclina E, a excepción de los adenomas foliculares, en los

que se observó un nivel de expresión muy similar al hallado en los casos de CFT (Tabla 26).

En cuanto a su expresión en las lesiones papilares (Tabla 27) se apreciaron diferencias en función del tamaño tumoral: 0% en las lesiones menores a un centímetro y 7,3% en las mayores de un centímetro. En los CPT con metástasis se observó un leve incremento con respecto a los CPT sin metástasis en el momento del diagnóstico sin diferencias significativas entre los grupos; a pesar de ello, estos datos junto con lo observado en las metástasis de los CPT en los que la positividad para ciclina E fue del 30% orientarían hacia un posible vínculo de su expresión y la agresividad del tumor, si bien nosotros como otros autores (Melck *et al.*, 2007) no podemos confirmar estadísticamente esta relación.

#### 5.3.1.2.3 Hallazgos inmunohistoquímicos de la P27

El estudio de esta proteína, que actúa como inhibidora de las ciclinas dependientes de cinasas, ha recibido bastante atención en los últimos años, ya que actúa como un supresor tumoral al inhibir la progresión del ciclo celular. Se ha examinado ampliamente la expresión de este marcador en tumores de diferentes localizaciones (mama, colon, próstata, y estómago entre otros) apreciándose una correlación entre la pérdida de expresión y el pronóstico (Cote *et al.*, 1998; Sgambato *et al.*, 1998; Thomas *et al.*, 1998). En el caso de la patología tiroidea también ha sido evaluada su expresión con resultados contradictorios entre los diferentes investigadores (Lee *et al.*, 2010; Melck *et al.*, 2007). En nuestra serie como en la mayoría de los trabajos publicados hemos evaluado la expresión de este anticuerpo en función de su localización nuclear, si bien otros autores han evaluado además su emplazamiento citoplasmático atendiendo a los hallazgos observados en los cultivos celulares donde la localización subcelular de las ciclinas y de los CDKIs es crítica para el control del ciclo celular y para los mecanismos que controlan todo este proceso modificando su emplazamiento entre el núcleo al citoplasma (Motti *et al.*, 2005; Pickett *et al.*, 2005). En este sentido y en el caso del cáncer gástrico se ha evidenciado por algunos autores una asociación entre la expresión citoplasmática de la P27 y un peor pronóstico (Sgambato *et al.*, 1999).

## Discusión.

A diferencia de lo publicado por algunos (Pickett *et al.*, 2005) y de acuerdo con otros (Zafón *et al.*, 2010; Melck *et al.*, 2007) nosotros no hemos encontrado diferencias significativas, tras la valoración de la tinción nuclear de la P27, entre las lesiones benignas y malignas ( $p=0,363$ ) (Tabla 28). La pérdida de la expresión de P27 parece ser un hecho más característico de los CPT que de los CFT, a pesar de lo cual no encontramos diferencias significativas entre ambos grupos (Troncone *et al.*, 2007).

### 5.3.2 Proteínas supresoras o de comportamiento supresor

#### 5.3.2.1 Hallazgos inmunohistoquímicos de la P53

La determinación inmunohistoquímica de la P53 realizada en nuestra serie permitió diferenciar al grupo de lesiones benignas de las malignas, a diferencia de lo encontrado por otros autores (Melck *et al.*, 2007); como en casos anteriores mostró una baja sensibilidad con una especificidad muy alta (Tabla 80).

La expresión de este marcador en la patología benigna fue escasa oscilando del 4,1% en los casos de Graves-Basedow al 15,6% en los casos registrados como tiroiditis; sin observarse en los casos de tejido normal incluidos ningún caso positivo (Tabla 32). Por el contrario, en el caso de las lesiones malignas se apreció un aumento progresivo de su expresión en relación con el pronóstico y con significación estadística, pasando del 13,3% en los miCPT al 16,7% en los CPTc y alcanzando el 44,4% en el CPTvca y el 70% en las metástasis de CPT (Tabla 81), unos resultados concordantes con los publicados por otros autores (Dobashi *et al.*, 1993; Parck *et al.*, 1998; Morita *et al.*, 2008). No encontramos diferencias significativas sin embargo al comparar los CPT encapsulados con los no encapsulados ni al comparar los CPT con metástasis o sin metástasis en el momento del diagnóstico (Tablas 82 y 83).

En este mismo sentido en el caso de las lesiones foliculares la expresión de la P53 mostró una tendencia a aumentar de forma paralela a la gravedad del diagnóstico, oscilando desde el 30,8% en el caso de los adenomas al 38,9% de los CFTmi y al 41,7% en los CFTai, aunque las diferencias no fueron significativas (Tabla 89).

La implicación de la P53 como predictor pronóstico ha sido un tema ampliamente tratado dentro de la patología tiroidea, y particularmente en el CPT (Dobashi *et al.*, 1993)

(Morita *et al.*, 2008), en el que la mayoría de autores encuentran una asociación entre su expresión y un peor pronóstico.

Autor	Dobashi Y.	Ferenc T.	Melck A.	Morita N.	Liang HS.	Ardito	Tan A.	Merino J.
Año	1993	2004	2007	2008	2009	2010	2011	2012
Umbral	>1%		≥5%	>10%	>5%	>10%	>5%	>10%
<b>CPT</b>	11,1% (n=83)	---	---	43% (n=68)	62%*	33,3% (n=6)	35,3% (n=17)	19% (n=42)
<b>CFT</b>	14,3% (n=16)	50% (n=12)	56,8% (n=6)	---	*	---	0% (n=7)	41,4% (n=29)
<b>AF</b>	0% (n=13)	31,6% (n=57)	7% (n=26)	---	45,8% (n=48)	100% (n=2)	0% (n=15)	30,8% (n=52)
<b>HCN</b>	0% (n=2)	0% (n=17)	---	---	---	---	---	7,7% (n=244)
<b>Tiroiditis</b>	0% (n=1)	---	---	---	---	---	---	15,6% (n=32)
<b>Tiroides normal</b>	---	---	---	---	---	---	---	0% (n=15)

Tabla 103. Valoración de la P53 en la patología tiroidea. (\*) Agrupa en un mismo conjunto tanto los CPT como los CFT.

Un hecho que llama la atención cuando se revisan la publicaciones existentes en la literatura científica sobre la expresión de P53 en las lesiones de tiroides es la enorme variabilidad existente, dependiendo de la serie como se aprecia en la tabla 103; el porcentaje de casos positivos varía del 0 al 45,8% en el caso de los adenomas foliculares y del 0% al 50% en el CFT (Dobashi *et al.*, 1993; Ferenc *et al.*, 2004; Liang *et al.*, 2009; Tan *et al.*, 2011). Estas diferencias son probablemente consecuencia de varios factores tales como la variabilidad en cuanto a los criterios de puntuación en la expresión de este marcador, oscilando el umbral desde >0% al 10% de las células tumorales (Ardito *et al.*, 2010; Dobashi *et al.*, 1993; Melck *et al.*, 2007), así como en la heterogeneidad tanto en el tipo de muestras (en las que no se incluyen en algunos estudios casos de patología benigna ni casos controles de tejido sano) así como en el tamaño de las mismas, oscilando en el caso de los adenomas foliculares de 2 a 57 casos y de los 6 a 16 casos en el CFT (Ardito *et al.*, 2010; Ferenc *et al.*, 2004; Tan *et al.*, 2011), por lo que los resultados en muchos casos son difícilmente comparables entre sí. Nuestra serie incluye tanto muestras no tumorales como adenomas y carcinomas, apreciándose que la expresión de la P53 asciende progresivamente en función de la agresividad de la lesión, lo que es razonable

## Discusión.

que ocurra desde el punto de vista biológico. Sin embargo, los dos casos de carcinomas anaplásicos estudiados fueron considerados negativos, así como uno de los dos carcinomas pobremente diferenciados. Esto sin embargo no está en contradicción con lo comentado anteriormente, ya que el número de casos analizados es muy pequeño y el porcentaje de casos positivos para P53 en estos dos tipos de carcinomas no es del 100% (40-50 % para los carcinomas pobremente diferenciados y 50-80% para el anaplásico) (De Lellis *et al.*, 2004).

A pesar de lo comentado antes y de que la expresión inmunohistoquímica de P53 se considera en general un factor pronóstico negativo en muchas neoplasias, se sabe que no siempre existe correlación entre la mutación de *TP53* y la sobreexpresión inmunohistoquímica de la proteína (Holla *et al.*, 1994; Liu *et al.*, 2002; Zafón *et al.*, 2007).

### 5.3.2.2 Hallazgos inmunohistoquímicos de la p63

La expresión de la proteína p63, implicada por algunos autores en el posible vínculo entre la tiroiditis de Hashimoto y el CPT, mostró en nuestro estudio una baja rentabilidad, a pesar de discriminar entre patología benigna y maligna su escasa sensibilidad impide aplicarlo como método de selección inicial. En nuestro caso no se observó apenas expresión inmunohistoquímica en los diferentes subgrupos de patología benigna (Tabla 34). Asimismo, tampoco se constató la expresión de este marcador fuera de los casos de patología papilar, en los que se apreció una expresión progresivamente mayor en función de la severidad del diagnóstico, pasando del 3,4% en los miCPT al 27,8% en los CPTc y al 30% en las metástasis de los CPT (Tabla 81). De igual forma el porcentaje de casos positivos fue mayor en los casos de CPT no encapsulados y en los que presentaron metástasis en el momento del diagnóstico (Tabla 82 y 83) aunque las diferencias no fueron significativas. La relación entre la expresión de p63 y CPT ya ha sido comunicada en la literatura donde se ha querido vincular la expresión de p63 con la progresión de la tiroiditis de Hashimoto al CPT (Unger *et al.*, 2003), sin embargo en nuestra serie sólo uno de los 32 casos de tiroiditis analizados fue positivo (Tabla 34). Cualquiera que fuere el mecanismo que active la expresión de la p63 (bien secundario a la inflamación o bien previo a ella) esta se produce en aquellos epitelios no escamosos con capacidad para mostrar diferenciación escamosa, independientemente de su localización

(Wang *et al.*, 2002; Parck *et al.*, 2000). En el caso del tiroides tanto la tiroiditis de Hashimoto como el CPT pueden mostrar focalmente diferenciación escamosa, cosa que no ocurre o de forma muy esporádica y aislada en el ámbito de otras patologías (Ryska *et al.*, 2006; DeLellis *et al.*, 2004; Rosai *et al.*, 1992). En diferentes estudios se ha observado la asociación entre la tiroiditis de Hashimoto y la presencia de nidos de células sólidos (*Solid cell nest*), oscilando del 4,5% al 51% (Burstein *et al.*, 2004; Vollenweider *et al.*, 1988).

Los nidos de células sólidos (ncs) son un componente normal de la glándula tiroidea y pueden mostrar cambios metaplásicos escamosos. Los ncs suelen presentar un infiltrado linfocitario periférico cuyo origen puede ser su derivación embriológica o bien representar restos no desarrollados de tejido glandular tiroideo que predispone a alteraciones autoinmunes. Los últimos trabajos publicados al respecto defienden la naturaleza pluripotencial de los ncs contribuyendo a la histogénesis de las células C, de las células foliculares así como de algunos tumores tiroideos (Rios Moreno *et al.*, 2011), y hay autores que defienden que un porcentaje de los CPT se desarrollarían a partir de estas células pluripotenciales p63 (Burstein *et al.*, 2004).

Aunque se han intentado implicar a diferentes patologías como alteraciones precursoras del CPT no hay actualmente acuerdo sobre ninguna de las hipótesis planteadas como así se recoge en la actual clasificación de la OMS (DeLellis *et al.*, 2004).

Uno de los firmes candidatos a tal asociación ha sido y es en la actualidad la tiroiditis de Hashimoto, con numerosos trabajos con conclusiones favorables a esta implicación, si bien no están aceptadas universalmente.

Un hecho probado es la asociación entre la tiroiditis de Hashimoto y la metaplasia escamosa, así como la expresión de la p63 tanto en la metaplasia escamosa como en los focos de ncs y en los CPT. Apoyando a tal afirmación se ha publicado recientemente la coincidencia en un mismo paciente de la presencia de la mutación BRAF<sup>V600E</sup> tanto en dos miCPT como en los focos de ncs situados en ambos lóbulos, respaldando por tanto la idea de una asociación entre los ncs y el CPT (Cameselle-Teijeiro *et al.*, 2009; Rios-Moreno *et al.*, 2011).

### 5.3.3 Proteínas reparadoras del ADN

#### 5.3.3.1 Hallazgos inmunohistoquímicos de la PARP-1

El análisis de la PARP-1 en la valoración de la patología tiroidea mostró una capacidad limitada para diferenciar el grupo de las lesiones malignas de las lesiones benignas ( $p=0,047$ ), así como una muy baja sensibilidad (20%) y una especificidad adecuada (87,3%) (Tabla 80). El porcentaje de casos positivos dentro del grupo de las patologías benignas osciló entre el 3,1% de las tiroiditis al 11,8% en el caso de los casos de HCN. Dos de los casos incluidos como tejido tiroideo normal mostraron una expresión nuclear de PARP-1 con una puntuación semicuantitativa inferior a 3.

Por otro lado, la expresión de la PARP-1 en el grupo de las lesiones malignas osciló desde el 40% observado en los CFT al 7,1% en los CPT (Tabla 39).

En el grupo donde se obtuvo una mayor expresión inmunohistoquímica lo protagonizaron las lesiones integradas por los tumores foliculares apreciándose en el 27% de los AF y el 40% de los CFT. Valorando su expresión en función de los parámetros pronósticos incluidos en este estudio se objetivó una llamativa expresión en los CFTmi con respecto a los CFTai (52,6% frente al 16,4%) dicha diferencia mostró una significación estadística ( $p=0,05$ ).

Estas observaciones parecen indicar que la sobreexpresión de PARP-1 puede estar relacionada con las etapas precoces de la carcinogénesis como se ha visto que ocurre en adenomas y carcinomas de colon en estadios iniciales (Nosho *et al.*, 2006).

### 5.3.4. Moléculas relacionadas con el metabolismo, adhesividad y proliferación celular.

#### 5.3.4.1 Enzimas

##### 5.3.4.1.1 Hallazgos inmunohistoquímicos de la TPO

La expresión de la TPO en la patología tiroidea ha mostrado utilidad en la discriminación entre lesiones benignas y malignas como ha sido reflejado por otros autores previamente (DeMicco *et al.*, 2008; Christensen *et al.*, 2000), si bien los datos obtenidos en las lesiones benignas difieren parcialmente con las aquí aportadas, particularmente en el caso de la valoración del tejido normal, donde se llega a constatar



una expresión en el 80% de los casos frente al 93,8% obtenido en nuestra serie; estos resultados probablemente son consecuencia de diferencias en el tamaño de muestra, casi el triple en nuestro caso (n=16) que en el estudio del grupo de V. Lloyd (n=5) (Nakamura *et al.*, 2006) y en el criterio empleado para considerar una muestra como positiva. En el resto de los subgrupos integrantes de la patología benigna se obtuvieron resultados semejantes a los ya publicados, confirmando la persistencia de la expresión de la TPO en los tireocitos de las lesiones benignas. En el análisis de las lesiones papilares se observó una pérdida progresiva de la expresión de la tiroperoxidasa en relación al pronóstico con varios resultados interesantes. El primero de ellos fue la conservación observada de la expresión en la variante folicular del CPT, mayor incluso que en el caso del miCPT (Tabla 85) y de forma semejante a lo que ocurre en los adenomas foliculares (Tabla 86); este hecho puede estar en sintonía con los resultados del análisis molecular de la variante folicular de carcinoma papilar, particularmente del subtipo encapsulado, que presenta mutaciones de *RAS* más que de *RAF* lo que está más de acuerdo con el perfil molecular del adenoma y carcinoma folicular (Rivera *et al.*, 2010). El segundo punto a destacar fue la pérdida de expresión de la TPO en todos los casos de la variante de células altas del CPT, coincidiendo con observaciones publicadas por otros autores previamente (Nakamura *et al.*, 2006).

Reforzando la idea de asociación entre la expresión de la TPO con el grado de diferenciación de tumor y el pronóstico hemos constatado la asociación estadísticamente significativa ( $p=0,0014$ ) entre la pérdida de expresión de la TPO en el carcinoma papilar y la existencia de metástasis primarias en el momento de la intervención, asociación no aportada por ningún grupo, hasta la fecha. Este marcador podría ser de ayuda para seleccionar aquellos casos en los que habría que completar la cirugía, en el caso de que esta hubiera sido incompleta de inicio.

Las lesiones encapsuladas del CPT mostraron una mayor expresión de la TPO con respecto a las lesiones no encapsuladas como era de esperar desde el punto de vista conceptual, ya que las primeras tienen un mejor pronóstico (Tabla 82).

En el análisis de las lesiones foliculares con respecto a la expresión de la TPO también se obtuvieron resultados interesantes, constatándose una expresión muy conservada en los adenomas (90%) y pérdida de la misma en los CFT (38,7%) como cabía esperar. Asimismo, la expresión de la TPO dentro del grupo del CFT mostró su

## Discusión.

relación con el pronóstico con expresión conservada en la mayoría de los CFTmi (50%) y pérdida en la mayoría de los CFTai (23,1% de casos positivos) como han reflejado otros autores (Yousaf U. 2008), siendo esta diferencia estadísticamente significativa al comparar ambos grupos. En resumen, la pérdida de expresión de TPO claramente está relacionada con la situación de malignidad en las neoplasias con diferenciación folicular y con las formas de peor pronóstico.

### 5.3.4.1.2 Hallazgos inmunohistoquímicos de la COX-2

La expresión de la COX-2 en las muestras de nuestra serie fue alta, tanto en los casos de patología benigna como en aquellos de patología neoplásica maligna (Tabla 46), en consonancia con los datos publicados por otros autores previamente (Casey *et al.*, 2004); las lesiones malignas mostraron un porcentaje de casos positivos del 72,4% y las lesiones benignas del 80,9%; sin embargo otros estudios (García-González *et al.*, 2005) obtienen resultados discordantes con los nuestros, con ausencia de expresión tanto en los casos de Enfermedad de Graves como en los de HCN, y con una ligera expresión en el tejido normal (17,3%), si bien estos resultados proceden de series con menor número de casos que la nuestra.

No hemos encontrado relación entre la expresión de COX-2 y la edad de los enfermos, de acuerdo con algunos autores (García-González *et al.*, 2005), y a diferencia de las conclusiones de otras investigaciones que encuentran tanto menor expresión de COX-2 en los enfermos de más edad (Ito *et al.*, 2003) o justo lo contrario, mayor expresión de este marcador en este grupo de edad (Siironen *et al.*, 2005; Erdem *et al.*, 2011).

Particularmente la expresión de la COX-2 en las lesiones papilares fue elevada, disminuyendo en el grupo de los CPT con respecto al grupo de miCPT. Analizando el grupo de los CPT la expresión fue mayor en la variante clásica (72,2%) con respecto a la folicular (53,3%) y a la variante de células altas (63,6%) en afinidad con lo descrito en otras series publicadas previamente (Lo *et al.*, 2005). Igualmente no se obtuvieron diferencias significativas al comparar las lesiones encapsuladas y no encapsuladas. Estos resultados están de acuerdo con lo sugerido por otros autores (Casey *et al.*, 2004; García-

González *et al.*, 2005) en el sentido de que la expresión de la COX-2 está relacionada con las primeras etapas de la carcinogénesis tiroidea mas que con el tipo histológico o el patrón infiltrativo de la neoplasia en sí. De igual forma, en nuestra serie no se observaron diferencias significativas entre la expresión de la COX-2 y la presencia o no de metástasis en el momento del diagnóstico en el carcinoma papilar, aunque el porcentaje de casos positivos fue algo menor en el grupo de carcinomas papilares sin metástasis (59,4%) con respecto a los que sí presentaban metástasis en el momento de la tiroidectomía, en conexión con los resultados de otras series (Erdem *et al.*, 2011; García-González *et al.*, 2005; Lee *et al.*, 2008; Lo *et al.*, 2005).

En el caso de las lesiones foliculares no hubo diferencias en cuanto a la expresión de COX-2 entre adenomas (83,1%) y CFT (83,9%).

Apoyando las observaciones aportadas por otros grupos hemos constatado la ausencia de expresión en el carcinoma anaplásico de la COX-2 aunque el escaso tamaño muestral de este subgrupo impidió su valoración estadística. Este hecho no obstante está de acuerdo con la reflexión planteada por otros autores que relacionan la COX-2 con las etapas iniciales de la carcinogénesis tiroidea (Casey *et al.*, 2004; Ito *et al.*, 2003).

En resumen parece que la COX-2 participa de manera colateral en los pasos iniciales de la carcinogénesis tiroidea promoviendo la angiogénesis, con mayor protagonismo en las lesiones papilares (Ito *et al.*, 2003) donde probablemente facilite por su efecto sobre la angiogénesis la aparición de metástasis (Siironen *et al.*, 2006).

En consonancia con otros investigadores (Krawczyk-Rusiecka *et al.*, 2011) nuestros resultados indican que es un marcador con escasa rentabilidad para discriminar entre patología benigna y maligna.

#### 5.3.4.2 Moléculas relacionadas con la adhesividad celular

##### 5.3.4.2.1 Hallazgos inmunohistoquímicos de la Galectina-3

En nuestro estudio la Galectina-3 ha mostrado utilidad en el diagnóstico diferencial de los carcinomas diferenciados de tiroides, coincidiendo con lo publicado por otros autores previamente (Saleh *et al.*, 2010; Aron *et al.*, 2006); la sensibilidad alcanzada con el estudio de este marcador en nuestra serie fue menor que la obtenida en algunos de estos estudios (Saleh *et al.*, 2010) que obtuvieron un valor de 85,2% frente al 50,6%

## Discusión.

(Tabla 87); por el contrario tanto la especificidad como VPP fue sensiblemente mayor en nuestro trabajo donde se han alcanzado valores del 100%, frente a los valores reflejados por estos autores con una especificidad del 58,7% VPP del 70,8%; por el contrario nuestro VPN fue bajo llegando al 28,6% frente al 77,1% de éstos (Saleh *et al.*, 2010). Cabe destacar que en nuestra serie tanto las muestras de tejido tiroideo normal como las de enfermedad de G-B no expresaron positividad inmunohistoquímica frente a este marcador en ninguno de los casos, a pesar de que la muestra de nuestro estudio triplicó a la serie expuesta por éstos. Otro de los factores a tener en cuenta respecto a la diferencia de sensibilidad y especificidad entre ambos grupos es la importancia del bloqueo de la biotina endógena en la realización de la técnica inmunohistoquímica la cual evita casos de FP aumentando la especificidad de la técnica, como en nuestra serie. Esto no viene más que a reforzar la idea, sugerida por otros autores (Chiu *et al.*, 2010), de la necesidad de aplicar protocolos estandarizados similares a los ya existentes en otros campos como en el cáncer de mama respecto a la valoración de HER2.

Por otro lado, la expresión observada en las lesiones procedentes de casos de tiroiditis coincide con lo publicado por diferentes autores de forma reiterativa (Martins *et al.*, 2002) donde parece que el ambiente inflamatorio favorece la expresión de esta proteína.

En cuanto a la utilidad de la Gal-3 en el diagnóstico de las lesiones foliculares, los datos reflejados en nuestra serie indican que posee escaso valor diferenciador observándose una expresión reducida tanto en los adenomas (5,7%) como en los carcinomas foliculares (16,7%) (Tabla 50 y 51), sin diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de CFTmi y los CFTai, apoyando la idea manifestada por otros autores en este punto (Tabla 89) (Mehrotra *et al.*, 2004; Martins *et al.*, 2002; López-Mondejar *et al.*, 2008).

Si ha resultado ser sin embargo un buen marcador para el CPT, en el que se ha observado una alta expresión del mismo. De todos los subtipos de CPT fueron los miCPT los que mostraron una menor expresión de la Gal-3 (27,6%) (Tabla 81), como han encontrado otros autores (López-Mondejar *et al.*, 2008). La expresión de este marcador mostró un aumento progresivo en relación con el tipo pronóstico, pasando del 61,1% en el CPTc al 88,9% en el CPTvca y llegando al 90% en el CPTmet (Tabla 81). El porcentaje de casos de CPT con metástasis en el momento del diagnóstico que fueron positivos para

galectina (69,2%) fue también superior al obtenido en el grupo sin metástasis (46,9%), aunque en este caso no se obtuvieron diferencias significativas ( $p=0,085$ ), asimismo tampoco se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa ( $p=0,100$ ), entre los grupos de CPT encapsulados frente a los no encapsulados. Parece por tanto lícito concluir que la expresión de la Gal-3 está vinculada con el pronóstico en el caso de los CPT. Estos hallazgos subrayan la importancia de las moléculas relacionadas con la transición epitelio-mesenquimal para que las células neoplásicas adquieran la capacidad de migración, invasión y diseminación (Alvaro *et al.*, 2010). Aunque se ha dedicado mucha atención al estudio de las modificaciones genéticas relacionadas con la transformación neoplásica se conoce en la actualidad que el cambio fenotípico de la interfase epitelio mesénquima es crucial para el paso de una célula proliferativa no neoplásica a neoplásica (Alvaro *et al.*, 2010).

#### 5.3.4.2.2 Hallazgos inmunohistoquímicos del CD44s

La expresión del CD44s en nuestra serie fue diferente en el grupo de patología benigna y maligna (Tabla 52) pero sin significación estadística; la sensibilidad, especificidad, VPP y VPN de esta determinación inmunohistoquímica fueron muy pobres, invalidando su aplicación como marcador inmunohistoquímico aislado en el diagnóstico de las lesiones tiroideas, coincidiendo con los resultados de otros estudios (Gasbarri *et al.*, 1999).

Dentro del subgrupo de casos de patología benigna fueron los casos de tiroiditis así como los controles de tejido tiroideo normal los que manifestaron una menor expresión de éste, aumentando de forma paralela tanto en los casos de HCN como en los casos de enfermedad de Graves-Basedow (Tabla 53).

Los carcinomas papilares mostraron una alta expresión del CD44s (Tabla 81), particularmente en los subtipos distintos al microcarcinoma papilar y todos los casos de CPTvca ( $n=9$ ) fueron positivos; las diferencias entre los distintos subtipos no fueron significativas sin embargo, como tampoco se obtuvo significación al comparar los grupos de CPT encapsulados y no encapsulados y los grupos con metástasis y sin metástasis en el momento del diagnóstico aunque el porcentaje de casos positivos fue mayor en las formas no encapsuladas y en los CPT con metástasis (Tablas 82 y 83). Nuestros resultados,

## Discusión.

aunque no significativos están en consonancia con otros trabajos publicados (Böhm *et al.*, 2000) que consideran a este marcador como un buen predictor pronóstico del CPT.

En el caso de los carcinomas foliculares se ha observado esta misma tendencia a que su expresión sea mayor en los carcinomas ampliamente invasivos, aunque tampoco se alcanzó significación estadística (Tabla 89).

### 5.3.4.2.3 Hallazgos inmunohistoquímicos del CD44v6

La determinación de CD44v6 ha permitido diferenciar estadísticamente entre la patología benigna y maligna con un incremento de la especificidad con respecto al CD44s, (78,5% frente a 58%) (Tabla 80), dentro del rango descrito por otros autores (Bartolazzi *et al.*, 2001).

A pesar de que su expresión en las muestras de tejido tiroideo normal fue nula (0%) (Tabla 56) sí hemos encontrado un porcentaje de casos, aunque reducido, de patología benigna con expresión de este marcador, más llamativo en los casos de enfermedad de Graves Basedow (32%). Aunque existen pocas series que analicen la expresión del CD44v6 en patología tiroidea no neoplásica, los resultados obtenidos están dentro de los parámetros descritos por otros autores previamente (Bartolazzi *et al.*, 2001; Gasbarri *et al.*, 1999; Matesa *et al.*, 2007) sugiriendo una activación de esta proteína dentro del contexto inflamatorio propio de la enfermedad de Graves-Basedow.

Dentro de la patología tumoral se observó un aumento de su expresión en relación con la severidad del diagnóstico apreciándose un incremento en las metástasis de CPT (MCPT) y en la variante de células altas (Tabla 81) aunque sin diferencias significativas; tampoco hemos encontrado diferencias entre los CP encapsulados y no encapsulados ni entre los que no presentaron y presentaron metástasis ganglionares en el momento del diagnóstico (Tablas 82 y 83), como han reflejado otros autores en revisiones previas (Böhm *et al.*, 2000; Kurozumi *et al.*, 1998).

Al igual que en las lesiones papilares en el caso de las lesiones foliculares se ha observado una leve tendencia al aumento de la expresión de este marcador en las formas más agresivas sin significación estadística (Tabla 89) lo que coincide con observaciones realizadas en otras series (Gasbarri *et al.*, 1999)

#### 5.3.4.2.4 Hallazgos inmunohistoquímicos del CD57

La tinción inmunohistoquímica para CD57 ha mostrado en nuestro estudio utilidad para diferenciar las lesiones benignas de las malignas, pero al igual que le ocurre a otros marcadores antes citados posee, en nuestra serie, una baja sensibilidad (21,4%) con una alta especificidad (91,5%) por lo que su uso como marcador único no es recomendable (Tabla 80).

La expresión de este marcador en los subgrupos de patología tiroidea benigna fue muy bajo, en todos ellos, oscilando entre el 0% en el caso de tejido normal al 5,2% en el caso de las lesiones incluidas como HCN (n=250), inferior a la obtenida en otras series en la que se encuentra un 10,3% de casos de HCN con expresión inmunohistoquímica, ascendiendo al 33,3% en los casos de Graves-Basedow (Khan *et al.*, 1998). En las lesiones papilares se observó una expresión progresiva en función del tamaño pasando del 10% en los menores de 1cm, al 25% en los mayores a 1cm y alcanzando el 40% en las metástasis (Tabla 60), si bien no se encontraron diferencias significativas entre los casos encapsulados y no encapsulados ni entre los CPT con metástasis en el momento del diagnóstico y los que carecían de éstas (Tablas 82 y 83).

En el análisis de la patología folicular, donde se han puesto altas expectativas en cuanto a su rentabilidad en el diagnóstico diferencial de este tipo de lesiones, observamos una expresión del CD57 en el 34% de los adenomas (discretamente superior a otros grupos con un resultado que osciló entre el 15% al 27,5% de sus casos) (Nasir *et al.*, 2004; Khan *et al.*, 1998) y con una expresión del marcador en los CFT equiparable (26,7%). No hubo diferencias notables al comparar el porcentaje de casos positivos de CFTmi (26,3%) con los de CFTai (25%) (Tabla 89). Estos resultados difieren de lo expuesto por algunos autores (Chandan *et al.*, 2006; Khan *et al.*, 1998; Nasir *et al.*, 2004), pero coinciden con los de TS. Loy y ML. Ostrowski que no recomiendan el empleo de este

## Discusión.

marcador como técnica aislada en el diagnóstico diferencial entre carcinoma folicular frente al adenoma folicular (Ostrowski *et al.*, 1995; Loy *et al.*, 1995).

A pesar de que el CD57 discrimina bien entre patología benigna y maligna, la ausencia de esta capacidad en la patología folicular encontrado en esta serie y en otras (Ostrowski *et al.*, 1995; Loy *et al.*, 1994), apoyaría la idea de la existencia de una progresión del adenoma folicular al carcinoma folicular donde compartirían la expresión de esta proteína en las etapas iniciales.

### 5.3.4.2.5 Hallazgos inmunohistoquímicos de la E-cadherina

Se ha constatado una pérdida de la expresión de la E-cadherina en diferentes tipos de tumores, entre ellos en el cáncer de tiroides (Brabant *et al.*, 1993). En nuestra serie la aplicación de este marcador permite diferenciar las lesiones benignas de las malignas (Tabla 61), si bien las sensibilidad es muy baja (Tabla 80), por lo que no es un buen marcador para ser utilizado en solitario.

En el análisis del grupo de patología benigna se constató una conservación de su expresión en todos los subgrupos de forma amplia oscilando del 90,6% en las tiroiditis al 100% en los casos clasificados dentro de la enfermedad de Graves-Basedow (Tabla 62).

Asimismo, tanto en los adenomas (98,1%) como en los carcinomas foliculares (96,7%) mostró una amplia expresión (Tablas 62 y 63), y sólo un caso de CFTai se consideró negativo (Tabla 89).

Las lesiones tiroideas papilares han mostrado una menor expresión que las lesiones foliculares, reduciéndose de forma paralela al empeoramiento del pronóstico, pasando del 92,9% en los miCPT al 70% en las metástasis de CPT (Tabla 81), en armonía con los datos publicados previamente (Scheumman *et al.*, 1995; Rocha *et al.*, 2003). A pesar de esta tendencia y de la menor expresión encontrada en los CPT con metástasis que en los CPT sin metástasis en el momento del diagnóstico (69,2% frente al 87,5%), el test estadístico no ha alcanzado la significación suficiente para discriminar entre estos dos



grupos (Tabla 83). Los dos carcinomas anaplásicos analizados fueron negativos para E-caderina lo que indica que la pérdida de esta molécula de adhesión celular es un hecho relacionado con la progresión tumoral como se ha descrito en muchas neoplasias y, en concreto, en el caso de las neoplasias tiroideas en la transformación de un carcinoma diferenciado en anaplásico (Wiseman *et al.*, 2006). La pérdida de expresión de E-cadherina es consecuencia de la metilación del gen promotor (Eze *et al.*, 2011; Graff *et al.*, 1998) y es por tanto uno de los cambios epigenéticos involucrados en la progresión del cáncer tiroideo.

#### 5.3.4.2.6 Hallazgos inmunohistoquímicos de la $\beta$ -catenina

La valoración de la expresión inmunohistoquímica de la  $\beta$ -catenina ha permitido diferenciar, en nuestra serie, entre el grupo de patología benigna y maligna, a pesar de mostrar una escasa sensibilidad (30%) (Tabla 64 y 80).

En ninguno de los casos analizados en esta serie, incluidos los carcinomas anaplásicos, se evidenció la expresión nuclear de este marcador. La expresión nuclear inmunohistoquímica de  $\beta$ -catenina se considera un hecho característico de los carcinomas papilares asociados a poliposis adenomatosa familiar (Kurihara *et al.*, 2000), que morfológicamente se corresponden con la variante cribiforme de los que no hemos estudiado ningún caso.

En diferentes series se ha observado que la ausencia de tinción de membrana se asocia a la pérdida de diferenciación y por tanto a un peor pronóstico (García-Rostan *et al.*, 1999; García-Rostan *et al.*, 2001); nuestros resultados corroboran en parte este hecho al haber observado, en el caso del carcinoma papilar, que la proporción de tumores con positividad de membrana es menor en los CPTvca y en las metástasis de carcinoma papilar (Tabla 81). En nuestra serie, uno de los dos casos de carcinoma anaplásico mostró fuerte expresión de membrana lo que concuerda con las observaciones de otros autores en el sentido de que las anomalías de la  $\beta$ -catenina se relacionan menos que la pérdida de expresión de E-cadherina con la poca diferenciación de la neoplasia (Rocha *et al.*, 2003).

### 5.3.4.3 Proteínas de superficie celular

#### 5.3.4.3.1 Hallazgos inmunohistoquímicos del HBME-1

La aplicación del HBME-1 en la patología tiroidea ha mostrado una buena capacidad para separar las lesiones benignas de las malignas (Tabla 67), tal y como lo han referido muchos otros autores en publicaciones anteriores (Cheung *et al.*, 2001; Nasr *et al.*, 2006; Prasad *et al.*, 2005).

Desde su desarrollo en el estudio de la patología mesotelial, este anticuerpo, que reconoce un antígeno desconocido de los microvilli de las células mesoteliales (Sheibani *et al.*, 1992) es capaz de producir una inmunotinción positiva en un amplio porcentaje de mesoteliomas así como, en menor medida, en el adenocarcinoma de pulmón, mama y páncreas (Oates *et al.*, 2000; Ordóñez, 2002). En la patología tiroidea se ha observado expresión de forma mayoritaria en las lesiones papilares, como en nuestro estudio donde hemos observado una expresión mayoritaria de éstas (73,8%) (Tabla 69). En el caso de las lesiones foliculares su expresión es más controvertida oscilando, según las series publicadas, del 97% de 30 casos evaluados (Choi *et al.*, 2005) a porcentajes en torno al 40-50% de otras publicaciones (Cheung *et al.*, 2001; Nakamura *et al.*, 2006; Prasad *et al.*, 2005). En nuestra serie observamos una expresión mucho más reducida con una inmunopositividad en el 11,4% de los adenomas foliculares y del 26,7% en los carcinomas foliculares (Tabla 69).

La expresión de este marcador en los subgrupos de las lesiones benignas (Tabla 68) ha sido muy bajo, con ausencia de expresión en el tejido normal lo que coincide con los resultados publicados por otros autores (Mase *et al.*, 2003; Nasr *et al.*, 2006; Cheung *et al.*, 2001). El conjunto sensibilidad-especificidad de este marcador ha sido la más alta de todos los marcadores empleados en este estudio (Tabla 80).

Se ha observado además que la expresión de HBME-1 está relacionada con los subtipos pronósticos de carcinoma papilar (Tabla 81) y folicular (Tabla 89), de acuerdo con otros estudios (Mai *et al.*, 2001; Papotti *et al.*, 2005).

#### 5.3.4.3.2 Hallazgos inmunohistoquímicos del queratán sulfato

La expresión de queratán sulfato (KS) ha sido objeto de estudios previos (Ito *et al.*, 1996).

En el análisis obtenido tras la aplicación de este marcador en nuestra serie hemos comprobado, al igual que en otras comunicaciones publicadas hasta la fecha (Magro *et al.*, 2003; Saggiorato *et al.*, 2005) que el KS es un buen marcador en la patología tiroidea con capacidad de distinguir entre las lesiones benignas, en las que no muestra expresión alguna o mínimamente como en nuestro caso (1,2% de las HCN n=244) (Tabla 71), y malignas, con especial capacidad para diferenciar las lesiones papilares malignas del resto. En este punto nosotros hemos advertido como así lo comunicó el grupo del Dr. R. Perris una mayor especificidad, aunque discreta (97,7% frente al 96,8%), con respecto a otro de los marcadores ampliamente usado y de mayor difusión como es el HBME-1 (Magro *et al.*, 2003) pero la sensibilidad es algo menor (Tabla 80).

La expresión de este marcador en las lesiones papilares malignas muestra diferencias en función del subtipo de carcinoma papilar, siendo mayor, como en el caso del HBME-1 en el CPTvca y en las metástasis de carcinoma papilar (Tabla 81); no se advirtieron diferencias significativas en cuanto a la expresión de este marcador y los factores pronósticos analizados tales como la presencia o no de metástasis ganglionares en el momento de la intervención o de encapsulación (Tabla 82 y 83).

Dentro del grupo de las lesiones foliculares su expresión fue mucho más reducida, tanto en las contrapartida benigna (11,4% de los adenomas foliculares) como en los casos malignos (16,4% de los CFT) (Tabla 71 y 71); dentro de éstos hubo diferencias entre los porcentajes de casos positivos en las lesiones más agresivas (CFTai) y las de mejor pronóstico (CFTmi) (33,3% frente al 10,5%), aunque no significativas estadísticamente.

En el caso de los CPTvf la tinción con KS no permite, estadísticamente distinguirlos de los carcinomas foliculares (40% frente al 16,4%)

Del análisis de nuestra serie y de la revisión de la literatura se puede inferir que el carcinoma diferenciado de tiroides y, especialmente, el carcinoma papilar presenta un fenotipo que indica un cambio importante en aquellas moléculas relacionadas con la

## Discusión.

adhesión celular y la superficie celular y, por tanto, de la transición epitelio-mesénquima. Las alteraciones de esta transición son claves para la adquisición de un fenotipo maligno (Alvaro *et al.*, 2010). Este cambio es el que confiere a una neoplasia la capacidad de migrar, invadir y metastatizar. En la actualidad el concepto de cáncer como trastorno de la proliferación celular está en revisión (Alvaro *et al.*, 2010) ya que la alteración del crecimiento celular, por sí sola no basta para la transformación maligna. Por otra parte se conoce que la corrección de las alteraciones de esta interfase revierte el fenotipo maligno. En este sentido el carcinoma papilar de tiroides podría ser un buen candidato al que dirigir futuras investigaciones en este sentido

### 5.3.4.4 Citoesqueleto

#### 5.3.4.4.1 Hallazgos inmunohistoquímicos de la Citoqueratina 19

En nuestro estudio hemos aplicado, al igual que otros muchos autores, un punto de corte para la valoración de la técnica inmunohistoquímica de más del 10% de las células con tinción positiva (Asa, 2005; Cheung *et al.*, 2001; Prasad *et al.*, 2005; Schmitt *et al.*, 2010), que ha sido útil para distinguir, con significación estadística entre las lesiones benignas y malignas (Tabla 73) en consonancia con otros estudios (Nga *et al.*, 2008) y a diferencia de otros (Nasr *et al.*, 2006), con una sensibilidad media (Tabla 80); esta sensibilidad mejora si se comparan las lesiones benignas sólo con los carcinomas papilares (Tabla 87). Los porcentajes de casos positivos observados en el CPT en las HCN son similares a los publicados por otros autores (75% de los CPT con tinción positiva para la CK19 y 5% de las HCN con patrón positivo para la CK19 en la serie de AC. Schmitt, frente al 63,6% y 8,6% obtenido respectivamente en nuestra serie (Tabla 74 y 75). Nuestros resultados no apoyan la idea de que la ausencia de expresión de la CK19 excluye el diagnóstico de CPT, como afirman algunos investigadores (Nasr *et al.*, 2006). Si pensamos que a tenor de la sensibilidad y especificidad obtenidas (Tabla 80) puede ser útil en combinación con otros marcadores como lo afirman otros estudios (Prasad *et al.*, 2005), y

a diferencia de lo expresado por otros investigadores que afirman que carece de utilidad diagnóstica (Choi *et al.*, 2005).

Dentro de la patología folicular el porcentaje de casos positivos encontrado en esta serie (28,2%) es menor a lo publicado por otros autores (oscilando del 63,6% al 47%) (Choi *et al.*, 2005; Saggiorato *et al.*, 2005), y el estudio de este marcador no ha permitido diferenciar entre los AF y los casos de CFT, ni entre los diferentes subtipos de CFT (Tabla 89 y 90).

#### 5.3.4.5 Marcadores de proliferación

##### 5.3.4.5.1 Hallazgos inmunohistoquímicos del Ki67

El Ki67 es un antígeno nuclear expresado en las células proliferantes frente al cual se ha desarrollado un anticuerpo monoclonal (MIB-1) que reconoce parte de éste. El empleo del MIB-1 ha sido aplicado para determinar el índice proliferativo de multitud de lesiones que suele ser más alto en los procesos neoplásicos malignos (Brown *et al.*, 2002). En el campo de la patología endocrina ha sido empleado ampliamente encontrándose en muchos casos una utilidad pronóstica en función de su expresión. Dentro de las lesiones de la patología tiroidea su uso ha mostrado unos resultados contradictorios entre los diferentes grupos de trabajo. Mientras que algunos lo consideran un marcador útil (Ito *et al.*, 2011; Sofiadis *et al.*, 2009; Tan *et al.*, 2011), otros no han encontrado diferencias con respecto a su expresión en las lesiones malignas con respecto a las benignas (Liang *et al.*, 2009; Siironen *et al.*, 2005).

Estas diferencias son probablemente consecuencia de diferencias en el procedimiento técnico y metodología empleada para su cuantificación. Además, y añadiendo más complejidad a la valoración de este marcador, se ha observado que existen diferencias significativas en el índice proliferativo determinado con la tinción inmunohistoquímica para Ki67 del tejido tiroideo normal en función de la edad del sujeto, lo que se traduce en una disminución del índice aparejada al incremento de la edad, un hecho que debería tenerse en cuenta a la hora de comparar distintas poblaciones (Saad *et al.*, 2006). En nuestra serie al analizar la expresión de Ki 67 en función de la edad de los enfermos (<45 y  $\geq$ 45 años) se observa que el porcentaje de positividad en las muestras

## Discusión.

de enfermos jóvenes es ligeramente mayor, aunque las diferencias no son significativas (Tabla 8).

En nuestro caso hemos obtenido con la aplicación de este marcador una diferencia estadísticamente significativa al comparar los grupos de patología benigna y maligna (Tabla 76), al igual que otros autores (Ito *et al.*, 2010; Tan *et al.*, 2011). El comportamiento de este marcador dentro de estos dos grupos mostró una clara tendencia a un bajo índice proliferativo en las lesiones benignas, oscilando del 2% en los incluidos dentro del grupo de casos con diagnóstico de Graves-Basedow al 12,9% en los casos de tiroiditis (Tabla 77). Dentro de las lesiones foliculares se observó una tendencia creciente en cuanto al nivel de expresión del Ki67 en las lesiones más agresivas, pasando del 30,2% en los adenomas foliculares al 61,1% en los CFTmi y llegando al 61,5% en los CFTai (Tabla 89) encontrándose diferencias significativas desde el punto de vista estadístico entre éstas, en sintonía con el trabajo de A. Tan y cols donde observaron esta tendencia sin alcanzar una significación estadística suficiente (Tan *et al.*, 2011).

Quizás sea en el campo de las lesiones papilares donde más se ha estudiado el comportamiento de este marcador en función de los diferentes parámetros pronósticos conocidos. En la presente serie se constató muy escasa tendencia progresiva hacia una mayor expresión en los casos con peor pronóstico, pasando del 36,7% en los menores de 1cm al 38,6% en las lesiones mayores (Tabla 78). No encontramos diferencias significativas en cuanto a su expresión en función de la presencia de metástasis en el momento de la tiroidectomía (Tabla 83), a diferencia de lo publicado por otros autores (Ito *et al.*, 2010), a pesar de aplicar el mismo procedimiento para su valoración inmunohistoquímica así como utilizar el mismo anticuerpo y partir de muestras con distribución por sexo (1:6,7 frente al 1:7,2) y edad media (47,8 frente al 49) muy similares.

### 5.3.5 Analisis logístico binomial y analisis multivariante

De los 20 marcadores analizados 10 de ellos tuvieron una diistribución desigual en el adenoma folicular, carcinoma papilar y carcinoma folicular (Tablas 93 a 102). Estos fueron la TPO, la galectina 3, E-caderina, PARP-1, p63, citoqueratina 19, Ki 67, HBME-1,

KS y CITED-1. De ellos la p63, a pesar del riesgo tan alto obtenido en el análisis binomial de que una lesión p63 positiva sea un carcinoma folicular, queda invalidada ya que este resultado es producto de pocos casos. Los restantes se sometieron a un análisis multivariante.

En el análisis multivariante se obtuvo que la combinación de 5 ellos: Galectina-3, HBME-1, Ki67, CITED 1 y TPO obtenía la mayor capacidad de discriminar entre la patología benigna y maligna, con una capacidad discriminativa del 86,3 % (Gráfica 13) Este modelo da un resultado similar si se sustituye HBME-1 por KS (Gráfica 14) y es superior al formado por la combinación de CK19, Gal 3 y HBME-1, marcadores que han tenido un amplio uso en muchos estudios (Gráfica 15) (Barroeta *et al.*, 2006; de Matos *et al.*, 2005; Park *et al.*, 2007; Rossi *et al.*, 2006).

Aunque se ha desarrollado un test de diagnóstico preoperatorio basado en la expresión génica de los carcinomas de tiroides (Afirma<sup>®</sup> Gene Expression Classifier) que se ha validado de forma prospectiva en citologías de tiroides (Alexander *et al.*, 2012) su aplicación resulta muy costosa para aplicarse de forma rutinaria. Por otra parte, aunque los resultados obtenidos con este procedimiento han sido muy buenos, se parte de una población seleccionada de casos ya que se aplica a lesiones catalogadas en la citología como "indeterminadas".

En resumen, la combinación de anticuerpos que aquí proponemos puede ser de ayuda en la valoración preoperatoria de los nódulos tiroideos y eficaz para detectar los carcinomas diferenciados de tiroides. Su aplicación puede por tanto disminuir el número de intervenciones quirúrgicas que se realizan de forma innecesaria lo que redundará en beneficio para los enfermos y en una disminución considerable del gasto sanitario.

Discusión.



## **Conclusiones**

Conclusiones.

## CONCLUSIONES

1

La aplicación de técnicas inmunohistoquímicas para detectar determinados antígenos celulares es un procedimiento útil y de ayuda en el diagnóstico de los carcinomas diferenciados de tiroides.

2.

a) El estudio simultáneo de los marcadores Gal-3, HBME-1, ki67, CITED 1 y TPO ha resultado la combinación más útil en nuestro estudio para distinguir los carcinomas diferenciados de tiroides de las lesiones benignas.

b) Esta combinación resulta igualmente eficaz si se sustituye la determinación de HBME-1 por la de KS.

c) Las combinaciones reseñadas anteriormente son más eficaces para el diagnóstico de carcinoma diferenciado de tiroides que el uso simultáneo de CK19, Gal-3 y HBME-1.

3.

Los marcadores que usados de forma individual presentan mayor precisión en el diagnóstico diferencial de los carcinomas diferenciados de tiroides, particularmente para el carcinoma papilar, son el HBME-1 y KS.

4.

A pesar de que estos dos marcadores HBME-1 y KS tienen una eficacia diagnóstica superponible, la distinta distribución celular que presentan indica que los Ac utilizados para su detección reconocen moléculas diferentes.

## Conclusiones.

5.

En el carcinoma papilar de tiroides la ausencia de TPO y la expresión de Gal-3 son características de las formas más agresivas y por tanto son marcadores de progresión tumoral.

6.

En el carcinoma papilar de tiroides la pérdida de expresión de TPO en el tumor primario se relaciona significativamente con la existencia de metástasis ganglionares en el momento del diagnóstico. Este hecho puede ser de utilidad para replantear la necesidad de completar la cirugía en aquellos casos en que esta fuera incompleta de inicio.

7.

En el carcinoma folicular la ausencia de TPO y la expresión de HBME-1 se relacionan con las formas más agresivas y por tanto son marcadores de progresión tumoral.

8.

Un valor superior a 3 en nuestra escala, con la tinción inmunohistoquímica para Ki67 utilizando el anticuerpo monoclonal MIB 1, se relaciona con el diagnóstico de carcinoma folicular, un hecho a considerar en el diagnóstico diferencial de las neoplasias foliculares.

9.

De nuestro propio estudio y de la revisión de la literatura científica al respecto se deduce la necesidad de establecer protocolos técnicos y de valoración homogéneos para el estudio de marcadores en el diagnóstico diferencial de las neoplasias de tiroides, de forma semejante a los que ya existen para otras neoplasias y que puedan ser reproducibles en los distintos laboratorios de Anatomía Patológica.

Análisis mediante micromatrices de tejido de marcadores inmunohistoquímicos de utilidad en el diagnóstico diferencial del carcinoma diferenciado de tiroides

Anexos.

Análisis mediante micromatrices de tejido de marcadores inmunohistoquímicos de utilidad en el diagnóstico diferencial del carcinoma diferenciado de tiroides

**Anexos**

Anexos.



## ANEXOS

### Anexo 1. Clasificación histológica de los tumores malignos tiroideos (OMS 2004).

<b>Carcinomas de tiroides</b>	<b>Variantes aceptadas por la OMS 2004</b>
<b>Carcinoma papilar</b>	<b>Variante folicular</b> <b>Variante macrofolicular</b> <b>Variante oncocítica</b> <b>Variante de célula clara</b> <b>Variante esclerosante difusa</b> <b>Variante de células altas</b> <b>Variante columnar</b> <b>Variante sólida</b> <b>Variante cribiforme</b> <b>Variante de carcinoma papilar con estroma tipo fascitis</b> <b>Variante de carcinoma papilar con componente insular focal</b> <b>Variante de carcinoma papilar con componente escamoso o mucoepidermoide</b> <b>Variante de carcinoma papilar asociado a carcinoma fusiforme o de células gigantes</b> <b>Variante papilar-medular combinado</b> <b>Microcarcinoma papilar</b>
<b>Carcinoma folicular</b>	<b>Variante oncocítica</b> <b>Variante de célula clara</b>
<b>Carcinoma pobremente diferenciado</b>	
<b>Carcinoma indiferenciado (anaplásico)</b>	<b>Variante osteoclastica</b> <b>Variante carcinosarcoma</b> <b>Variante paucicelular</b> <b>Variante tipo linfopitelioma</b>
<b>Carcinoma escamoso</b>	
<b>Carcinoma mucoepidermoide</b>	
<b>Carcinoma mucoepidermoide esclerosante con eosinofilia</b>	
<b>Carcinoma mucinoso</b>	
<b>Carcinoma medular</b>	<b>Variante papilar o pseudopapilar</b> <b>Variante glandular</b> <b>Variante de células gigantes</b> <b>Variante de células pequeñas y tipo neuroblastoma</b> <b>Variante tipo paraganglioma</b> <b>Variante oncocítica</b> <b>Variante de célula clara</b> <b>Variante tipo angiosarcoma</b> <b>Variante escamosa</b> <b>Variante productora de melanina</b> <b>Variante anfocrina</b>
<b>Carcinoma mixto medular y folicular</b>	
<b>Tumor fusocelular con diferenciación tímica (SETTLE)</b>	
<b>Carcinoma mostrando diferenciación tímica (CASTLE)</b>	

## Anexo 2. Clasificación TNM 7ª edición (2010).

Tx	Tumor primario desconocido
T0	No evidencia de tumor
T1	Tumor inferior a 2cm en su dimensión máxima, limitado al tiroides
T1a	Tumor inferior a 1cm limitado al tiroides
T1b	Tumor mayor de 1cm e inferior a 2cm en su dimensión máxima, limitado al tiroides
T2	Tumor mayor de 2cm e inferior a 4cm en su dimensión máxima, limitado al tiroides
T3	Tumor mayor de 4cm limitado al tiroides o de cualquier tamaño con mínima extensión extratiroidea
T4a	Enfermedad moderadamente avanzada Tumor de cualquier tamaño con extensión a través de la cápsula tiroidea a tejidos blandos subcutáneos, laringe, tráquea, esófago, o nervio laríngeo recurrente.
T4b	Enfermedad muy avanzada Invasión tumoral a fascia prevertebral o atropamiento de la carótida o vasos mediastínicos

Nx	Ganglio linfáticos regionales sin valoración
N0	Ausencia de metástasis
N1	Ganglios linfáticos regionales metastáticos
N1a	Metástasis a nivel VI (pretraqueal, paratraqueal y prelaríngeo)
N1b	Metástasis en ganglios cervicales unilateral, bilateral, o contralateral (niveles I, II, III, IV, o V) o retrofaríngeos o mediastínicos superiores (nivel VII).

M0	Ausencia de metástasis
M1	Metástasis a distancia

Anexo 3. Estadaje TNM 7ª edición (2010).

ESTADIO TNM 7ª ed.	T	N	M
<b>Papilar o folicular menor de 45 años</b>			
Estadio I	Cualquier T	Cualquier N	M0
Estadio II	Cualquier T	Cualquier N	M1
<b>Papilar o folicular de 45 años o mayor</b>			
Estadio I	T1	N0	M0
Estadio II	T2	N0	M0
Estadio III	T3	N0	M0
	T1	N1a	M0
	T2	N1a	M0
	T3	N1a	M0
Estadio IVA	T4a	N0	M0
	T4a	N1a	M0
	T1	N1b	M0
	T2	N1b	M0
	T3	N1b	M0
	T4a	N1b	M0
Estadio IVB	T4b	Cualquier N	M0
Estadio IVC	Cualquier T	Cualquier N	M1
<b>Carcinoma medular</b>			
Estadio I	T1	N0	M0
Estadio II	T2	N0	M0
	T3	N0	M0
Estadio III	T1	N1a	M0
	T2	N1a	M0
	T3	N1a	M0
Estadio IVA	T4a	N0	M0
	T4a	N1a	M0
	T1	N1b	M0
	T2	N1b	M0
	T3	N1b	M0
	T4a	N1b	M0
Estadio IVB	T4b	Cualquier N	M0
Estadio IVC	Cualquier T	Cualquier N	M1
<b>Carcinoma anaplásico</b>			
Estadio IVA	T4a	Cualquier N	M0
Estadio IVB	T4b	Cualquier N	M0
Estadio IVC	Cualquier T	Cualquier N	M1

Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Green FL, Trotti A. AJCC Cancer Staging Manual 7ed. Chicago, IL: Springer; 2010.

## Anexo 4. Relación de muestras

## AÑO 2002

Nº Estudio	Nº de bloque	Diagnóstico
B02-00208	3	Adenoma folicular
B02-00218	2	Adenoma folicular
B02-00219	11	Tiroiditis linfocitaria
B02-00271	1	Carcinoma folicular
B02-00324	5	Carcinoma papilar
B02-00450	2	Tejido normal
B02-00469	1	Microcarcinoma papilar
B02-00470	2	Enfermedad de Graves
B02-00999	3	Carcinoma folicular
B02-01028	3	Hiperplasia coloide nodular
B02-01154	2	Hiperplasia coloide nodular
B02-01422	1	Carcinoma folicular
B02-01472	1	Adenoma folicular
B02-01597	1	Hiperplasia coloide nodular
B02-01642	6	Hiperplasia coloide nodular
B02-01930	1	Hiperplasia coloide nodular
B02-01974	4	Enfermedad de Graves
B02-02092	4	Hiperplasia coloide nodular
B02-02274	2	Hiperplasia coloide nodular
B02-02326	1	Enfermedad de Graves
B02-02522	2	Hiperplasia coloide nodular
B02-02704	1	Hiperplasia coloide nodular
B02-02806	A2	Hiperplasia coloide nodular
B02-02882	A5	Hiperplasia coloide nodular
B02-03105	1	Tiroiditis linfocitaria
B02-03149	A1	Microcarcinoma papilar
B02-03397	1	Hiperplasia coloide nodular
B02-03399	A1	Carcinoma folicular
B02-03408	1	Metástasis de CPT
B02-03476	1	Hiperplasia coloide nodular
B02-03478	21	Carcinoma papilar
B02-04025	1	Hiperplasia coloide nodular

Nº Estudio	Nº de bloque	Diagnóstico
B02-04093	1	Carcinoma papilar
B02-04094	1	Hiperplasia coloide nodular
B02-04347	3	Carcinoma pobremente diferenciado
B02-04428	1	Hiperplasia coloide nodular
B02-04555	1	Tejido normal
B02-04593	1	Carcinoma papilar
B02-04814	3	Hiperplasia coloide nodular
B02-04815	1	Hiperplasia coloide nodular
B02-04949	1	Hiperplasia coloide nodular
B02-05056	1	Hiperplasia coloide nodular
B02-05096	6	Hiperplasia coloide nodular
B02-05195	2	Hiperplasia coloide nodular
B02-05233	1	Hiperplasia coloide nodular
B02-05273	4	Adenoma folicular
B02-05348	2	Hiperplasia coloide nodular
B02-05999	1	Carcinoma folicular
B02-06081	2	Tejido normal
B02-06188	1	Hiperplasia coloide nodular
B02-06782	2	Hiperplasia coloide nodular
B02-06831	1	Adenoma folicular
B02-06900	A1	Hiperplasia coloide nodular
B02-06916	3	Hiperplasia coloide nodular
B02-06939	6	Enfermedad de Graves
B02-07083	3	Carcinoma papilar
B02-07102	2	Microcarcinoma papilar
B02-7102	3	Hiperplasia coloide nodular
B02-07106	1	Adenoma folicular
B02-07155	3	Carcinoma papilar
B02-07220	2	Adenoma folicular
B02-07222	6	Hiperplasia coloide nodular
B02-07229	7	Tiroiditis de Hashimoto
B02-07243	2	Hiperplasia coloide nodular

Nº Estudio	Nº de bloque	Diagnóstico
B02-07255	1	Hiperplasia coloide nodular
B02-07256	1	Tiroiditis de Hashimoto
B02-07354	1	Hiperplasia coloide nodular
B02-07554	1	Tejido normal
B02-07569	1	Hiperplasia coloide nodular
B02-07687	2	Adenoma típico
B02-07687	3	Tiroiditis de Hashimoto
B02-07752	3	Tiroiditis de Hashimoto
B02-07753	C1	Hiperplasia coloide nodular
B02-07759	1	Hiperplasia coloide nodular
B02-07794	1	Hiperplasia coloide nodular
B02-07892	1	Tiroiditis de Hashimoto
B02-08001	2	Hiperplasia coloide nodular
B02-08050	2	Hiperplasia coloide nodular
B02-08249	5	Carcinoma folicular
B02-08311	1	Microcarcinoma papilar
B02-08459	4	Hiperplasia coloide nodular
B02-08741	1	Hiperplasia coloide nodular
B02-08965	1	Tiroiditis de Hashimoto
B02-09090	2	Carcinoma papilar
B02-09150	B2	Hiperplasia coloide nodular
B02-09244	A2	Hiperplasia coloide nodular
B02-09317	1	Hiperplasia coloide nodular
B02-09318	8	Hiperplasia coloide nodular
B02-09805	1	Hiperplasia coloide nodular
B02-09807	1	Hiperplasia coloide nodular
B02-09886	2	Tejido normal
B02-10075	7	Adenoma típico
B02-10180	0	Hiperplasia coloide nodular
B02-10478	1	Enfermedad de Graves

## AÑO 2001

Nº Estudio	Nº de bloque	Diagnóstico
B01-00173	1	Hiperplasia coloide nodular
B01-00295	4	Hiperplasia coloide nodular
B01-00310	1	Tejido normal
B01-00471	A1	Microcarcinoma papilar
B01-00471	A3	Enfermedad de Graves-Basedow
B01-00629	5	Hiperplasia coloide nodular
B01-00789	1	Hiperplasia coloide nodular
B01-00838	5	Hiperplasia coloide nodular
B01-00895	2	Hiperplasia coloide nodular
B01-00976	2	Hiperplasia coloide nodular
B01-01027	A1	Hiperplasia coloide nodular
B01-01048	1	Carcinoma papilar
B01-01196	3	Hiperplasia coloide nodular
B01-01307	1	Microcarcinoma papilar
B01-01311	1	Hiperplasia coloide nodular
B01-01335	B1	Hiperplasia coloide nodular
B01-01382	3	Hiperplasia coloide nodular
B01-01473	3	Enfermedad de Graves-Basedow
B01-01474	3	Microcarcinoma papilar
B01-01617	1	Tejido normal
B01-01622	A1	Tiroiditis de Hashimoto
B01-01772	1	Hiperplasia coloide nodular
B01-01967	4	Hiperplasia coloide nodular
B01-02069	1	Hiperplasia coloide nodular
B01-02074	1	Tiroiditis de Hashimoto
B01-02277	7	Microcarcinoma papilar
B01-02622	2	carcinoma folicular
B01-02758	1	Hiperplasia coloide nodular
B01-02768	4	Hiperplasia coloide nodular
B01-02868	2	Carcinoma papilar
B01-02928	2	Hiperplasia coloide nodular
B01-02940	A1	Hiperplasia coloide nodular
B01-03017	4	Tiroiditis
B01-03047	2	Carcinoma pobremente

Anexos.

Nº Estudio	Nº de bloque	Diagnóstico
		diferenciado
B01-03087	3	Hiperplasia coloide nodular
B01-03150	A3	carcinoma folicular
B01-03151	2	Hiperplasia coloide nodular
B01-03254	12	Carcinoma papilar
B01-03268	2	Hiperplasia coloide nodular
B01-03346	3	Hiperplasia coloide nodular
B01-03382	1	Hiperplasia coloide nodular
B01-03392	1	Hiperplasia coloide nodular
B01-03437	1	Carcinoma papilar
B01-03437	5	Tiroiditis linfocitaria
B01-03456	A2	Carcinoma papilar
B01-03545	1	Hiperplasia coloide nodular
B01-03620	1	Adenoma folicular
B01-03620	2	Adenoma folicular
B01-03699	1	Carcinoma papilar
B01-03816	3	carcinoma folicular variante células oxífilas
B01-03827	2	Tejido normal
B01-03853	A2	Adenoma típico
B01-03853	A2	Carcinoma papilar
B01-04084	1	Hiperplasia coloide nodular
B01-04084	R26	Tiroiditis de Hashimoto
B01-04241	1	Tiroiditis de Hashimoto
B01-04393	1	Hiperplasia coloide nodular
B01-04861	2	Hiperplasia coloide nodular
B01-04932	A1	Hiperplasia coloide nodular
B01-05084	2	Enfermedad de Graves-Basedow
B01-05211	3	Hiperplasia coloide nodular
B01-05512	5	Tiroiditis de Hashimoto
B01-05545	2	Microcarcinoma papilar
B01-05641	1	Hiperplasia coloide nodular
B01-05687	2	Hiperplasia coloide nodular
B01-05693	3	Hiperplasia coloide nodular
B01-05738	4	Carcinoma papilar
B01-05751	4	Hiperplasia coloide nodular
B01-05896	2	carcinoma medular

Nº Estudio	Nº de bloque	Diagnóstico
B01-05971	2	Hiperplasia coloide nodular
B01-06072	1	Hiperplasia coloide nodular
B01-06300	A1	Tiroiditis de Hashimoto
B01-06402	2	Hiperplasia coloide nodular
B01-06628	A1	Carcinoma medular
B01-06629	C9	Enfermedad de Graves
B01-06727	1	Hiperplasia coloide nodular
B01-07189	1	Carcinoma papilar
B01-07198	3	Carcinoma papilar
B01-07312	2	Carcinoma papilar
B01-07390	4	Hiperplasia coloide nodular
B01-07413	1	Hiperplasia coloide nodular
B01-07496	A1	Carcinoma papilar
B01-07496	A2	Cambios sospechosos de c. papilar
B01-07525	3	Hiperplasia coloide nodular
B01-07671	1	Tejido normal
B01-07764	1	carcinoma folicular
B01-07766	4	Tiroiditis de Hashimoto
B01-07766	6	Carcinoma papilar
B01-08017	1	Hiperplasia coloide nodular
B01-08262	1	Hiperplasia coloide nodular
B01-08273	2	Hiperplasia coloide nodular
B01-08402	2	Hiperplasia coloide nodular
B01-08431	2	Enfermedad de Graves-Basedow
B01-08443	B1	Hiperplasia coloide nodular
B01-08443	B4	Microcarcinoma papilar
B01-08595	7	Carcinoma papilar
B01-08816	2	Adenoma folicular
B01-08892	1	Hiperplasia coloide nodular
B01-08950	2	Adenoma folicular
B01-08950	9	Tejido normal
B01-09091	1	Hiperplasia coloide nodular
B01-09241	7	Enfermedad de Graves-Basedow
B01-09540	A2	Hiperplasia coloide nodular
B01-09668	3	Hiperplasia coloide nodular
B01-09785	1	Hiperplasia coloide nodular

Nº Estudio	Nº de bloque	Diagnóstico
B01-09901	3	Hiperplasia coloide nodular
B01-09984	1	Microcarcinoma papilar
B01-09989	4	Hiperplasia coloide nodular

## AÑO 2000

Nº Estudio	Nº de Bloque	Diagnóstico
B00-00153	3	Hiperplasia coloide nodular
B00-00177	4	Hiperplasia coloide nodular
B00-00181	3	Adenoma folicular
B00-00182	1	Adenoma folicular
B00-00247	1	Carcinoma papilar
B00-00248	1	Hiperplasia coloide nodular
B00-00266	1	Hiperplasia coloide nodular
B00-00309	2	Hiperplasia coloide nodular
B00-00460	3	Hiperplasia coloide nodular
B00-00466	4	Hiperplasia coloide nodular
B00-00763	5	Carcinoma folicular
B00-00869	5	Hiperplasia coloide nodular
B00-00885	3	Hiperplasia coloide nodular
B00-00918	2	Hiperplasia coloide nodular
B00-01048	1	Hiperplasia coloide nodular
B00-01314	2	Adenoma folicular
B00-01358	5	Hiperplasia coloide nodular
B00-01525	A1	Hiperplasia coloide nodular
B00-01557	1	Hiperplasia coloide nodular
B00-01699	D3	Tejido normal
B00-01738	1	Carcinoma folicular
B00-01739	1	Carcinoma folicular
B00-01898	6	Adenoma folicular
B00-02154	1	Adenoma folicular
B00-02155	1	Hiperplasia coloide nodular
B00-02194	1	Hiperplasia coloide nodular
B00-02196	8	Hiperplasia coloide nodular

Nº Estudio	Nº de Bloque	Diagnóstico
B00-02246	1	Hiperplasia coloide nodular
B00-02316	2	Hiperplasia coloide nodular
B00-02320	2	Hiperplasia coloide nodular
B00-02373	1	Enfermedad de Graves
B00-02414	1	Metástasis de carcinoma papilar
B00-02501	3	Enfermedad de Graves
B00-02593	A3	Hiperplasia coloide nodular
B00-02616	3	Hiperplasia coloide nodular
B00-02678	2	Hiperplasia coloide nodular
B00-02733	1	Hiperplasia coloide nodular
B00-02758	3	Hiperplasia coloide nodular
B00-02773	2	Hiperplasia coloide nodular
B00-02774	1	Carcinoma papilar
B00-02817	1	Hiperplasia coloide nodular
B00-02818	10	Hiperplasia coloide nodular
B00-02826	6	Microcarcinoma papilar
B00-02977	4	Adenoma folicular
B00-03117	5	Carcinoma papilar
B00-03233	3	Hiperplasia coloide nodular
B00-03554	3	Hiperplasia coloide nodular
B00-03798	8	Carcinoma folicular
B00-03845	10	Hiperplasia coloide nodular
B00-03857	A6	Hiperplasia coloide nodular
B00-03861	4	Carcinoma papilar
B00-03864	4	Hiperplasia coloide nodular
B00-03898	6	Hiperplasia coloide nodular
B00-04039	A2	Hiperplasia coloide nodular
B00-04153	2	Hiperplasia coloide nodular
B00-04241	6	Carcinoma folicular
B00-04247	16	Microcarcinoma papilar
B00-04298	3	Hiperplasia coloide nodular
B00-04408	A2	Hiperplasia coloide nodular
B00-04458	3	Hiperplasia coloide nodular
B00-04548	A1	Hiperplasia coloide nodular
B00-04548	B2	Microcarcinoma papilar

Anexos.

Nº Estudio	Nº de Bloque	Diagnóstico
B00-04552	3	Hiperplasia coloide nodular
B00-04640	6	Hiperplasia coloide nodular
B00-04728	2	Hiperplasia coloide nodular
B00-04729	4	Hiperplasia coloide nodular
B00-04807	1	Enfermedad de Graves
B00-04929	2	Hiperplasia coloide nodular
B00-04931	2	Hiperplasia coloide nodular
B00-04959	2	Hiperplasia coloide nodular
B00-05031	6	Carcinoma folicular
B00-05031	7	Carcinoma anaplásico
B00-05114	5	Carcinoma papilar
B00-05187	5	Adenoma folicular
B00-05233	4	Hiperplasia coloide nodular
B00-05281	4	Hiperplasia coloide nodular
B00-05570	3	Hiperplasia coloide nodular
B00-05590	4	Hiperplasia coloide nodular
B00-05871	7	Hiperplasia coloide nodular
B00-05872	2	Hiperplasia coloide nodular
B00-05878	13	Hiperplasia coloide nodular
B00-06021	1	Hiperplasia coloide nodular
B00-06088	1	Carcinoma folicular
B00-06119	4	Hiperplasia coloide nodular
B00-06164	4	Carcinoma papilar
B00-06188	B	Tejido normal
B00-06214	A6	Carcinoma papilar
B00-06344	3	Hiperplasia coloide nodular
B00-06407	4	Tiroiditis linfocitaria
B00-06439	5	Hiperplasia coloide nodular
B00-06460	2	Hiperplasia coloide nodular
B00-06515	7	Carcinoma papilar
B00-06516	2	Adenoma folicular
B00-06553	A	Tiroiditis linfocitaria
B00-06571	6	Hiperplasia coloide nodular
B00-06581	A2	Hiperplasia coloide nodular
B00-06610	3	Hiperplasia coloide nodular

Nº Estudio	Nº de Bloque	Diagnóstico
B00-06658	1	Microcarcinoma papilar
B00-06669	3	Hiperplasia coloide nodular
B00-06799	1	Tiroiditis linfocitaria
B00-06828	2	Metástasis de carcinoma papilar
B00-06881	12	Hiperplasia coloide nodular
B00-06937	1	Adenoma folicular
B00-06938	2	Carcinoma papilar
B00-07029	A1	Microcarcinoma papilar
B00-07034	3	Adenoma folicular
B00-07254	14	Hiperplasia coloide nodular
B00-07268	6	Hiperplasia coloide nodular
B00-07301	B10	Hiperplasia coloide nodular
B00-07324	A3	Hiperplasia coloide nodular
B00-07465	14	carcinoma anaplásico
B00-07467	A2	Carcinoma folicular
B00-07515	5	Hiperplasia coloide nodular
B00-07723	5	Hiperplasia coloide nodular
B00-07724	1	Hiperplasia coloide nodular
B00-07800	10	Hiperplasia coloide nodular
B00-07890	3	Hiperplasia coloide nodular
B00-07897	2	Carcinoma papilar
B00-07915	1	Hiperplasia coloide nodular
B00-08124	2	Hiperplasia coloide nodular
B00-08167	7	Hiperplasia coloide nodular
B00-08214	13	Hiperplasia coloide nodular
B00-08215	7	Hiperplasia coloide nodular
B00-08491	3	Hiperplasia coloide nodular
B00-08499	1	Microcarcinoma papilar
B00-08781	2	Metástasis de carcinoma papilar
B00-08881	5	Tiroiditis linfocitaria
B00-08882	1	Adenoma folicular
B00-08883	1	Hiperplasia coloide nodular
B00-08938	5	Hiperplasia coloide nodular
B00-09191	2	Hiperplasia coloide nodular
B00-09221	3	Hiperplasia coloide nodular



Nº Estudio	Nº de Bloque	Diagnóstico
B00-09334	4	Tiroiditis de Hashimoto
B00-09505	2	Metástasis de carcinoma papilar
B00-09732	1	Enfermedad de Graves
B00-09770	1	Enfermedad de Graves
B00-09932	2	Hiperplasia coloide nodular
B00-09949	A1	Hiperplasia coloide nodular
B00-09985	A4	Tiroiditis de Hashimoto
B00-09986	A6	Carcinoma papilar

### AÑO 1999

Nº Estudio	Nº de bloque	Diagnóstico
B99-00049	2	Hiperplasia coloide nodular
B99-00188	4	Tejido normal
B99-00300	1	Hiperplasia coloide nodular
B99-00567	1	Hiperplasia coloide nodular
B99-00917	2	Hiperplasia coloide nodular
B99-00954	4	Tiroiditis linfocitaria
B99-00960	2	Tiroiditis linfocitaria
B99-01096	1	Hiperplasia coloide nodular
B99-01238	2	Enfermedad de Graves
B99-01326	1	Adenoma típico
B99-01412	7	Carcinoma folicular
B99-01467	B1	Hiperplasia coloide nodular
B99-01602	2	Adenoma típico
B99-01604	A1	Enfermedad de Graves
B99-01798	1	Hiperplasia coloide nodular
B99-02040	D2	Adenoma típico
B99-02041	1	Tejido normal
B99-02305	7	Hiperplasia coloide nodular
B99-02309	2	Hiperplasia coloide nodular
B99-02384	1	Tiroiditis linfocitaria
B99-02605	1	Hiperplasia coloide nodular
B99-02616	2	Microcarcinoma papilar
B99-02617	4	Hiperplasia coloide nodular
B99-02702	5	Hiperplasia coloide nodular

Nº Estudio	Nº de bloque	Diagnóstico
B99-02735	3	Carcinoma folicular
B99-02737	A4	Adenoma folicular
B99-02737	A6	Enfermedad de Graves
B99-02829	1	Hiperplasia coloide nodular
B99-03006	1	Microcarcinoma papilar
B99-03006	4	Enfermedad de Graves
B99-03099	1	Carcinoma papilar
B99-03236	2	Hiperplasia coloide nodular
B99-03272	A5	Hiperplasia coloide nodular
B99-03341	1	Carcinoma papilar
B99-03368	4	Adenoma folicular
B99-03368	3	Hiperplasia coloide nodular
B99-03371	2	Carcinoma papilar
B99-03425	2	Hiperplasia coloide nodular
B99-03524	3	Enfermedad de Graves
B99-03804	6	Hiperplasia coloide nodular
B99-03804	9	Carcinoma papilar
B99-03806	3	Hiperplasia coloide nodular
B99-04018	1	Carcinoma papilar
B99-04019	4	Hiperplasia coloide nodular
B99-04022	1	Hiperplasia coloide nodular
B99-04093	D2	Hiperplasia coloide nodular
B99-04094	1	Enfermedad de Graves
B99-04095	3	Metástasis de c. papilar
B99-04154	3	Adenoma folicular
B99-04189	1	Tiroiditis de Hashimoto
B99-04336	2	Hiperplasia coloide nodular
B99-04499	A2	Hiperplasia coloide nodular
B99-04516	3	Hiperplasia coloide nodular
B99-04739	A1	Carcinoma papilar
B99-04862	2	Hiperplasia coloide nodular
B99-04863	6	Hiperplasia coloide nodular
B99-05080	1	Tiroiditis de Hashimoto
B99-05136	1	Tiroiditis de Hashimoto
B99-05137	1	Hiperplasia coloide nodular
B99-05170	1	Hiperplasia coloide nodular
B99-05475	1	Enfermedad de Graves

Anexos.

Nº Estudio	Nº de bloque	Diagnóstico
B99-05772	<b>B</b>	Hiperplasia coloide nodular
B99-05774	<b>12</b>	Tejido normal
B99-05969	<b>1</b>	Enfermedad de Graves
B99-06871	<b>2</b>	Hiperplasia coloide nodular
B99-06934	<b>1</b>	Hiperplasia coloide nodular
B99-07007	<b>1</b>	Hiperplasia coloide nodular
B99-07108	<b>1</b>	Adenoma típico
B99-07405	<b>1</b>	Hiperplasia coloide nodular
B99-07417	<b>1</b>	Adenoma típico
B99-07446	<b>B2</b>	Hiperplasia coloide nodular
B99-07488	<b>A4</b>	Hiperplasia coloide nodular
B99-07573	<b>1</b>	Adenoma folicular
B99-07658	<b>3</b>	Carcinoma papilar
B99-07664	<b>1</b>	Hiperplasia coloide nodular
B99-07669	<b>9</b>	Microcarcinoma papilar
B99-07819	<b>1</b>	Hiperplasia coloide nodular
B99-07915	<b>1</b>	Hiperplasia coloide nodular
B99-07915	<b>9</b>	Microcarcinoma papilar
B99-08120	<b>A1</b>	Hiperplasia coloide nodular
B99-08293	<b>2</b>	Hiperplasia coloide nodular
B99-08468	<b>1</b>	Metástasis de c. papilar
B99-08829	<b>1</b>	Microcarcinoma papilar
B99-09115	<b>2</b>	Hiperplasia coloide nodular
B99-09381	<b>2</b>	Hiperplasia coloide nodular
B99-09382	<b>2</b>	Adenoma típico
B99-09440	<b>5</b>	Hiperplasia coloide nodular
B99-09687	<b>3</b>	Hiperplasia coloide nodular

**AÑO 1998**

Nº Estudio	Nº de Bloque	Diagnóstico
B98-00183	<b>3</b>	Carcinoma folicular
B98-00225	<b>4</b>	Adenoma típico
B98-00367	<b>1</b>	Hiperplasia coloide nodular
B98-00418	<b>2</b>	Hiperplasia coloide nodular
B98-00419	<b>3</b>	Adenoma folicular

Nº Estudio	Nº de Bloque	Diagnóstico
B98-00555	<b>1</b>	Hiperplasia coloide nodular
B98-00813	<b>3</b>	Hiperplasia coloide nodular
B98-01173	<b>2</b>	Carcinoma folicular
B98-01183	<b>A1</b>	Hiperplasia coloide nodular
B98-01186	<b>A4</b>	Enfermedad de Graves
B98-01253	<b>3</b>	Hiperplasia coloide nodular
B98-01322	<b>1</b>	Hiperplasia coloide nodular
B98-01441	<b>2</b>	Hiperplasia coloide nodular
B98-01582	<b>1</b>	Hiperplasia coloide nodular
B98-01660	<b>7</b>	Tiroiditis linfocitaria
B98-01688	<b>A5</b>	Hiperplasia coloide nodular
B98-01757	<b>2</b>	Hiperplasia coloide nodular
B98-01769	<b>A1</b>	Hiperplasia coloide nodular
B98-01829	<b>A2</b>	Hiperplasia coloide nodular
B98-01862	<b>2</b>	Adenoma folicular
B98-01977	<b>1</b>	Hiperplasia coloide nodular
B98-02048	<b>1</b>	Hiperplasia coloide nodular
B98-02288	<b>2</b>	Tiroiditis linfocitaria
B98-02336	<b>1</b>	Tiroiditis de Hashimoto
B98-02511	<b>2</b>	Tiroiditis de Hashimoto
B98-02565	<b>1</b>	Hiperplasia coloide nodular
B98-02703	<b>1</b>	Hiperplasia coloide nodular
B98-02735	<b>1</b>	Enfermedad de Graves
B98-02753	<b>1</b>	Hiperplasia coloide nodular
B98-02803	<b>3</b>	Carcinoma papilar
B98-02890	<b>1</b>	Adenoma típico
B98-02974	<b>A1</b>	Microcarcinoma papilar
B98-03018	<b>1</b>	Tejido normal
B98-03139	<b>1</b>	Enfermedad de Graves
B98-03389	<b>10</b>	Enfermedad de Graves
B98-03590	<b>1</b>	Hiperplasia coloide nodular
B98-03707	<b>5</b>	Carcinoma folicular
B98-03789	<b>3</b>	Carcinoma papilar
B98-03892	<b>1</b>	Hiperplasia coloide nodular
B98-04132	<b>1</b>	Hiperplasia coloide nodular
B98-04135	<b>2</b>	Adenoma folicular

Nº Estudio	Nº de Bloque	Diagnóstico
B98-04166	3	Hiperplasia coloide nodular
B98-04668	1	Hiperplasia coloide nodular
B98-05055	4	Adenoma folicular
B98-05144	1	Hiperplasia coloide nodular
B98-05149	1	Enfermedad de Graves
B98-05153	1	Hiperplasia coloide nodular
B98-05273	B1	Hiperplasia coloide nodular
B98-05295	A2	Hiperplasia coloide nodular
B98-05297	1	Hiperplasia coloide nodular
B98-05390	3	Carcinoma folicular
B98-05484	1	Enfermedad de Graves
B98-05616	2	Carcinoma papilar
B98-05618	1	Carcinoma medular
B98-05619	1	Carcinoma medular
B98-05699	1	Hiperplasia coloide nodular
B98-05731	1	Tiroiditis de Hashimoto
B98-06194	3	Carcinoma folicular
B98-06217	1	Hiperplasia coloide nodular
B98-06273	1	Enfermedad de Graves
B98-06318	3	Carcinoma folicular
B98-06645	1	Carcinoma folicular
B98-06675	1	Enfermedad de Graves
B98-06765	2	Hiperplasia coloide nodular
B98-06938	A1	Microcarcinoma papilar
B98-07091	A1	Carcinoma folicular
B98-07092	1	Hiperplasia coloide nodular
B98-07113	6	Hiperplasia coloide nodular
B98-07113	8	Microcarcinoma papilar
B98-07219	1	Enfermedad de Graves
B98-07263	1	Hiperplasia coloide nodular
B98-07269	2	Hiperplasia coloide nodular
B98-07725	1	Hiperplasia coloide nodular
B98-07764	1	Microcarcinoma papilar
B98-08067	1	Hiperplasia coloide nodular
B98-08124	6	Enfermedad de Graves
B98-08582	A2	Hiperplasia coloide nodular
B98-08584	2	Hiperplasia coloide nodular

Nº Estudio	Nº de Bloque	Diagnóstico
B98-08690	2	Carcinoma papilar
B98-09035	1	Hiperplasia coloide nodular
B98-09306	1	Hiperplasia coloide nodular
B98-09345	1	Hiperplasia coloide nodular
B98-09603	1	Enfermedad de Graves
B98-09608	1	Hiperplasia coloide nodular
B98-09659	1	Hiperplasia coloide nodular

### AÑO 1997

Nº Estudio	Nº de Bloque	Diagnóstico
B97-00483	1	Adenoma folicular
B97-00640	1	Hiperplasia coloide nodular
B97-00673	1	Carcinoma anaplásico
B97-00789	3	Enfermedad de Graves
B97-00791	2	Hiperplasia coloide nodular
B97-00965	1	Enfermedad de Graves
B97-01335	1	Adenoma folicular
B97-01655	5	Tiroiditis
B97-02089	1	Hiperplasia coloide nodular
B97-02599	5	Adenoma típico
B97-02655	1	Adenoma típico
B97-02783	1	Hiperplasia coloide nodular
B97-02842	1	Enfermedad de Graves
B97-03967	5	Microcarcinoma papilar
B97-05369	2	Enfermedad de Graves
B97-05710	1	Adenoma típico
B97-05827	2	Carcinoma papilar
B97-06192	4	Enfermedad de Graves
B97-06314	1	Adenoma folicular
B97-04651	3	Microcarcinoma papilar
B97-06973	1	Carcinoma papilar
B97-07307	2	Enfermedad de Graves
B97-07353	4	Carcinoma papilar
B97-07394	4	Carcinoma folicular
B97-07628	1	Tejido normal
B97-07657	1	Carcinoma papilar
B97-08078	2	Carcinoma folicular
B97-08294	3	Enfermedad de Graves

Anexos.

Nº Estudio	Nº de Bloque	Diagnóstico
B97-08396	1	Adenoma folicular
B97-08396	4	Hiperplasia coloide nodular
B97-08538	8	Carcinoma papilar
B97-08740	3	Tiroiditis linfocitaria
B97-08841	6	Microcarcinoma papilar
B97-08900	2	Hiperplasia coloide nodular
B97-09028	2	Enfermedad de Graves
B97-09031	2	Adenoma folicular
B97-08538	3	Adenoma folicular
B97-09604	1	Adenoma folicular
B97-09736	4	Tiroiditis
B97-09753	4	Adenoma folicular
B97-09762	2	Tiroides normal
B97-09840	5	Carcinoma folicular
B97-09912	6	Carcinoma folicular
B97-10099	4	Adenoma folicular
B97-10264	7	Microcarcinoma papilar
B97-10287	1	Enfermedad de Graves
B97-10291	2	Enfermedad de Graves
B97-10635	5	Microcarcinoma papilar
B97-10659	4	Adenoma típico
B97-10659	2	Hiperplasia coloide nodular
B97-10662	1	Hiperplasia coloide nodular
B97-10754	1	Adenoma folicular
B97-10758	6	Adenoma folicular
B97-10872	1	Adenoma folicular
B97-08133	1	Enfermedad de Graves
B97-08215	10	Carcinoma papilar
B97-05148	1	Adenoma folicular
B97-04742	3	Hiperplasia coloide nodular
B97-04612	1	Hiperplasia coloide nodular

## AÑO 1996

Nº Estudio	Nº de Bloque	Diagnóstico
B96-04742	3	Hiperplasia coloide nodular
B96-04612	1	Hiperplasia coloide nodular
B96-04615	1	Hiperplasia coloide nodular
B96-04615	7	Carcinoma papilar
B96-04700	1	Enfermedad de Graves
B96-00467	5	Tejido normal

## **Bibliografía**

## BIBLIOGRAFÍA

### A

Abbosh PH, Nephew KP. Multiple signaling pathways converge on beta-catenin in thyroid cancer. *Thyroid*. 2005 Jun;15(6):551-61.

Abo T, Balch CMA differentiation antigen of human NK and K cells identified by a monoclonal antibody (HNK-1). *J Immunol*. 1981 Sep;127(3):1024-9.

Achille M, Boukheris H, Caillou B, Talbot M, de Vathaire F, Sabatier L, et al. Expression of cell cycle biomarkers and telomere length in papillary thyroid carcinoma: a comparative study between radiation-associated and spontaneous cancers. *Am J Clin Oncol*. 2009 Feb;32(1):1-8.

Albores-Saavedra J, Gould E, Vardaman C, Vuitch F. The macrofollicular variant of papillary thyroid carcinoma: a study of 17 cases. *Hum Pathol*. 1991 Dec;22(12):1195-205.

Albores-Saavedra JA, Krueger JE. C-cell hyperplasia and medullary thyroid microcarcinoma. *Endocr Pathol*. 2001 Winter;12(4):365-77.

Aldred MA, Huang Y, Liyanarachchi S, Pellegata NS, Gimm O, Jhian S, et al. Papillary and follicular thyroid carcinomas show distinctly different microarray expression profiles and can be distinguished by a minimum of five genes. *J Clin Oncol*. 2004 Sep 1;22(17):3531-9.

Alexander EK, Kennedy GC, Baloch ZW, Cibas ES, Chudova D, Diggans J, et al. Preoperative Diagnosis of Benign Thyroid Nodules with Indeterminate Cytology. *N Engl J Med*. 2012 Jun 25. [In press]

Almudévar E, Puras A, De Miguel C, Urbiola E, López-Cousillas A, Menéndez E, et al. Aplicación de las oncoproteínas P21RAS, P53, Bcl-2 y del factor de proliferación celular Ki-67 (MIB-1) en el diagnóstico y pronóstico de tumores tiroideos. *An Sist Sanit Navar*. 2000;23(2):247-55.

Alnemri ES, Livingston DJ, Nicholson DW, Salvesen G, Thornberry NA, Wong WW, et al. Human ICE/CED-3 protease nomenclature. *Cell*. 1996 Oct 18;87(2):171.

Alvaro T, Noguera-Salvá A, Fariñas-Guerrero F. La matriz extracelular: de la mecánica molecular al microambiente tumoral (parte II). *Rev Esp Patol* 2010; 43: 24-32

Amé JC, Spenlehauer C, de Murcia G. The PARP superfamily. *Bioessays*. 2004 Aug;26(8):882-93

Anwar F, Edmond MJ, Schmidt RA, Hwuang HC, Bronner MP. Retinoblastoma expresión in thyroid neoplasms. *Mod Pathol* 2000; 13: 562-9.

Apel RL, Asa SL, LiVolsi VA. Papillary Hürthle cell carcinoma with lymphocytic stroma. "Warthin-like tumor" of the thyroid. *Am J Surg Pathol*. 1995 Jul;19(7):810-4.

Aratake Y, Kotani T, Tamura K, Araki Y, Kuribayashi T, Konoe K, Ohtaki S. Dipeptidyl aminopeptidase IV staining of cytologic preparations to distinguish benign from malignant thyroid diseases. *Am J Clin Pathol*. 1991 Sep;96(3):306-10.

Araujo CC, Asa SL. Molecular pathology of thyroid cancer. *Diagnostic Histopathology*. 2011;17(3):124-13

Arber DA, Weiss LM. CD57: A review. *Appl Immuno*. 1995;3: 137-152.

Arighi E, Borrello MG, Sariola H. RET tyrosine kinase signaling in development and cancer. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2005 Aug-Oct;16(4-5):441-67.

Aron M, Mallik A, Verma K. Fine needle aspiration cytology of follicular variant of papillary carcinoma of the thyroid: Morphologic pointers to its diagnosis. *Acta Cytol*. 2006 Nov-Dec;50(6):663-8.

Arora N, Scognamiglio T, Zhu B, Fahey TJ 3rd. Do benign thyroid nodules have malignant potential? An evidence-based review. *World J Surg.* 2008 Jul;32(7):1237-46.

Asa SL. The role of immunohistochemical markers in the diagnosis of follicular-patterned lesions of the thyroid. *Endocr Pathol.* 2005 Winter;16(4):295-309. Review.

Asioli S, Odasso C, Macrì L, Palestini N, Bussolati G. Merits of the PMiT (papillary microtumor) terminology in the definition of a subset of incidental papillary microcarcinomas of the thyroid. *Int J Surg Pathol.* 2009 Oct;17(5):378-83.

Asioli S, Erickson LA, Sebo TJ, Zhang J, Jin L, Thompson GB, et al. Papillary thyroid carcinoma with prominent hobnail features: a new aggressive variant of moderately differentiated papillary carcinoma. A clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular study of eight cases. *Am J Surg Pathol.* 2010 Jan;34(1):44-52.

Asioli S, Erickson LA, Righi A, Jin L, Volante M, Jenkins S, et al. Poorly differentiated carcinoma of the thyroid: validation of the Turin proposal and analysis of IMP3 expression. *Mod Pathol.* 2010 Sep;23(9):1269-78.

Avruch J. MAP kinase pathways: the first twenty years. *Biochim Biophys Acta.* 2007 Aug;1773(8):1150-60. Epub 2006 Nov 15.

## B

Baloch ZW, Abraham S, Roberts S, LiVolsi VA. Differential expression of cytokeratins in follicular variant of papillary carcinoma: an immunohistochemical study and its diagnostic utility. *Hum Pathol.* 1999 Oct;30(10):1166-71.

Baloch ZW, Solomon AC, LiVolsi VA. Primary mucoepidermoid carcinoma and sclerosing mucoepidermoid carcinoma with eosinophilia of the thyroid gland: a report of nine cases. *Mod Pathol.* 2000 Jul;13(7):802-7.

Baloch ZW<sup>A</sup>, LiVolsi VA. Etiology and significance of the optically clear nucleus. *Endocr Pathol.* 2002; 13 (4): 289-99.

Baloch ZW<sup>B</sup>, LiVolsi VA. Intraoperative assessment of thyroid and parathyroid lesions. *Semin Diagn Pathol.* 2002 Nov;19(4):219-26.

Baloch ZW<sup>C</sup>, Cibas ES, Clark DP, Layfield LJ, Ljung BM, Pitman MB, et al. The National Cancer Institute Thyroid fine needle aspiration state of the science conference: a summation. *Cytojournal.* 2008 Apr 7;5:6.

Baloch ZW<sup>D</sup>, LiVolsi VA, Asa SL, Rosai J, Merino MJ, Randolph G, et al. Diagnostic terminology and morphologic criteria for cytologic diagnosis of thyroid lesions: a synopsis of the National Cancer Institute Thyroid Fine-Needle Aspiration State of the Science Conference. *Diagn Cytopathol.* 2008 Jun;36(6):425-37.

Bansal M, Nikiforov YE. BRAF Mutations in Papillary Thyroid Carcinoma: Diagnostic Role, Prognostic Implications, and a Guide for Clinical Management. *Pathology case reviews* 2010; 15(4): 121-125.

Barbet J, Champion L, Kraeber-Bodéré F, Chatal JF; GTE Study Group. Prognostic impact of serum calcitonin and carcinoembryonic antigen doubling-times in patients with medullary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 Nov;90(11):6077-84.

Barroeta JE, Baloch ZW, Lal P, Pasha TL, Zhang PJ, LiVolsi VA. Diagnostic value of differential expression of CK19, Galectin-3, HBME-1, ERK, RET, and p16 in benign and malignant follicular-derived lesions of the thyroid: an immunohistochemical tissue microarray analysis. *Endocr Pathol.* 2006 Fall;17(3):225-34.

Bartolazzi A, Gasbarri A, Papotti M, Bussolati G, Lucante T, Khan A, et al. Thyroid Cancer Study Group. Application of an immunodiagnostic method for improving preoperative diagnosis of nodular thyroid lesions. *Lancet.* 2001 May 26;357(9269):1644-50.

Basolo F, Molinaro E, Agate L, Pinchera A, Pollina L, Chiappetta G, et al. RET protein expression has no prognostic impact on the long-term outcome of papillary thyroid carcinoma. *Eur J Endocrinol* 2001; 145:599-604.

## Bibliografía.

- Beesley MF, McLaren KM. Cytokeratin 19 and galectin-3 immunohistochemistry in the differential diagnosis of solitary thyroid nodules. *Histopathology*. 2002; 41(3):236-43.
- Bejarano PA, Nikiforov YE, Swenson ES, Biddinger PW. Thyroid transcription factor-1, thyroglobulin, cytokeratin 7, and cytokeratin 20 in thyroid neoplasms. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2000 Sep;8(3):189-94.
- Bernal M, Gómez GJ, Gómez FJ, Fraj M, Royo A. Cambios recientes en la incidencia y mortalidad del cáncer en España. *Oncología*. 2006; 29(3):107-113.
- Bernal M, Gómez GJ, Gómez FJ. Incremento del cáncer de tiroides. *Med Clin (Barc)*. 2009 Sep 26;133(11):442-3.
- Bernstein C, Bernstein H, Payne CM, Garewal H. DNA repair/pro-apoptotic dual-role proteins in five major DNA repair pathways: fail-safe protection against carcinogenesis. *Mutat Res*. 2002 Jun;511(2):145-78
- Blanco C, García-Díaz JD, Maqueda E, Martínez-Onsurbe P, Peláez N, Saavedra P. Eficacia diagnóstica de la punción-aspiración con aguja fina en pacientes con patología nodular tiroidea. *Análisis de 510 casos*. *Rev Clin Esp* 2005; 205(8):374-8.
- Boelaert K, McCabe CJ, Tannahill LA, Gittoes NJ, Holder RL, Watkinson JC, et al. Pituitary tumor transforming gene and fibroblast growth factor-2 expression: potential prognostic indicators in differentiated thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88(5):2341-7.
- Boelaert K, Smith VE, Stratford AL, Kogai T, Tannahill LA, Watkinson JC, et al. PTTG and PBF repress the human sodium iodide symporter. *Oncogene*. 2007 Jun 28;26(30):4344-56.
- Böhm JP, Niskanen LK, Pirinen RT, Kiraly K, Kellokoski JK, Moisio KI, et al. Reduced CD44 standard expression is associated with tumour recurrence and unfavourable outcome in differentiated thyroid carcinoma. *J Pathol*. 2000 Nov;192(3):321-7.
- Bondeson L, Bengtsson A, Bondeson AG, Dahlenfors R, Grimelius L, Wedell B, et al. Chromosome studies in thyroid neoplasia. *Cáncer*. 1989 Aug 1;64(3):680-5.
- Bongiovanni M, Sadow PM, Faquin WC. Poorly differentiated thyroid carcinoma: a cytologic-histologic review. *Adv Anat Pathol*. 2009; 16(5):283-9.
- Bos JL. ras oncogénes in human cáncer: a review. *Cáncer Res*. 1989 Sep 1;49(17):4682-9.
- Brabant G, Hoang-Vu C, Cetin Y, Dralle H, Scheumann G, Mölne J, et al. E-cadherin: a differentiation marker in thyroid malignancies. *Cáncer Res*. 1993 Oct 15;53(20):4987-93.
- Brown DC, Gatter KC. Ki67 protein: the immaculate deception?. *Histopathology*. 2002 Jan;40(1):2-11.
- Bunone G, Vigneri P, Mariani L, Butó S, Collini P, Pilotti S, et al. Expression of angiogenesis stimulators and inhibitors in human thyroid tumors and correlation with clinical pathological features. *Am J Pathol*. 1999 Dec;155(6):1967-76.
- Burgueño MJ, García-Bastos JL, González-Buitrago JM. [ROC curves in the evaluation of diagnostic tests]. *Med Clin (Barc)*. 1995 May 6;104(17):661-70.
- Burstein DE, Nagi C, Wang BY, Unger P. Immunohistochemical detection of P53 homolog p63 in solid cell nests, papillary thyroid carcinoma, and hashimoto's thyroiditis: A stem cell hypothesis of papillary carcinoma oncogenesis. *Hum Pathol*. 2004 Apr;35(4):465-73.
- Bury J<sup>A</sup>, Cross S. Molecular biology in diagnostic histopathology: Part 1 – The cell cycle *Current Diagnostic Pathology* 2003; 9(4): 266-275
- Bury J<sup>B</sup>, Cross S. Molecular biology in diagnostic histopathology: Part 2-Cell adhesion molecules. *Current Diagnostic Pathology* 2003; 9(5): 313-321



C

- Cabanes A, Vidal E, Aragonés N, Pérez-Gómez B, Pollán M, Lope V, et al. Cáncer mortality trends in Spain: 1980-2007. *Ann Oncol.* 2010 May;21 Suppl 3:iii14-20.
- Caiafa P, Guastafierro T, Zampieri M. Epigenetics: poly(ADP-ribosyl)ation of PARP-1 regulates genomic methylation patterns. *FASEB J.* 2009 Mar;23(3):672-8.
- Calatayud-Gutiérrez M, Tejero-Redondo AI, Rodríguez-Jiménez C, Azriel-Mira S. Protocolo diagnóstico del nódulo tiroideo. *Medicine* 2008; 10(14): 955-8.
- Cameselle-Teijeiro J, Chan JK. Cribriform-morular variant of papillary carcinoma: a distinctive variant representing the sporadic counterpart of familial adenomatous polyposis-associated thyroid carcinoma?. *Mod Pathol.* 1999 Apr;12(4):400-11. Review.
- Cameselle-Teijeiro J, Ruiz-Ponte C, Loidi L, Suarez-Peñaranda J, Baltar J, Sobrinho-Simoes M. Somatic but not germline mutation of the APC gene in a case of cribriform-morular variant of papillary thyroid carcinoma. *Am J Clin Pathol.* 2001 Apr;115(4):486-93.
- Cameselle-Teijeiro J, Sobrinho-Simoes M. Carcinoma papilar de la glándula tiroides. Problemas en el diagnóstico y controversias. *Rev Esp Patol* 2003; 36,(4): 373-382.
- Cameselle-Teijeiro J, Pardal F, Eloy C, Ruiz-Ponte C, Celestino R, Castro P, et al. Follicular thyroid carcinoma with an unusual glomeruloid pattern of growth. *Hum Pathol.* 2008 Oct;39(10):1540-7.
- Cañadas Garre M. Tesis doctoral. Diagnóstico preoperatorio de carcinoma papilar de tiroides mediante la determinación de la mutación BRAF<sup>T1799A</sup> en citologías de tiroides obtenidas mediante punción y aspiración con aguja fina (PAAF). Granada (España): Editorial Universidad de Granada; 2010.
- Cañadas Garre M, López de la Torre Casares M, Becerra Massare P, López Nevot MA, Villar Del Moral J, Muñoz Pérez N, et al. Presencia de la mutación BRAF<sup>T1799A</sup> en el tumor primario como indicador de riesgo, recidiva o persistencia de carcinoma papilar de tiroides. *Endocrinol Nutr.* 2011 Apr; 58(4):175-184.
- Cappelli C, Castellano M, Pirola I, Cumetti D, Agosti B, Gandossi E, Agabiti Rosei E. The predictive value of ultrasound findings in the management of thyroid nodules. *QJM.* 2007 Jan;100(1):29-35.
- Carcangiu ML Minimally Invasive Follicular Carcinoma. *Endocr Pathol.* 1997;8(3):231-234.
- Cardis E, Kesminiene A, Ivanov V, Malakhova I, Shibata Y, Khrouch V, et al. Risk of thyroid cancer after exposure to 131I in childhood. *J Natl Cancer Inst.* 2005 May 18;97(10):724-32.
- Casey MB, Zhang S, Jin L, Kajita S, Lloyd RV. Expression of cyclooxygenase-2 and thromboxane synthase in non-neoplastic and neoplastic thyroid lesions. *Endocr Pathol.* 2004 Summer; 15(2):107-16.
- Cassinelli G, Favini E, Degl'Innocenti D, Salvi A, De Petro G, Pierotti MA, et al. RET/PTC1-driven neoplastic transformation and proinvasive phenotype of human thyrocytes involve Met induction and beta-catenin nuclear translocation. *Neoplasia.* 2009 Jan;11(1):10-21
- Castellone MD, De Falco V, Rao DM, Bellelli R, Muthu M, Basolo F, et al. The beta-catenin axis integrates multiple signals downstream from RET/papillary thyroid carcinoma leading to cell proliferation. *Cáncer Res.* 2009 Mar 1;69(5):1867-76.
- Castro P, Rebocho AP, Soares RJ, Magalhães J, Roque L, Trovisco V, et al. PAX8-PPARGamma rearrangement is frequently detected in the follicular variant of papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91(1):213-220.
- Cattoretti G, Becker MH, Key G, Duchrow M, Schlüter C, Galle J, et al. Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki-67 antigen (MIB 1 and MIB 3) detect proliferating cells in microwave-processed formalin-fixed paraffin sections. *J Pathol.* 1992 Dec;168(4):357-63.

## Bibliografía.

Cavallaro U, Schaffhauser B, Christofori G. Cadherins and the tumour progression: is it all in a switch? *Cáncer Lett.* 2002 Feb 25;176(2):123-8.

Cetta F, Montalto G, Gori M, Curia MC, Cama A, Olschwang S. Germline mutations of the APC gene in patients with familial adenomatous polyposis-associated thyroid carcinoma: results from a European cooperative study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000 Jan;85(1):286-92.

Chambon P, Weill JD, Mandel P. Nicotinamide mononucleotide activation of new DNA-dependent polyadenylic acid synthesizing nuclear enzyme. *Biochem Biophys Res Commun.* 1963 Apr 2;11:39-43.

Chan JK, Carcangiu ML, Rosai J. Papillary carcinoma of thyroid with exuberant nodular fasciitis-like stroma. Report of three cases. *Am J Clin Pathol.* 1991 Mar;95(3):309-14

Chandan VS, Faquin WC, Wilbur DC, Khurana KK. The role of immunolocalization of CD57 and GLUT-1 in cell blocks in fine-needle aspiration diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *Cáncer.* 2006 Oct 25;108(5):331-6.

Chem KT, Rosai J. Follicular variant of thyroid papillary carcinoma: a clinicopathologic study of six cases. *Am J Surg Pathol.* 1977 Jun;1(2):123-30.

Chen AY, Jemal A, Ward EM. Increasing incidence of differentiated thyroid cancer in the United States, 1988-2005. *Cáncer.* 2009 Aug 15;115(16):3801-7.

Chen BK, Ohtsuki Y, Furihata M, Takeuchi T, Iwata J, Liang SB, et al. Co-overexpression of P53 protein and epidermal growth factor receptor in human papillary thyroid carcinomas correlated with lymph node metastasis, tumor size and clinicopathologic stage. *Int J Oncol.* 1999 Nov;15(5):893-8.

Cheung CC, Ezzat S, Freeman JL, Rosen IB, Asa SL. Immunohistochemical diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *Mod Pathol* 2001; 14:338-42.

Christensen L, Billchert-Toft M, Brand M, Lange M, Sneppen SB, Ravnsbaek J et al. Tryproperoxidase (TPO) immunostaining of the solitary cold thyroid nodule. *Clin Endocrinol* 2000; 53:161-169.

Chiu CG, Strugnell SS, Griffith OL, Jones SJ, Gown AM, Walker B, Nabi IR, Wiseman SM. Diagnostic utility of galectin-3 in thyroid cancer. *Am J Pathol.* 2010 May; 176(5):2067-81.

Choi YL, Kim MK, Suh JW, Han J, Kim JH, Yang JH, et al. Immunoeexpression of HBME-1, high molecular weight cytokeratin, cytokeratin 19, thyroid transcription factor-1, and E-cadherin in thyroid carcinomas. *J Korean Med Sci.* 2005 Oct;20(5):853-9.

Chudova D, Wilde JI, Wang ET, Wang H, Rabbee N, Egidio CM, et al. Molecular classification of thyroid nodules using high-dimensionality genomic data. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010 Dec;95(12):5296-304.

Ciampi R, Knauf JA, Rabes HM, Fagin JA, Nikiforov YE. BRAF kinase activation via chromosomal rearrangement in radiation-induced and sporadic thyroid cancer. *Cell Cycle.* 2005 Apr;4(4):547-8.

Civantos F, Albores-Saavedra J, Nadji M, Morales AR. Clear cell variant of thyroid carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 1984 Mar;8(3):187-92.

Cibas ES, Ali SZ. The Bethesda System For Reporting Thyroid Cytopathology. *Am J Clin Pathol.* 2009 Nov;132(5):658-65

Cooper DS, Axelrod L, DeGroot LJ, Vickery AL Jr, Maloof F. Congenital goiter and the development of metastatic follicular carcinoma with evidence for a leak of nonhormonal iodide: clinical, pathological, kinetic, and biochemical studies and a review of the literature. *J Clin Endocrinol Metab.* 1981 Feb;52(2):294-306.

Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, Kloos RT, Lee SL, Mandel SJ, et al; American Thyroid Association Guidelines Taskforce. Management guidelines for

patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid*. 2006 Feb;16(2):109-42.

Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, Kloos RT, Lee SL, Mandel SJ, et al. Revised American Thyroid Association management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid*. 2009 Nov;19(11):1167-214.

Cordon-Cardo C, Koff A, Drobnjak M, Capodieci P, Osman I, Millard SS, et al. Distinct altered patterns of P27KIP1 gene expression in benign prostatic hyperplasia and prostatic carcinoma. *J Natl Cancer Inst*. 1998 Sep 2;90(17):1284-91.

Cornetta AJ, Russell JP, Cunnane M, Keane WM, Rothstein JL. Cyclooxygenase-2 expression in human thyroid carcinoma and Hashimoto's thyroiditis. *Laryngoscope* 2002; 112: 238-42

Cortázar García R, Quirós López R, Acebal Blanco MM. El papel del radiólogo en el manejo del nódulo tiroideo. *Radiología* 2008;50:471-81.

Corvi R, Martinez-Alfaro M, Harach HR, Zini M, Papotti M, Romeo G. Frequent RET rearrangements in thyroid papillary microcarcinoma detected by interphase fluorescence in situ hybridization. *Lab Invest*. 2001 Dec;81(12):1639-45.

Cote RJ, Shi Y, Groshen S, Feng AC, Cordon-Cardo C, Skinner D, et al. Association of P27Kip1 levels with recurrence and survival in patients with stage C prostate carcinoma. *J Natl Cancer Inst*. 1998 Jun 17;90(12):916-20.

Cruz J, Eloy C, Aragüés JM, Vinagre J, Sobrinho-Simões M. Small-Cell (Basaloid) Thyroid Carcinoma: A Neoplasm With a Solid Cell Nest Histogenesis?. *Int J Surg Pathol*. 2011.

#### D

Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature*. 2002 Jun 27;417 (6892):949-54.

Davies L, Welch HG. Increasing incidence of thyroid cancer in the United States, 1973-2002. *JAMA*. 2006; 295 (18):2164-7.

DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, et al. Eds. *Tumor of endocrine Organs*. Lyon, France: IARC Press, World Health Organization Classification of Tumours; 2004: 51-105.

de Matos PS, Ferreira AP, de Oliveira Facuri F, Assumpção LV, Metzke K, Ward LS. Usefulness of HBME-1, cytokeratin 19 and galectin-3 immunostaining in the diagnosis of thyroid malignancy. *Histopathology*. 2005 Oct;47(4):391-401.

de Matos PS, Ferreira AP, Ward LS. Prevalence of papillary microcarcinoma of the thyroid in Brazilian autopsy and surgical series. *Endocr Pathol*. 2006 Summer;17(2):165-73.

De Micco C, Ruf J, Chrestian MA, Gros N, Henry JF, Carayon P. Immunohistochemical study of thyroid peroxidase in normal, hyperplastic, and neoplastic human thyroid tissues. *Cancer* 1991; 67: 3036-41.

De Micco C, Vasko V, Garcia S, Zoro P, Denizot A, Henry JF. Fine-needle aspiration of thyroid follicular neoplasm: diagnostic use of thyroid peroxidase immunocytochemistry with monoclonal antibody 47. *Surgery* 1994; 116: 1031-5

De Micco C, Zoro P, Garcia S, Skoog L, Tani EM, Carayon P et al. Thyroid peroxidase immunodetection as a tool to assist diagnosis of thyroid nodules on fine-needle aspiration biopsy. *Eur J Endocrinol* 1994; 131: 474-9

De Micco C, Vasko V, Henry JF. The value of thyroid peroxidase immunohistochemistry for preoperative fine-needle aspiration diagnosis of the follicular variant of papillary thyroid cancer. *Surgery* 1999; 126: 1200-4

Di Cristofaro J, Silvy M, Lanteaume A, Marcy M, Carayon P, De Mico. Expression of tpo mRNA in thyroid tumors: quantitative PCR analysis and correlation with alterations

## Bibliografía.

of ret, Braf, ras and pax8 genes. *Endocr Relat Cáncer* 2006;13:485-95

Dobashi Y, Sakamoto A, Sugimura H, Mernyei M, Mori M, Oyama T, et al. Overexpression of P53 as a possible prognostic factor in human thyroid carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 1993 Apr;17(4):375-81.

Dohán O, Baloch Z, Bánrévi Z, Livolsi V, Carrasco N. Rapid communication: predominant intracellular overexpression of the Na(+)/I(-) symporter (NIS) in a large sampling of thyroid cancer cases. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001 Jun;86(6):2697-700.

Donghi R, Longoni A, Pilotti S, Michieli P, Della Porta G, Pierotti MA. Gene P53 mutations are restricted to poorly differentiated and undifferentiated carcinomas of the thyroid gland. *J Clin Invest*. 1993 Apr;91(4):1753-60.

Duh QY, Siperstein AE, Miller RA, Sancho JJ, Demeure MJ, Clark OH. Epidermal growth factor receptors and adenylate cyclase activity in human thyroid tissues. *World J Surg*. 1990 May-Jun;14(3):410-7

Dumic J, Dabelic S, Flögel M. Galectin-3: an open-ended story. *Biochim Biophys Acta*. 2006 Apr; 1760(4):616-35.

Durkacz BW, Omidiji O, Gray DA, Shall S. (ADP-ribose)n participates in DNA excision repair. *Nature*. 1980 Feb 7;283(5747):593-6.

Dwight T, Thoppe SR, Foukakis T, Lui WO, Tallin G, Hoog A, et al. Involvement of PAX8/peroxisome proliferator-activated receptor gamma rearrangement in follicular thyroid tumors. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88:4440-4445

### E

Eberhardt NL, Grebe SK, McIver B, Reddi HV. The role of the PAX8/PPARGgamma fusion oncogene in the pathogenesis of follicular thyroid cancer. *Mol Cell Endocrinol*. 2010 May 28;321(1):50-6.

El Demellawy D, Nasr A, Alowami S. Application of CD56, P63 and CK 19 immunohistochemistry in the diagnosis of

papillary carcinoma of the thyroid. *Diagn Pathol*. 2008 Feb 6;3:5.

Eng C, Clayton D, Schuffenecker I, Lenoir G, Cote G, Gagel RF, et al. The relationship between specific RET proto-oncogene mutations and disease phenotype in multiple endocrine neoplasia type 2. International RET mutation consortium analysis. *JAMA*. 1996 Nov 20;276(19):1575-9.

Eng C. Ret proto-oncogene in the development of human cancer. *J Clin Oncol*. 1999; 17(1):380-393

Enewold L, Zhu K, Ron E, Marrogi AJ, Stojadinovic A, Peoples GE, et al. Rising thyroid cancer incidence in the United States by demographic and tumor characteristics, 1980-2005. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009 Mar;18(3):784-91.

Erdem H, Gündođdu C, Sipal S. Correlation of E-cadherin, VEGF, COX-2 expression to prognostic parameters in papillary thyroid carcinoma. *Exp Mol Pathol*. 2011 Feb; 90 (3):312-317.

Erickson LA, Yousef OM, Jin L, Lohse CM, Pankratz VS, Lloyd RV. P27kip1 expression distinguishes papillary hyperplasia in Graves' disease from papillary thyroid carcinoma. *Mod Pathol*. 2000 Sep;13(9):1014-9.

Espósito V, Baldi A, De Luca A, Groger AM, Loda M, Giordano GG, et al. Prognostic role of the cyclin-dependent kinase inhibitor P27 in non-small cell lung cancer. *Cancer Res*. 1997 Aug 15;57(16):3381-5.

Eze OP, Starker LF, Carling T. The role of epigenetic alterations in papillary thyroid carcinogenesis. *J Thyroid Res*. 2011;2011:895470.

### F

Fagin JA, Matsuo K, Karmakar A, Chen DL, Tang SH, Koeffler HP. High prevalence of mutations of the P53 gene in poorly differentiated human thyroid carcinomas. *J Clin Invest*. 1993 Jan;91(1):179-84.

- Fagin JA. How thyroid tumors start and why it matters: kinase mutants as targets for solid cancer pharmacotherapy. *J Endocrinol.* 2004; 183(2): 249-56
- Fagin JA, Mitsiades N. Molecular pathology of thyroid cancer: diagnostic and clinical implications. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2008 Dec;22(6):955-69.
- Faquin WC, Baloch ZW. Fine-needle aspiration of follicular patterned lesions of the thyroid: Diagnosis, management, and follow-up according to National Cancer Institute (NCI) recommendations. *Diagn Cytopathol.* 2010; 38:731-9
- Farid NR, Shi Y, Zou M. Molecular basis of thyroid cancer. *Endocr Rev.* 1994 Apr;15(2):202-32.
- Farid NR. P53 mutations in thyroid carcinoma: tidings from an old foe. *J Endocrinol Invest.* 2001 Jul-Aug;24(7):536-45.
- Faroux MJ, Theobald S, Pluot M, Patey M, Menzies D. Evaluation of the monoclonal antibody antithyroperoxidase MoAb47 in the diagnosis decision of cold thyroid nodules by fine needle aspiration. *Pathol Res Pract* 1997; 193: 705-12
- Fedele M, Palmieri D, Chiappetta G, Pasquinelli R, De Martino I, Arra C, Palma G, et al. Impairment of the P27kip1 function enhances thyroid carcinogenesis in TRK-T1 transgenic mice. *Endocr Relat Cancer.* 2009 Jun;16(2):483-90.
- Fellmer PT, Sato K, Tanaka R, Okamoto T, Kato Y, Kobayashi M, et al. Vascular endothelial growth factor-C gene expression in papillary and follicular thyroid carcinomas. *Surgery.* 1999 Dec;126(6):1056-61; discussion 1061-2.
- Fernández PL, Merino MJ, Gómez M, Campo E, Medina T, Castronovo V, et al. Galectin-3 and laminin expression in neoplastic and non-neoplastic thyroid tissue. *J Pathol.* 1997 Jan;181(1):80-6.
- Filie AC, Asa SL, Geisinger KR, Logani S, Merino M, Nikiforov YE, et al. Utilization of ancillary studies in thyroid fine needle aspirates: a synopsis of the National Cancer Institute Thyroid Fine Needle Aspiration State of the Science Conference. *Diagn Cytopathol.* 2008 Jun;36(6):438-41.
- Folpe AL, Lloyd RV, Bacchi CE, Rosai J. Spindle epithelial tumor with thymus-like differentiation: a morphologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 11 cases. *Am J Surg Pathol.* 2009 Aug;33(8):1179-86.
- Fosslien E. Review: molecular pathology of cyclooxygenase-2 in cancer-induced angiogenesis. *Ann Clin Lab Sci.* 2001 Oct;31(4):325-48.
- Fowler LJ, Lachar WA. Application of immunohistochemistry to cytology. *Arch Pathol Lab Med.* 2008 Mar;132(3):373-83.
- Fröhlich E, Engel E, Wahl R. Decrease in Dipeptidyl Peptidase IV Activity is Linked to the Efficacy of Differentiating Compounds in Follicular Thyroid Carcinoma Cell Lines. *Horm Metab Res.* 2011 May;43(5):364-6.
- Fukahori M, Yoshida A, Hayashi H, Yoshihara M, Matsukuma S, Sakuma Y, et al. The association between RAS gene mutations and clinical characteristics in follicular thyroid tumors: new insights from a single center and a large patient cohort. *Thyroid.* 2012 Mar 10.
- Fukushima M, Ito Y, Hirokawa M, Kobayashi K, Miya A, Takamura Y, et al. Macrofollicular variant of papillary thyroid carcinoma: its clinicopathological features and long-term prognosis. *Endocr J.* 2009 Jun;56(3):503-8
- Funderburgh JL. Keratan sulfate: structure, biosynthesis, and function. *Glycobiology.* 2000 Oct;10(10):951-8. Review.
- Fusco A, Grieco M, Santoro M, Berlingieri MT, Pilotti S, Pierotti MA, et al. A new oncogene in human thyroid

## Bibliografía.

papillary carcinomas and their lymph-nodal metastases. *Nature*. 1987 Jul 9-15;328(6126):170-2.

Fusco A, Santoro M. 20 years of RET/PTC in thyroid cancer: clinico-pathological correlations. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2007 Jul;51(5):731-5.

### G

Galofré JC. Management of thyroid cancer in Spain. *Endocrinol Nutr*. 2010; 57(8):347-9.

Galofré JC, Calleja A, Panadizo A, Salvador J. Biología molecular del carcinoma de tiroides de estripe follicular. Bases moleculares en la oncogénesis tiroidea. *Rev Med Univ Navarra* 2002; 46(4): 18-28.

García de la Torre N, Buley I, Wass JA, Jackson DG, Turner HE. Angiogenesis and lymphangiogenesis in parathyroid proliferative lesions. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Jun;89(6):2890-6.

García-González M, Abdulkader I, Boquete AV, Neo XM, Forteza J, Cameselle-Teijeiro J. Cyclooxygenase-2 in normal, hyperplastic and neoplastic follicular cells of the human thyroid gland. *Virchows Arch*. 2005 Jul;447(1):12-7.

García-Rostán G, Tallini G, Herrero A, D'Aquila TG, Carcangiu ML, Rimm DL. Frequent mutation and nuclear localization of beta-catenin in anaplastic thyroid carcinoma. *Cancer Res*. 1999 Apr 15;59(8):1811-5.

García-Rostán G, Camp RL, Herrero A, Carcangiu ML, Rimm DL, Tallini G. Beta-catenin dysregulation in thyroid neoplasms: down-regulation, aberrant nuclear expression, and CTNNB1 exon 3 mutations are markers for aggressive tumor phenotypes and poor prognosis. *Am J Pathol*. 2001 Mar;158(3):987-96.

García-Rostán G, Zhao H, Camp RL, Pollan M, Herrero A, Pardo J, et al. ras mutations are associated with aggressive tumor phenotypes and poor prognosis in thyroid cancer. *J Clin Oncol*. 2003 Sep 1;21(17):3226-35.

García-Rostán G, Costa AM, Pereira-Castro I, Salvatore G, Hernandez R, Hermsem MJ, et al. Mutation of the PIK3CA gene in anaplastic thyroid cancer. *Cancer Res*. 2005 Nov 15;65(22):10199-207.

García-Rostán G, Sobrinho-Simões M. Poorly differentiated thyroid carcinoma: an evolving entity. *Diagnostic Histopathology*. 2011; 17 (3):114-123.

Gasbarri A, Martegani MP, Del Prete F, Lucante T, Natali PG, Bartolazzi A. Galectin-3 and CD44v6 Isoforms in the Preoperative Evaluation of Thyroid Nodules *J Clin Oncol* 17:3494-3502. 1999

Genkai N, Homma J, Sano M, Tanaka R, Yamanaka R. Increased expression of pituitary tumor-transforming gene (PTTG)-1 is correlated with poor prognosis in glioma patients. *Oncol Rep*. 2006 Jun;15(6):1569-74.

Gharib H. Fine-needle aspiration biopsy of thyroid nodules: advantages, limitations, and effect. *Mayo Clin Proc*. 1994 Jan;69(1):44-9.

Ghossein R, Livolsi VA. Papillary thyroid carcinoma tall cell variant. *Thyroid*. 2008 Nov;18(11):1179-81.

Giannini R, Ugolini C, Lupi C, Proietti A, Elisei R, Salvatore G, et al. The heterogeneous distribution of BRAF mutation supports the independent clonal origin of distinct tumor foci in multifocal papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Sep;92(9):3511-6

Gianoukakis AG, Giannelli SM, Salameh WA, McPhaul LW. Well differentiated follicular thyroid neoplasia: impact of molecular and technological advances on detection, monitoring and treatment. *Mol Cell Endocrinol*. 2011 Jan 30;332(1-2):9-20

Giusti F, Falchetti A, Franceschelli F, Marini F, Tanini A, Brandi ML. Thyroid cancer: current molecular perspectives. *J Oncol*;2010: 351679.

Godballe C, Asschenfeldt P, Jørgensen KE, Bastholt L, Clausen PP, Hansen TP, et al. Prognostic factors in

papillary and follicular thyroid carcinomas: P53 expression is a significant indicator of prognosis. *Laryngoscope*. 1998 Feb;108(2):243-9.

Gomard T, Jariel-Encontre I, Basbous J, Bossis G, Mocquet-Torcy G, Piechaczyk M. Fos family protein degradation by the proteasome. *Biochem Soc Trans*. 2008 Oct;36(Pt 5):858-63.

Gómez JM. Utilidad diagnóstica de los marcadores tumorales en la citología del tiroides extraída por punción-aspiración con aguja fina. *Endocrinol Nutr*. 2007;54(9):485-90

Gómez-Morales M, Alvaro T, Muñoz M, Garcia del Moral R, Aguilar D, Caballero T, et al. Diffuse sclerosing papillary carcinoma of the thyroid gland: immunohistochemical analysis of the local host immune response. *Histopathology*. 1991 May;18(5):427-33.

González-Cámpora R, Galera-Ruiz D, Armas-Padrón JR, Ota-Salaverri C, Galera-Davidson H. Dipeptidyl aminopeptidase IV in the cytologic diagnosis of thyroid carcinoma. *Diagn Cytopathol*. 1998 Jul 1; 19(1):4-8.

Gordon-Shaag A, Yosef Y, Abd El-Latif M, Oppenheim A. The abundant nuclear enzyme PARP participates in the life cycle of simian virus 40 and is stimulated by minor capsid protein VP3. *J Virol*. 2003 Apr;77(7):4273-82.

Graff JR, Greenberg VE, Herman JG, Westra WH, Boghaert ER, Ain KB, et al. Distinct patterns of E-cadherin CpG island methylation in papillary, follicular, Hurthle's cell, and poorly differentiated human thyroid carcinoma. *Cancer Res*. 1998 May 15;58(10):2063-6.

Greco A, Borrello MG, Miranda C, Degl'Innocenti D, Pierotti MA. Molecular pathology of differentiated thyroid cancer. *Q J Nucl Med Mol Imaging*. 2009 Oct;53(5):440-53

Greenberg ER, Baron JA. Aspirin and other nonsteroid anti-inflammatory drugs as cancer-preventive agents. *IARC Sci Publ*. 1996 139: 91-8

Gregory Powell J, Wang X, Allard BL, Sahin M, Wang XL, Hay ID, et al. The PAX8/PPARgamma fusion oncoprotein transforms immortalized human thyrocytes through a mechanism probably involving wild-type PPARgamma inhibition. *Oncogene*. 2004 Apr 29 ;23(20):3634-41.

Griffith OL, Chiu CG, Gown AM, Jones SJ, Wiseman SM. Biomarker panel diagnosis of thyroid cancer: a critical review. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2008 Sep;8(9):1399-413.

Grodski S, Delbridge L. An update on papillary microcarcinoma. *Curr Opin Oncol*. 2009 Jan;21(1):1-4.

Guigon CJ, Zhao L, Lu C, Willingham MC, Cheng SY. Regulation of beta-catenin by a novel nongenomic action of thyroid hormone beta receptor. *Mol Cell Biol*. 2008 Jul;28(14):4598-608.

Guth S, Theune U, Aberle J, Galach A, Bamberger CM. Very high prevalence of thyroid nodules detected by high frequency (13 MHz) ultrasound examination. *Eur J Clin Invest*. 2009 Aug;39(8):699-706.

## H

Hahn WC, Counter CM, Lundberg AS, Beijersbergen RL, Brooks MW, Weinberg RA. Creation of human tumour cells with defined genetic elements. *Nature*. 1999 Jul 29;400(6743):464-8.

Hakem R. DNA-damage repair; the good, the bad, and the ugly. *EMBO J*. 2008 Feb 20;27(4):589-605.

Hakmé A, Wong HK, Dantzer F, Schreiber V. The expanding field of poly(ADP-ribosyl)ation reactions. 'Protein Modifications: Beyond the Usual Suspects' Review Series. *EMBO Rep*. 2008 Nov;9(11):1094-100.

Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000 Jan 7;100(1):57-70.

Hales M, Rosenau W, Okerlund MD, Galante M. Carcinoma of the thyroid with a mixed medullary and follicular pattern: morphologic, immunohistochemical,

## Bibliografía.

- and clinical laboratory studies. *Cáncer*. 1982 Oct 1;50(7):1352-9.
- Harach HR. Familial nonmedullary thyroid neoplasia. *Endocr Pathol*. 2001 Summer;12(2):97-112.
- Harach HR, Escalante DA, Day ES. Thyroid cáncer and thyroiditis in Salta, Argentina: a 40-yr study in relation to iodine prophylaxis. *Endocr Pathol*. 2002 Fall;13(3):175-81.
- Hawk WA, Hazard JB. The many appearances of papillary carcinoma of the thyroid. *Cleve Clin Q*. 1976;43(4):207-15.
- Hegedüs L. Clinical practice. The thyroid nodule. *N Engl J Med*. 2004;351(17):1764-71.
- Henry JF, Denizot A, Porcelli A, Villafane M, Zoro P, Garcia S, et al Thyroperoxidase immunodetection for the diagnosis of malignancy on fine-needle aspiration of thyroid nodule. *World J Surg* 1994; 18:529-34
- Herránz González-Botas J, Barro CV, Vidal JM. Grupos de riesgo en carcinomas diferenciados de tiroides. *Acta Otorrinolaringol Esp*. 2011 Jan-Feb;62(1):14-9.
- Hershman JM, Cheng SY, Gianoukakis AG. Update in thyroidology 2010. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011 Jan; 96(1):9-14.
- Hirai K, Ueda K, Hayaishi O. Aberration of poly(adenosine diphosphate-ribose) metabolism in human colon adenomatous polyps and cáncers. *Cáncer Res*. 1983 Jul;43(7):3441-6.
- Hla T, Bishop-Balley D, Liu CH, Schaeffers HJ, Trifan OC. Cyclooxygenase-1 and -2 isoenzymes. *Int. J Biochem Cell Biol*. 1999;31: 551-7
- Holm R, Sobrinho-Simões M, Nesland JM, Gould VE, Johannessen JV. Medullary carcinoma of the thyroid gland: an immunocytochemical study. *Ultrastruct Pathol*. 1985;8(1):25-41.
- Holm R, Nesland JM. Retinoblastoma and P53 tumour suppressor gene protein expression in carcinomas of the thyroid gland. *J Pathol*. 1994 Mar; 172(3):267-72.
- Hoos A, Urist MJ, Stojadinovic A, Mastorides S, Dudas ME, Leung DH, et al. Validation of tissue microarrays for immunohistochemical profiling of cáncer specimens using the example of human fibroblastic tumors. *Am J Pathol*. 2001 Apr; 158(4):1245-51.
- Horner MJ, Ries LAG, Krapcho M, Neyman N, Aminou R, Howlander N, et al (eds). SEER Cáncer Statistics Review, 1975-2007, National Cáncer Institute. Bethesda, MD, [http://seer.cáncer.gov/csr/1975\\_2007/index.html](http://seer.cáncer.gov/csr/1975_2007/index.html), based on November 2008 SEER data submission, posted to the SEER web site, 2009. Última entrada 20 de junio 2012.
- Hosal SA, Apel RL, Freeman JL, Azadian A, Rosen IB, LiVolsi VA, et al. Immunohistochemical Localization of P53 in Human Thyroid Neoplasms: Correlation with Biological Behavior. *Endocr Pathol*. 1997 Spring;8 (1):21-28.
- Hou P, Liu D, Shan Y, Hu S, Studeman K, Condouris S, et al. Genetic alterations and their relationship in the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway in thyroid cáncer. *Clin Cáncer Res*. 2007 Feb 15;13(4):1161-70.
- Hu S, Liu D, Tufano RP, Carson KA, Rosenbaum E, Cohen Y, et al. Association of aberrant methylation of tumor suppressor genes with tumor aggressiveness and BRAF mutation in papillary thyroid cáncer. *Int J Cáncer*. 2006 Nov 15;119(10):2322-9.
- Huang Y, Prasad M, Lemon WJ, Hampel H, Wright FA, Kornacker K, et al. Gene expresión in papillary thyroid carcinoma reveals highly consistent profiles. *Proc. Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 15044-9
- Huang Y, Guigon CJ, Fan J, Cheng SY, Zhu GZ. Pituitary homeobox 2 (PITX2) promotes thyroid carcinogenesis by activation of cyclin D2. *Cell Cycle*. 2010 Apr 1;9(7):1333-41.



Hughes DT, Haymart MR, Miller BS, Gauger PG, Doherty GM. The most commonly occurring papillary thyroid cancer in the United States is now a microcarcinoma in a patient older than 45 years. *Thyroid*. 2011 Mar;21(3):231-6.

#### I

Ipollito A, Vella V, La Rosa GL, Pellegriti G, Vigneri R, Belfiore A. Immunostaining for Met/HGF receptor may be useful to identify malignancies in thyroid lesions classified suspicious at fine-needle aspiration biopsy. *Thyroid* 2001; 11: 783-7

Ishigaki K, Namba H, Nakashima M, Nakayama T, Mitsutake N, Hayashi T, et al. Aberrant localization of beta-catenin correlates with overexpression of its target gene in human papillary thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002 Jul;87(7):3433-40.

Ito N, Yokota M, Nagaïke C, Morimura Y, Hatake K, Tanaka O, et al. Simultaneous expression of keratan sulphate epitope (a sulphated poly-N-acetyllactosamine) and blood group ABH antigens in papillary carcinomas of the human thyroid gland. *Histochem J*. 1996 Sep;28(9):613-23.

Ito T, Seyama T, Mizuno T, Tsuyama N, Hayashi T, Hayashi Y, et al. Unique association of P53 mutations with undifferentiated but not with differentiated carcinomas of the thyroid gland. *Cancer Res*. 1992 Mar 1;52(5):1369-71.

Ito T, Seyama T, Mizuno T, Tsuyama N, Hayashi Y, Dohi K, et al. Genetic alterations in thyroid tumor progression: association with P53 gene mutations. *Jpn J Cancer Res*. 1993 May;84(5):526-31.

Ito Y, Yoshida H, Nakano K, Takamura Y, Miya A, Kobayashi K, et al. Cyclooxygenase-2 expression in thyroid neoplasms. *Histopathology*. 2003 May;42(5):492-7

Ito Y, Yoshida H, Tomoda C, Miya A, Kobayashi K, Matsuzuka F, et al. Galectin-3 expression in follicular tumours: an immunohistochemical study of its use as a

marker of follicular carcinoma. *Pathology*. 2005 Aug;37(4):296-8.

Ito Y, Miyauchi A, Nakamura Y, Miya A, Kobayashi K, Kakudo K. Clinicopathologic significance of intrathyroidal epithelial thymoma/carcinoma showing thymus-like differentiation: a collaborative study with Member Institutes of The Japanese Society of Thyroid Surgery. *Am J Clin Pathol*. 2007 Feb;127(2):230-6.

Ito Y, Miyauchi A. Prognostic factors and therapeutic strategies for differentiated carcinomas of the thyroid. *Endocr J*. 2009 Apr;56(2):177-92.

Ito Y, Miyauchi A, Kakudo K, Hirokawa M, Kobayashi K, Miya A. Prognostic significance of ki-67 labeling index in papillary thyroid carcinoma. *World J Surg*. 2010 Dec; 34(12):3015-21.

#### J

Jameson JL. Minimizing Unnecessary Surgery for Thyroid Nodules. *N Engl J Med*. 2012 Jun 25. [In press]

Jia S, Wang J. Carbohydrate Binding Protein 35. *J. Biol. Chem*. 1988; 263; 6009–6011

Jiang Z, Chu PG, Woda BA, Rock KL, Liu Q, Hsieh CC, et al. Analysis of RNA-binding protein IMP3 to predict metastasis and prognosis of renal-cell carcinoma: a retrospective study. *Lancet Oncol*. 2006; 7 (7):556-64

Jin L, Seys AR, Zhang S, Erickson-Johnson MR, Roth CW, Evers BR, et al. Diagnostic utility of IMP3 expression in thyroid neoplasms: a quantitative RT-PCR study. *Diagn Mol Pathol*. 2010; 19(2): 63-69

Johnson TL, Lloyd RV, Thompson NW, Beierwaltes WH, Sisson JC. Prognostic implications of the tall cell variant of papillary thyroid carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 1988 Jan;12(1):22-7.

#### K

Kajita S, Ruebel KH, Casey MB, Nakamura N, Lloyd RV. Role of COX-2, thromboxane A2 synthase, and

## Bibliografía.

- prostaglandin I2 synthase in papillary thyroid carcinoma growth. *Mod Pathol.* 2005 Feb;18(2):221-7
- Kakar SS. Molecular cloning, genomic organization, and identification of the promoter for the human pituitary tumor transforming gene (PTTG). *Gene.* 1999 Nov 29;240(2):317-24.
- Karaca Z, Tanriverdi F, Unluhizarci K, Ozturk F, Gokahmetoglu S, Elbuken G, et al. VEGFR1 expression is related to lymph node metastasis and serum VEGF may be a marker of progression in the follow-up of patients with differentiated thyroid carcinoma. *Eur J Endocrinol.* 2011 Feb;164(2):277-84.
- Kataki A, Sotirianakos S, Memos N, Karayiannis M, Messaris E, Leandros E, et al. P53 and C-FOS overexpression in patients with thyroid cancer: an immunohistochemical study. *Neoplasma* 2003; 50:26-30
- Katoh R, Sugai T, Ono S, Takayama K, Tomichi N, Kurihara H, Takamatsu M. Mucoepidermoid carcinoma of the thyroid gland. *Cancer.* 1990 May 1;65(9):2020-7.
- Katoh R, Sasaki J, Kurihara H, Suzuki K, Iida Y, Kawaoi A. Multiple thyroid involvement (intraglandular metastasis) in papillary thyroid carcinoma. A clinicopathologic study of 105 consecutive patients. *Cancer.* 1992 Sep 15;70(6):1585-90.
- Kaufmann O, Dietel M. Expression of thyroid transcription factor-1 in pulmonary and extrapulmonary small cell carcinomas and other neuroendocrine carcinomas of various primary sites. *Histopathology.* 2000 May;36(5):415-20.
- Kebebew E, Weng J, Bauer J, Ranvier G, Clark OH, Duh QY, et al. The prevalence and prognostic value of BRAF mutation in thyroid cancer. *Ann Surg.* 2007 Sep;246(3):466-70; discussion 470-1.
- Keyomarsi K, Tucker SL, Buchholz TA, Callister M, Ding Y, Hortobagyi GN, et al. Cyclin E and survival in patients with breast cancer. *N Engl J Med.* 2002 Nov 14;347(20):1566-75.
- Khan A, Baker SP, Patwardhan NA, Pullman JM. CD57 (Leu-7) expression is helpful in diagnosis of the follicular variant of papillary thyroid carcinoma. *Virchows Arch.* 1998 May; 432(5):427-32.
- Khanafshar E, Lloyd RV. The spectrum of papillary thyroid carcinoma variants. *Adv Anat Pathol.* 2011 Jan;18(1):90-7.
- Khoo ML, Beasley NJ, Ezzat S, Freeman JL, Asa SL. Overexpression of cyclin D1 and underexpression of P27 predict lymph node metastases in papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Apr;87(4):1814-8.
- Kilfoy BA, Zheng T, Holford TR, Han X, Ward MH, Sjoдин A, et al. International patterns and trends in thyroid cancer incidence, 1973-2002. *Cancer Causes Control.* 2009 Jul;20(5):525-31.
- Kim DS, McCabe CJ, Buchanan MA, Watkinson JC. Oncogenes in thyroid cancer. *Clin Otolaryngol.* 2003, 28; 386-395
- Kim HS, Kim GY, Lim SJ, Kim YW. Raf-1 kinase inhibitory protein expression in thyroid carcinomas. *Endocr Pathol.* 2010 Dec;21(4):253-7.
- Kim SJ, Lee KE, Myong JP, Park JH, Jeon YK, Min HS, et al. BRAF V600E mutation is associated with tumor aggressiveness in papillary thyroid cancer. *World J Surg.* 2012 Feb;36(2):310-7.
- Kim SK, Hwang TS, Yoo YB, Han HS, Kim DL, Song KH, et al. Surgical results of thyroid nodules according to a management guideline based on the BRAF (V600E) mutation status. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011 Mar;96(3):658-64.
- Kim TY, Kim WB, Rhee YS, Song JY, Kim JM, Gong G, et al. The BRAF mutation is useful for prediction of clinical recurrence in low-risk patients with conventional

- papillary thyroid carcinoma. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2006 Sep;65(3):364-8.
- Kimura ET, Nikiforova MN, Zhu Z, Knauf JA, Nikiforov YE, Fagin JA. High prevalence of BRAF mutations in thyroid cancer: genetic evidence for constitutive activation of the RET/PTC-RAS-BRAF signaling pathway in papillary thyroid carcinoma. *Cancer Res*. 2003 Apr 1;63(7):1454-7.
- Kioussi C, Briata P, Baek SH, Rose DW, Hamblet NS, Herman T, et al. Identification of a Wnt/Dvl/beta-Catenin --> Pitx2 pathway mediating cell-type-specific proliferation during development. *Cell*. 2002 Nov 27;111(5):673-85.
- Kjellman P, Wallin G, Höög A, Auer G, Larsson C, Zedenius J. MIB-1 index in thyroid tumors: a predictor of the clinical course in papillary thyroid carcinoma. *Thyroid*. 2003 Apr;13(4):371-80.
- Klein M, Picard E, Vignaud JM, Marie B, Bresler L, Toussaint B, et al. Vascular endothelial growth factor gene and protein: strong expression in thyroiditis and thyroid carcinoma. *Journal of Endocrinology*. 1999;161:41-49.
- Klein M, Vignaud JM, Hennequin V, Toussaint B, Bresler L, Pléat F, et al. Increased expression of the vascular endothelial growth factor is a pejorative prognosis marker in papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001 Feb;86(2):656-8.
- Klubo-Gwiedzinska J, Junik R, Kopczynska E, Juraniec O, Kardymowicz H. The comparison of serum vascular endothelial growth factor levels between patients with metastatic and non-metastatic thyroid cancer, and patients with nontoxic multinodular goiter. *Eur J Endocrinol*. 2007 Oct;157(4):521-7.
- Knauf JA, Kuroda H, Basu S, Fagin JA. RET/PTC-induced dedifferentiation of thyroid cells is mediated through Y1062 signaling through SHC-RAS-MAP kinase. *Oncogene*. 2003 Jul 10;22(28):4406-12.
- Kollecker I, von Wasielewski R, Langner C, Müller JA, Spitzweg C, Kreipe H, et al. Subcellular distribution of the sodium iodide symporter in benign and malignant thyroid tissues. *Thyroid*. 2012 May;22(5):529-35.
- Kondi-Pafiti A, Smyrniotis V, Frangou M, Papayanopoulou A, Englezou M, Deligeorgi H. Immunohistochemical study of ceruloplasmin, lactoferrin and secretory component expression in neoplastic and non-neoplastic thyroid gland diseases. *Acta Oncol*. 2000;39(6):753-6.
- Kondo T, Kato K, Nakazawa T, Miyata K, Murata S, Katoh R. Mucinous carcinoma (poorly differentiated carcinoma with extensive extracellular mucin deposition) of the thyroid: a case report with immunohistochemical studies. *Hum Pathol*. 2005 Jun;36(6):698-701.
- Koo JS, Hong S, Park CS. Diffuse sclerosing variant is a major subtype of papillary thyroid carcinoma in the young. *Thyroid*. 2009 Nov;19(11):1225-31.
- Koperek O, Kornauth C, Capper D, Berghoff AS, Asari R, Niederle B, et al. Immunohistochemical Detection of the BRAF V600E-mutated Protein in Papillary Thyroid Carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2012 Jun;36(6):844-50.
- Kouniavsky G, Zeiger MA. Thyroid tumorigenesis and molecular markers in thyroid cancer. *Curr Opin Oncol*. 2010 Jan;22(1):23-9.
- Kraimps JL, Canzian F, Jost C, Menet E, Amati P, Levillain P, et al. Mapping of a gene predisposing to familial thyroid tumors with cell oxyphilia to chromosome 19 and exclusion of JUN B as a candidate gene. *Surgery*. 1999 Dec;126(6):1188-94.
- Kraus WL. Transcriptional control by PARP-1: chromatin modulation, enhancer-binding, coregulation, and insulation. *Curr Opin Cell Biol*. 2008 Jun;20(3):294-302.
- Krawczyk-Rusiecka K, Wojciechowska-Durczyńska K, Cyniak-Magierska A, Adamczewski Z, Gałęcka E, Lewiński A. COX-2 expression in papillary thyroid carcinoma (PTC) in cytological material obtained by fine needle aspiration biopsy (FNAB). *Thyroid Res*. 2011 Jan 10;4(1):3.

## Bibliografía.

- Krishnan A, Nair SA, Pillai MR. Biology of PPAR gamma in cáncer: a critical review on existing lacunae. *Curr Mol Med*. 2007 Sep;7(6):532-40.
- Kroll TG, Sarraf P, Pecciarini L, Chen CJ, Mueller E, Spiegelman BM, et al. PAX8-PPARgamma1 fusion oncogéne in human thyroid carcinoma [corrected]. *Science*. 2000 Aug 25;289(5483):1357-60.
- Kulkarni S, Rader JS, Zhang F, Liapis H, Koki AT, Masferrer JL, et al. Cyclooxygenase-2 is overexpressed in human cervical cáncer. *Clin Cáncer Res*. 2001 Feb;7(2):429-34.
- Kurihara K, Shimizu S, Chong J, Hishima T, Funata N, Kashiwagi H, et al. Nuclear localization of immunoreactive beta-catenin is specific to familial adenomatous polyposis in papillary thyroid carcinoma. *Jpn J Cáncer Res*. 2000 Nov;91(11):1100-2.
- Kurozumi K, Nakao K, Nishida T, Nakahara M, Ogino N, Tsujimoto M. Significance of biologic aggressiveness and proliferating activity in papillary thyroid carcinoma. *World J Surg*. 1998 Dec;22(12):1237-42.
- L
- Lam AK<sup>a</sup>, Montone KT, Nolan KA, Livolsi VA. Ret oncogéne activation in papillary thyroid carcinoma: prevalence and implication on the histological parameters. *Hum Pathol*. 1998 Jun;29(6):565-8.
- Lam AK, Lo CY, Lam KS. Papillary carcinoma of thyroid: A 30-yr clinicopathological review of the histological variants. *Endocr Pathol*. 2005 Winter;16(4):323-30
- Lam AK<sup>b</sup>, Lo CY, Leung P, Lang BH, Chan WF, Luk JM. Clinicopathological roles of alterations of tumor suppressor gene p16 in papillary thyroid carcinoma. *Ann Surg Oncol*. 2007 May;14(5):1772-9.
- Lam KY, Lo CY, Chan KW, Wan KY. Insular and anaplastic carcinoma of the thyroid: a 45-year comparative study at a single institution and a review of the significance of P53 and P21. *Ann Surg*. 2000 Mar;231(3):329-38.
- Lang W, Borrusch H, Bauer L. Occult carcinomas of the thyroid. Evaluation of 1,020 sequential autopsies. *Am J Clin Pathol*. 1988 Jul;90(1):72-6.
- Lau R, Grimson R, Sansome C, Tornos C, Moll UM. Low levels of cell cycle inhibitor P27kip1 combined with high levels of Ki-67 predict shortened disease-free survival in T1 and T2 invasive breast carcinomas. *Int J Oncol*. 2001 Jan;18(1):17-23.
- Lazzereschi D, Sambuco L, Carnovale Scalzo, Ranieri A, Mincione G, Nardo F, Colletta G. Cyclin D1 and Cyclin E expresión in malignant thyroid cells in human thyroid carcinomas. *Int J Cáncer*. 1998; 76:806-11.
- Leboulleux S, Travagli JP, Caillou B, Laplanche A, Bidart JM, Schlumberger M, et al. Medullary thyroid carcinoma as part of a multiple endocrine neoplasia type 2B síndrome: influence of the stage on the clinical course. *Cáncer*. 2002; 94:44-50
- Lee KJ, Jung YS, Kim WH, Yoon TI, Joo HJ, Soh EY. Cyclooxygenase-2 expression in human thyroid disease. *J Endocrinol Invest*. 2008 Feb;31(2):111-8.
- Lee SH, Lee JK, Jin SM, Lee KC, Sohn JH, Chae SW, et al. Expression of cell-cycle regulators (cyclin D1, cyclin E, P27kip1, p57kip2) in papillary thyroid carcinoma. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2010 Mar;142(3):332-7.
- Lee ST, Kim SW, Ki CS, Jang JH, Shin JH, Oh YL, et al. Clinical Implication of Highly Sensitive Detection of the BRAF V600E Mutation in Fine-Needle Aspirations of Thyroid Nodules: A Comparative Analysis of Three Molecular Assays in 4585 Consecutive Cases in a BRAF V600E Mutation-Prevalent Area. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012 Apr 12. [Epub ahead of print]
- Leenhardt L, Aurengo A. Post-Chernobyl thyroid carcinoma in children. *Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2000 Dec;14(4):667-77.

- Lemoine NR, Mayall ES, Wyllie FS, Farr CJ, Hughes D, Padua RA, et al. Activated ras oncogénes in human thyroid cáncers. *Cáncer Res.* 1988; 48:4459-4463
- Lemoine NR, Staddon S, Bond J, Wyllie FS, Shaw JJ, Wynford-Thomas D. Partial transformation of human thyroid epithelial cells by mutant Ha-ras oncogéne. *Oncogéne.* 1990 Dec;5(12):1833-7.
- Lerma E, Mora J. Telomerase activity in "suspicious" thyroid cytology. *Cáncer.* 2005 Dec 25;105(6):492-7.
- Leung M, Rosen D, Fields S, Cesano A, Budman DR. Poly(ADP-Ribose) Polymerase-1 Inhibition: Preclinical and Clinical Development of Synthetic Lethality. *Mol Med.* 2011;17(7-8):854-62.
- Lewy-Trenda I, Wierchniewska-Ławska A. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in human thyroid tumors. *Pol J Pathol.* 2002;53(3):129-32.
- Li L, Xu H, Spaulding BO, Cheng L, Simon R, Yao JL, et al. Expression of RNA-binding protein IMP3 (KOC) in benign urothelium and urothelial tumors. *Hum Pathol.* 2008 Aug;39(8):1205-11.
- Liang HS, Zhong YH, Luo ZJ, Huang Y, Lin HD, Luo M, et al. Comparative analysis of protein expression in differentiated thyroid tumours: a multicentre study. *J Int Med Res.* 2009 May-Jun;37(3):927-38
- Lin CI, Whang EE, Donner DB, Jiang X, Price BD, Carothers AM, et al. Galectin-3 targeted therapy with a small molecule inhibitor activates apoptosis and enhances both chemosensitivity and radiosensitivity in papillary thyroid cáncer. *Mol Cáncer Res.* 2009 Oct;7(10):1655-62.
- Lindsay S. Natural history of thyroid carcinoma. *Ariz Med.* 1960 Nov;17:623-7.
- Lines MA, Kozlowski K, Walter MA. Molecular genetics of Axenfeld-Rieger malformations. *Hum Mol Genet.* 2002 May 15;11(10):1177-84.
- Liu FT, Hsu DK, Zuberi RI, Hill PN, Shenhav A, Kuwabara I, et al. Modulation of functional properties of galectin-3 by monoclonal antibodies binding to the non-lectin domains. *Biochemistry.* 1996 May 14;35(19):6073-9.
- LiVolsi VA, Baloch ZW. Follicular neoplasms of the thyroid: view, biases, and experiences. *Adv Anat Pathol.* 2004 Nov;11(6):279-87.
- LiVolsi VA. Papillary carcinoma tall cell variant (TCV): a review. *Endocr Pathol.* 2010 Mar;21(1):12-5.
- LiVolsi VA. Papillary thyroid carcinoma: an update. *Mod Pathol.* 2011 Apr;24 Suppl 2:S1-9.
- Lloyd RV, Buehler D, Khanafshar E. Papillary thyroid carcinoma variants. *Head Neck Pathol.* 2011; 5(1):51-6.
- Loy TS, Darkow GV, Quesenberry JT. Immunostaining in the diagnosis of pulmonary neuroendocrine carcinomas. An immunohistochemical study with ultrastructural correlations. *Am J Surg Pathol.* 1995 Feb;19(2):173-82.
- Lui WO, Zeng L, Rehrmann V, Deshpande S, Tretiakova M, Kaplan EL, et al. CREB3L2-PPARGgamma fusion mutation identifies a thyroid signaling pathway regulated by intramembrane proteolysis. *Cáncer Res.* 2008 Sep 1;68(17):7156-64.
- Lo CY, Lam KY, Leung PP, Luk JM. High prevalence of cyclooxygenase 2 expression in papillary thyroid carcinoma. *Eur J Endocrinol.* 2005 Apr;152(4):545-50.
- Lodish H, Berk A, Zipursky SL, et al. *Biología celular y molecular* 4ªEd. Madrid, España: Médica Panamericana; 2002.
- López Mondéjar P, Picó A, Seguí J, López Maciá A. Utilidad de la expresión de galectina-3 en el comportamiento clínico del cáncer diferenciado de tiroides. *Med Clin (Barc).* 2008 Feb 16;130(5):161-4
- Lu C, Shen Q, DuPré E, Kim H, Hilsenbeck S, Brown PH. cFos is critical for MCF-7 breast cáncer cell growth. *Oncogéne.* 2005 Sep 29;24(43):6516-24.

## Bibliografía.

Lundberg AS, Weinberg RA. Control of the cell cycle and apoptosis. *Eur J Cáncer*. 1999 Apr;35(4):531-9.

### M

Maenhaut C, Detours V, Dom G, Handkiewicz-Junak D, Oczko-Wojciechowska M, Jarzab B. Gene Expression Profiles for Radiation-induced Thyroid Cáncer. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 2011 May; 23(4):282-8.

Magro G, Perissinotto D, Schiappacassi M, Goletz S, Otto A, Müller EC, et al. Proteomic and postproteomic characterization of keratan sulfate-glycanated isoforms of thyroglobulin and transferrin uniquely elaborated by papillary thyroid carcinomas. *Am J Pathol*. 2003 Jul;163(1):183-96.

Mai KT, Landry DC, Thomas J, Burns BF, Commons AS, Yazdi HM, et al. Follicular adenoma with papillary architecture: a lesion mimicking papillary thyroid carcinoma. *Histopathology*. 2001 Jul;39(1):25-32.

Martin-Oliva D, O´Valle F, Muñoz-Gámez JA, Valenzuela T, Nuñez MI, Aguilar M, et al. Crosstalk between PARP-1 and NF-κB modulates the promotion of skin neoplasia. *Oncogéne* 2004; 23: 5275-5283.

Martin-Oliva D, Aguilar-Quesada R, O'valle F, Muñoz-Gámez JA, Martínez-Romero R, et al. Inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase modulates tumor-related gene expression, including hypoxia-inducible factor-1 activation, during skin carcinogenesis. *Cáncer Res*. 2006 Jun 1;66(11):5744-56

Martins L, Matsuo SE, Ebina KN et al. Galectin-3 messenger ribonucleic acid and protein are expressed in benign thyroid tumours. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2002; 87; 4806–4810

Mase T, Funahashi H, Koshikawa T, Imai T, Nara Y, Tanaka Y, et al. HBME-1 immunostaining in thyroid tumors especially in follicular neoplasm. *Endocr J*. 2003 Apr;50(2):173-7.

Matesa N, Samija I, Kusić Z. Galectin-3 and CD44v6 positivity by RT-PCR method in fine needle aspirates of

benign thyroid lesions. *Cytopathology*. 2007 Apr;18(2):112-6.

Matsuo K, Tang SH, Zeki K, Gutman RA, Fagin JA. Aberrant deoxyribonucleic acid methylation in human thyroid tumors. *J Clin Endocrinol Metab*. 1993 Oct;77(4):991-5.

Matsuura H, Hakomori S. The oncofetal domain of fibronectin defined by monoclonal antibody FDC-6: its presence in fibronectins from fetal and tumor tissues and its absence in those from normal adult tissues and plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1985 Oct;82(19):6517-21.

Mazzaferri EL. Management of a solitary thyroid nodule. *N Engl J Med*. 1993 Feb 25;328(8):553-9.

Mazzaferri EL, Doherty GM, Steward DL. The pros and cons of prophylactic central compartment lymph node dissection for papillary thyroid carcinoma. *Thyroid*. 2009 Jul;19(7):683-9.

McGarry RC, Helfand SL, Quarles RH, Roder JC. Recognition of myelin-associated glycoprotein by the monoclonal antibody HNK-1. *Nature*. 1983 Nov 24-30;306(5941):376-8

McLaren KM, Cossar DW. The immunohistochemical localization of S100 in the diagnosis of papillary carcinoma of the thyroid. *Hum Pathol*. 1996 Jul;27(7):633-6.

Mehrotra P, Okpokam A, Bouhaidar R, Johnson SJ, Wilson JA, Davies BR, et al. Galectin-3 does not reliably distinguish benign from malignant thyroid neoplasms *Histopathology* 2004, 45, 493–500

Mekel M, Nucera C, Hodin RA, Parangi S. Surgical implications of B RafV600E mutation in fine-needle aspiration of thyroid nodules. *Am J Surg*. 2010 Jul;200(1):136-43.

Melck A, Masoudi H, Griffith OL, Rajput A, Wilkins G, Bugis S, et al. Cell cycle regulators show diagnostic and

- prognostic utility for differentiated thyroid cancer. *Ann Surg Oncol*. 2007 Dec;14(12):3403-11.
- Melillo RM, Castellone MD, Guarino V, De Falco V, Cirafici AM, Salvatore G, et al. The RET/PTC-RAS-BRAF linear signaling cascade mediates the motile and mitogenic phenotype of thyroid cancer cells. *J Clin Invest*. 2005 Apr;115(4):1068-81.
- Mercer KE, Pritchard CA. Raf proteins and cancer: B-Raf is identified as a mutational target. *Biochim Biophys Acta*. 2003 Jun 5;1653(1):25-40.
- Mesa C Jr, Mirza M, Mitsutake N, Sartor M, Medvedovic M, Tomlinson C, et al. Conditional activation of RET/PTC3 and BRAFV600E in thyroid cells is associated with gene expression profiles that predict a preferential role of BRAF in extracellular matrix remodeling. *Cancer Res*. 2006 Jul 1;66(13):6521-9.
- Mete O, Rotstein L, Asa SL. Controversies in thyroid pathology: thyroid capsule invasion and extrathyroidal extension. *Ann Surg Oncol*. 2010 Feb;17(2):386-91.
- Mete O<sup>A</sup>, Rotstein L, Asa SL. Controversies in thyroid pathology: thyroid capsule invasion and extrathyroidal extension. *Ann Surg Oncol*. 2010 Feb;17(2):386-91
- Mete O<sup>B</sup>, Asa SL. Oncocytes, oxyphils, Hürthle, and Askanazy cells: morphological and molecular features of oncocytic thyroid nodules. *Endocr Pathol*. 2010 Mar;21(1):16-24.
- Miettinen M, Kärkkäinen P. Differential reactivity of HBME-1 and CD15 antibodies in benign and malignant thyroid tumours. Preferential reactivity with malignant tumours. *Virchows Arch*. 1996 Nov;429(4-5):213-9.
- Mishunina TM, Kalinichenko OV, Tronko MD, Statsenko OA. Caspase-3 activity in papillary thyroid carcinomas. *Exp Oncol*. 2010 Dec;32(4):269-72.
- Mitsiades CS, Poulaki V, Mitsiades N. The role of apoptosis-inducing receptors of the tumor necrosis factor family in thyroid cancer. *J Endocrinol*. 2003 Aug;178(2):205-16.
- Mitsiades CS, Poulaki V, Fanourakis G, Sozopoulos E, McMillin D, Wen Z, et al. Fas signaling in thyroid carcinomas is diverted from apoptosis to proliferation. *Clin Cancer Res*. 2006 Jun 15;12(12):3705-12.
- Mizukami Y, Nonomura A, Hashimoto T, Michigishi T, Noguchi M, Matsubara F, et al. Immunohistochemical demonstration of epidermal growth factor and c-myc oncogene product in normal, benign and malignant thyroid tissues. *Histopathology*. 1991 Jan;18(1):11-8.
- Mizukami Y, Kurumaya H, Nonomura A, Michigishi T, Terahata S, Noguchi M, et al. Sporadic medullary microcarcinoma of the thyroid. *Histopathology*. 1992 Oct;21(4):375-7.
- Mizukami Y, Nonomura A, Michigishi T, Noguchi M, Nakamura S, Hashimoto T. Differential (Ha-, K- and N-) ras P21 expression in benign and malignant human thyroid tumors: and immunohistochemical study. *Anticancer Res* 1995; 15: 755-9
- Moretti F, Nanni S, Pontecorvi A. Molecular pathogenesis of thyroid nodules and cancer. *Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2000 Dec;14(4):517-39.
- Morita N, Ikeda Y, Takami H. Clinical significance of P53 protein expression in papillary thyroid carcinoma. *World J Surg*. 2008 Dec;32(12):2617-22.
- Motti ML, De Marco C, Califano D, De Gisi S, Malanga D, Troncone G, et al. Loss of P27 expression through RAS-->BRAF-->MAP kinase-dependent pathway in human thyroid carcinomas. *Cell Cycle*. 2007 Nov 15;6(22):2817-25.
- Moyano L, Franco C, Carreño L, Robinson P, Sánchez G. HBME-1 and cyclin D1 as diagnostic markers for follicular thyroid carcinoma. *Rev Med Chil*. 2004 Mar;132(3):279-84.
- Murphy KM, Chen F, Clark DP. Identification of immunohistochemical biomarkers for papillary thyroid

## Bibliografía.

carcinoma using gene expression profiling. *Hum Pathol*. 2008 Mar;39(3):420-6.

Murray-Zmijewski F, Lane DP, Bourdon JC. P53/p63/p73 isoforms: an orchestra of isoforms to harmonise cell differentiation and response to stress. *Cell Death Differ*. 2006 Jun;13(6):962-72.

Musholt TJ, Musholt PB, Khaladj N, Schulz D, Scheumann GF, Klemptner J. Prognostic significance of RET and NTRK1 rearrangements in sporadic papillary thyroid carcinoma. *Surgery*. 2000 Dec; 128(6):984-93

### N

Naito A, Iwase H, Kuzushima T, Nakamura T, Kobayashi S. Clinical significance of E-cadherin expression in thyroid neoplasms. *J Surg Oncol*. 2001 Mar;76(3):176-80.

Nakamura N, Erickson LA, Jin L, Kajita S, Zhang H, Qian X, et al. Immunohistochemical separation of follicular variant of papillary thyroid carcinoma from follicular adenoma. *Endocr Pathol*. 2006 Fall;17(3):213-23.

Naor D, Sionov RV, Ish-Shalom D. CD44: structure, function, and association with the malignant process. *Adv Cáncer Res*. 1997;71:241-319.

Nasir A, Catalano E, Calafati S, Cantor A, Kaiser HE, Coppola D. Role of P53, CD44V6 and CD57 in differentiating between benign and malignant follicular neoplasms of the thyroid. *In vivo*. 2004; 18:189-95

Nasr MR, Mukhopadhyay S, Zhang S, Katzenstein AL. Immunohistochemical markers in diagnosis of papillary thyroid carcinoma: Utility of HBME1 combined with CK19 immunostaining. *Mod Pathol*. 2006 Dec;19(12):1631-7.

Nasser SM, Pitman M, Pilch BZ, Faquin WC. Fine-needle aspiration biopsy of papillary thyroid carcinoma. Diagnostic utility of cytokeratin 19 immunostaining. *Cáncer*. 2000; 90:307-11.

Nga ME, Lim GS, Soh CH, Kumarasinghe MP. HBME-1 and CK19 are highly discriminatory in the cytological

diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *Diagn Cytopathol*. 2008 Aug;36(8):550-6.

Nikiforov YE, Gnepp DR. Pediatric thyroid cancer after the Chernobyl disaster. Pathomorphologic study of 84 cases (1991-1992) from the Republic of Belarus. *Cáncer*. 1994 Jul 15;74(2):748-66.

Nikiforov YE, Erickson LA, Nikiforova MN, Caudill CM, Lloyd RV. Solid variant of papillary thyroid carcinoma: incidence, clinical-pathologic characteristics, molecular analysis, and biologic behavior. *Am J Surg Pathol*. 2001 Dec;25(12):1478-84.

Nikiforov YE. RET/PTC rearrangement in thyroid tumors. *Endocr Pathol*. 2002 Spring;13 (1):3-16.

Nikiforov YE, Steward DL, Robinson-Smith TM, Haugen BR, Klopper JP, Zhu Z, et al. Molecular testing for mutations in improving the fine-needle aspiration diagnosis of thyroid nodules. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009 Jun;94 (6):2092-8.

Nikiforova MN, Stringer JR, Blough R, Medvedovic M, Fagin JA, Nikiforov YE. Proximity of chromosomal loci that participate in radiation-induced rearrangements in human cells. *Science*. 2000 Oct 6;290(5489):138-41.

Nikiforova MN, Biddinger PW, Caudill CM, Kroll TG, Nikiforov YE. PAX8-PPAR $\gamma$  rearrangement in thyroid tumors: RT-PCR and immunohistochemical analyses. *Am J Surg Pathol*. 2002 Aug;26(8):1016-23.

Nikiforova MN, Lynch RA, Biddinger PW, Alexander EK, Dorn GW, Tallini G, et al. RAS Point Mutations and PAX8-PPAR $\gamma$  Rearrangement in Thyroid Tumors: Evidence for Distinct Molecular Pathways in Thyroid Follicular Carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003 May; 88(5):2318-2326.

Nikiforova MN, Kimura ET, Gandhi M, Biddinger PW, Knauf JA, Basolo F, et al. BRAF mutations in thyroid tumors are restricted to papillary carcinomas and anaplastic or poorly differentiated carcinomas arising



from papillary carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003 Nov;88(11):5399-404.

Nikiforova MN, Ciampi R, Salvatore G, Santoro M, Gandhi M, Knauf JA, Thomas GA, et al. Low prevalence of BRAF mutations in radiation-induced thyroid tumors in contrast to sporadic papillary carcinomas. *Cáncer Lett.* 2004 Jun 8;209(1):1-6.

Nikiforova MN, Nikiforov YE. Molecular diagnostics and predictors in thyroid cáncer. *Thyroid.* 2009 Dec;19(12):1351-61.

Nose F, Ichikawa T, Fujiwara M, Okayasu I. Up-regulation of cyclooxygenase-2 expression in lymphocytic thyroiditis and thyroid tumors: significant correlation with inducible nitric oxide synthase. *Am J Clin Pathol* 2002; 117: 546-51

Nosho K, Yamamoto H, Mikami M, Taniguchi H, Takahashi T, Adachi Y, Imamura A, Imai K, Shinomura Y. Overexpression of poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) in the early stage of colorectal carcinogenesis. *Eur J Cáncer.* 2006 Sep;42(14):2374-81.

## O

Oates J, Edwards C. HBME-1, MOC-31, WT1 and calretinin: an assessment of recently described markers for mesothelioma and adenocarcinoma. *Histopathology.* 2000 Apr;36(4):341-7.

Ogawara Y, Kishishita S, Obata T, Isazawa Y, Suzuki T, Tanaka K, et al. Akt enhances Mdm2-mediated ubiquitination and degradation of P53. *Biol Chem.* 2002 Jun 14;277(24):21843-50.

Omar E, Madhavan M, Othman NH. Immunohistochemical localization of RET and P53 mutant protein of thyroid lesions in a North-Eastern Malaysian population and its prognostic implications. *Pathology.* 2004; 36:152-9.

Ordóñez NG. Immunohistochemical diagnosis of epithelioid mesotheliomas: a critical review of old

markers, new markers. *Hum Pathol.* 2002 Oct;33(10):953-67.

Orian-Rousseau V, Morrison H, Matzke A, Kastilan T, Pace G, Herrlich P, et al. Hepatocyte growth factor-induced Ras activation requires ERM proteins linked to both CD44v6 and F-actin. *Mol Biol Cell.* 2007 Jan;18(1):76-83.

Ossovskaya V, Koo IC, Kaldjian EP, Alvares C, Sherman BM. Upregulation of Poly (ADP-Ribose) Polymerase-1 (PARP1) in Triple-Negative Breast Cáncer and Other Primary Human Tumor Types. *Genes Cáncer.* 2010 Aug;1(8):812-21

Ostrowski ML, Brown RW, Wheeler TM, Green LK, Schaffner DL. Leu-7 immunoreactivity in cytologic specimens of thyroid lesions, with emphasis on follicular neoplasms. *Diagn Cytopathol.* 1995 Jun;12(4):297-302.

Ostrowski ML, Merino MJ. Tall cell variant of papillary thyroid carcinoma: a reassessment and immunohistochemical study with comparison to the usual type of papillary carcinoma of the thyroid. *Am J Surg Pathol.* 1996 Aug;20(8):964-74.

## P

Pacini F, Schlumberger M, Dralle H, Elisei R, Smit JW, Wiersinga W; European Thyroid Cáncer Taskforce. European consensus for the management of patients with differentiated thyroid carcinoma of the follicular epithelium. *Eur J Endocrinol.* 2006 Jun;154(6):787-803.

Papotti M, Rodriguez J, De Pompa R, Bartolazzi A, Rosai J. Galectin-3 and HBME-1 expression in well-differentiated thyroid tumors with follicular architecture of uncertain malignant potential. *Mod Pathol.* 2005 Apr;18(4):541-6.

Park KY, Koh JM, Kim YI, Park HJ, Gong G, Hong SJ, et al. Prevalences of Gs alpha, ras, P53 mutations and ret/PTC rearrangement in differentiated thyroid tumours in a Korean population. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1998 Sep;49(3):317-23

## Bibliografía.

- Park YJ, Kwak SH, Kim DC, Kim H, Choe G, Park do J, et al. Diagnostic value of galectin-3, HBME-1, cytokeratin 19, high molecular weight cytokeratin, cyclin D1 and P27(kip1) in the differential diagnosis of thyroid nodules. *J Korean Med Sci.* 2007 Aug;22(4):621-8.
- Parker LN, Belsky JL, Yamamoto T, Kawamoto S, Keehn RJ. Thyroid carcinoma after exposure to atomic radiation. A continuing survey of a fixed population, Hiroshima and Nagasaki, 1958-1971. *Ann Intern Med.* 1974 May;80(5):600-4
- Parma J, Duprez L, Van Sande J, Cochaux P, Gervy C, Mockel J, et al. Somatic mutations in the thyrotropin receptor gene cause hyperfunctioning thyroid adenomas. *Nature.* 1993 Oct 14;365(6447):649-51.
- Passler C, Prager G, Scheuba C, Niederle BE, Kaserer K, Zettinig G, et al. Follicular variant of papillary thyroid carcinoma: a long-term follow-up. *Arch Surg.* 2003 Dec;138(12):1362-6.
- Pei L, Melmed S. Isolation and characterization of a pituitary tumor-transforming gene (PTTG). *Mol Endocrinol.* 1997 Apr;11(4):433-41.
- Pennelli G, Vianello F, Barollo S, Pezzani R, Merante Boschin I, Pelizzo MR, Mantero F, Rugge M, Mian C. BRAF(K601E) mutation in a patient with a follicular thyroid carcinoma. *Thyroid.* 2011 Dec;21(12):1393-6.
- Perry A, Molberg K, Albores-Saavedra J. Physiologic versus neoplastic C-cell hyperplasia of the thyroid: separation of distinct histologic and biologic entities. *Cáncer.* 1996 Feb 15;77(4):750-6.
- Piana S, Frasoldati A, Di Felice E, Gardini G, Tallini G, Rosai J. Encapsulated well-differentiated follicular-patterned thyroid carcinomas do not play a significant role in the fatality rates from thyroid carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2010; 34: 868-872.
- Pickett CA, Agoff SN, Widman TJ, Bronner MP. Altered expression of cyclins and cell cycle inhibitors in papillary thyroid cáncer: prognostic implications. *Thyroid.* 2005 May;15(5):461-73.
- Pierotti MA, Greco A. Oncogénic rearrangements of the NTRK1/NGF receptor. *Cáncer Lett.* 2006 Jan 28;232(1):90-8
- Prasad ML, Huang Y, Pellegata NS, de la Chapelle A, Kloos RT. Hashimoto's thyroiditis with papillary thyroid carcinoma (PTC)-like nuclear alterations express molecular markers of PTC. *Histopathology.* 2004; 45, 39-46.
- Prasad ML, Pellegata NS, Kloos RT, Barbacioru C, Huang Y, de la Chapelle A. CITED1 protein expression suggests Papillary Thyroid Carcinoma in high throughput tissue microarray-based study. *Thyroid.* 2004 Mar;14(3):169-75.
- Prasad ML, Pellegata NS, Huang Y, Nagaraja HN, de la Chapelle A, Kloos RT. Galectin-3, fibronectin-1, CITED-1, HBME1 and cytokeratin-19 immunohistochemistry is useful for the differential diagnosis of thyroid tumors. *Mod Pathol.* 2005; 18:48-57
- Preto A, Cameselle-Teijeiro J, Moldes-Boullosa J, Soares P, Cameselle-Teijeiro JF, Silva P, et al. Telomerase expression and proliferative activity suggest a stem cell role for thyroid solid cell nests. *Mod Pathol.* 2004 Jul;17(7):819-26.
- Prezant TR, Kadioglu P, Melmed S. An intronless homolog of human proto-oncogéne hPTTG is expressed in pituitary tumors: evidence for hPTTG family. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999 Mar;84(3):1149-52.
- R
- Rabaglia JL, Kabbani W, Wallace L, Holt S, Watumull L, Pruitt J, et al. Effect of the Bethesda system for reporting thyroid cytopathology on thyroidectomy rates and malignancy risk in cytologically indeterminate lesions. *Surgery.* 2010 Dec;148(6):1267-72.
- Rahbari R, Zhang L, Kebebew E. Thyroid cáncer gender disparity. *Future Oncol.* 2010 Nov;6(11):1771-9.

- Ramsden JD. Angiogenesis in the thyroid gland. *Journal of Endocrinology* 2000; 166: 475-480.
- Ramakrishnan S, Sharma HW, Farris AD, Kaufman KM, Harley JB, Collins K, et al. Characterization of human telomerase complex. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997 Sep 16;94(19):10075-9.
- Raphael SJ, McKeown-Eyssen G, Asa SL. High-molecular-weight cytokeratin and cytokeratin-19 in the diagnosis of thyroid tumors. *Mod Pathol*. 1994 Apr;7(3):295-300.
- Rebelo S, Domingues R, Catarino AL, Mendonça E, Santos JR, Sobrinho L, et al. Immunostaining and RT-PCR: different approaches to search for RET rearrangements in patients with papillary thyroid carcinoma. *Int J Oncol*. 2003 Oct;23(4):1025-32.
- Reeves WA, DeMay RM. Frozen section of thyroid? Just say not, again. *Pathology Case Reviews*. 2010; 15(5):171-173.
- Resnick MB, Schacter P, Finkelstein Y, Kellner Y, Cohen O. Immunohistochemical analysis of P27/kip1 expression in thyroid carcinoma. *Mod Pathol*. 1998 Aug;11(8):735-9.
- Rezk S, Brynes RK, Nelson V, Thein M, Patwardhan N, Fischer A, et al. beta-Catenin expression in thyroid follicular lesions: potential role in nuclear envelope changes in papillary carcinomas. *Endocr Pathol*. 2004 Winter;15(4):329-37.
- Rezk S, Khan A. Role of immunohistochemistry in the diagnosis and progression of follicular epithelium-derived thyroid carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2005 Sep;13(3):256-64.
- Rhoden KJ, Unger K, Salvatore G, Yilmaz Y, Vovk V, Chiappetta G, et al. RET/papillary thyroid cancer rearrangement in nonneoplastic thyrocytes: follicular cells of Hashimoto's thyroiditis share low-level recombination events with a subset of papillary carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Jun;91(6):2414-23.
- Riesco-Eizaguirre G, Santisteban P. A perspective view of sodium iodide symporter research and its clinical implications. *Eur J Endocrinol*. 2006 Oct;155(4):495-512.
- Riesco-Eizaguirre G, Santisteban P. New insights in thyroid follicular cell biology and its impact in thyroid cancer therapy. *Endocr Relat Cáncer*. 2007 Dec;14(4):957-77. Review
- Ringel MD, Hayre N, Saito J, Saunier B, Schuppert F, Burch H, et al. Overexpression and overactivation of Akt in thyroid carcinoma. *Cáncer Res*. 2001 Aug 15;61(16):6105-11.
- Ríos Moreno MJ, Galera-Ruiz H, De Miguel M, López MI, Illanes M, Galera-Davidson H. Immunohistochemical profile of solid cell nest of thyroid gland. *Endocr Pathol*. 2011 Mar;22(1):35-9.
- Rivera M, Ricarte-Filho J, Knauf J, Shaha A, Tuttle M, et al. Molecular genotyping of papillary thyroid carcinoma follicular variant according to its histological subtypes (encapsulated vs infiltrative) reveals distinct BRAF and RAS mutation patterns. *Mod Pathol*. 2010 Sep;23(9):1191-200.
- Robin X, Turck N, Hainard A, Tiberti N, Lisacek F, Sanchez JC, et al. pROC: an open-source package for R and S+ to analyze and compare ROC curves. *BMC Bioinformatics*. 2011 Mar 17;12:77.
- Rocha AS, Soares P, Fonseca E, Cameselle-Teijeiro J, Oliveira MC, Sobrinho-Simões M. E-cadherin loss rather than beta-catenin alterations is a common feature of poorly differentiated thyroid carcinomas. *Histopathology*. 2003 Jun;42(6):580-7.
- Rodríguez A, Jiménez T, Vidal-Ríos P. Marcadores moleculares para la valoración clínica del nódulo tiroideo. *Endocrinal Nutric* 2003; 50: 66-75.
- Rosai J, Carcangiu ML, DeLellis R. Tumors of the thyroid gland. *Atlas of tumor pathology*. 3<sup>rd</sup> Series. Fascicle 5, Armed Forces Institute of Pathology. Washington, DC., pp 105-109,1990

## Bibliografía.

Rosai J. Immunohistochemical markers of thyroid tumors: significance and diagnostic applications. *Tumori*. 2003 Sep-Oct;89(5):517-9.

Rosai J, LiVolsi VA, Sobrinho-Simoes M, Williams ED. Renaming papillary microcarcinoma of the thyroid gland: the Porto proposal. *Int J Surg Pathol*. 2003 Oct;11(4):249-51.

Rosai J. *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology*. 10<sup>th</sup> ed. St Louis, MO: C V Mosby;2011.

Rossi ED, Raffaelli M, Mule' A, Miraglia A, Lombardi CP, Vecchio FM, et al. Simultaneous immunohistochemical expression of HBME-1 and galectin-3 differentiates papillary carcinomas from hyperfunctioning lesions of the thyroid. *Histopathology*. 2006 Jun;48(7):795-800.

Rouleau M, Patel A, Hendzel MJ, Kaufmann SH, Poirier GG. PARP inhibition: PARP1 and beyond. *Nat Rev Cáncer*. 2010 Apr;10(4):293-301.

Ruiz-Ramos M, Expósito J Tendencia de la mortalidad por cáncer en Andalucía entre 1975 y 2003. *Med Clin (Barc)*. 2007 Mar 31;128(12):448-52

## S

Saad AG, Kumar S, Ron E, Lubin JH, Stanek J, Bove KE, et al. Proliferative activity of human thyroid cells in various age groups and its correlation with the risk of thyroid cancer after radiation exposure. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Jul;91(7):2672-7.

Sakamoto A. Definition of poorly differentiated carcinoma of the thyroid: the Japanese experience. *Endocr Pathol*. 2004 Winter;15(4):307-11.

Sadow PM, Hunt JL. Update on clinically important variants of papillary thyroid carcinoma. *Diagnostic Histopathology*. 2011; 17 (3): 106-152.

Sáez C, Martínez-Brocca MA, Castilla C, Soto A, Navarro E, Tortolero M, et al. Prognostic significance of human pituitary tumor-transforming gene immunohistochemical

expression in differentiated thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Apr;91(4):1404-9.

Saggiorato E, De Pompa R, Volante M, Cappia S, Arecco F, Dei Tos AP, Orlandi F, et al. Characterization of thyroid 'follicular neoplasms' in fine-needle aspiration cytological specimens using a panel of immunohistochemical markers: a proposal for clinical application. *Endocr Relat Cáncer*. 2005 Jun;12(2):305-17

Saiz AD, Olvera M, Rezk S, Florentine BA, McCourty A, Brynes RK. Immunohistochemical expression of cyclin D1, E2F-1, and Ki-67 in benign and malignant thyroid lesions. *J Pathol* 2002; 198: 157–162.

Saji M, Westra WH, Chen H, Umbricht CB, Tuttle RM, Box MF, et al. Telomerase activity in the differential diagnosis of papillary carcinoma of the thyroid. *Surgery*. 1997 Dec;122(6):1137-40.

Saji M, Xydas S, Westra WH, Liang CK, Clark DP, Udelsman R, et al. Human telomerase reverse transcriptase (hTERT) gene expression in thyroid neoplasms. *Clin Cáncer Res*. 1999 Jun;5(6):1483-9.

Saleh HA, Jin B, Barnwell J, Alzohaili O. Utility of immunohistochemical markers in differentiating benign from malignant follicular-derived thyroid nodules. *Diagn Pathol*. 2010 Jan 26;5:9.

Salehi F, Kovacs K, Scheithauer BW, Lloyd RV, Cusimano M. Pituitary tumor-transforming gene in endocrine and other neoplasms: a review and update. *Endocr Relat Cáncer*. 2008 Sep;15(3):721-43.

Saltman B, Singh B, Hedvat CV, Wreesmann VB, Ghossein R. Patterns of expression of cell cycle/apoptosis genes along the spectrum of thyroid carcinoma progression. *Surgery*. 2006 Dec; 140(6):899-905; discussion 905-6.

Sammoud S, Khiari M, Semeh A, Amine L, Ines C, Amira A, et al. Relationship between expression of ras P21 oncoprotein and mutation status of the K-ras gene in

- sporadic colorectal cancer patients in Tunisia. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2012 Mar;20(2):146-52.
- Sánchez-Beato M, Camacho FI, Martínez-Montero JC, Sáez AI, Villuendas R, Sánchez-Verde L, et al. Anomalous high P27/KIP1 expression in a subset of aggressive B-cell lymphomas is associated with cyclin D3 overexpression. P27/KIP1-cyclin D3 colocalization in tumor cells. *Blood*. 1999 Jul 15;94(2):765-72.
- Santarpia L, Myers JN, Sherman SI, Trimarchi F, Clayman GL, El-Naggar AK. Genetic alterations in the RAS/RAF/mitogen-activated protein kinase and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathways in the follicular variant of papillary thyroid carcinoma. *Cancer*. 2010 Jun 15;116(12):2974-83.
- Savin S, Cvejic D, Isic T, Paunovic I, Tatic S, Havelka M. Thyroid peroxidase and galectin-3 immunostaining in differentiated thyroid carcinoma with clinicopathologic correlation. *Hum Pathol*. 2008 Nov;39(11):1656-63.
- Scarpino S, D'Alena FC, Di Napoli A, Ballarini F, Prat M, Ruco LP. Papillary carcinoma of the thyroid: evidence for a role for hepatocyte growth factor (HGF) in promoting tumour angiogenesis. *J Pathol*. 2003 Feb;199(2):243-50.
- Schelfhout LJ, Van Muijen GN, Fleuren GJ. Expression of keratin 19 distinguishes papillary thyroid carcinoma from follicular carcinomas and follicular thyroid adenoma. *Am J Clin Pathol*. 1989 Nov;92(5):654-8.
- Scheumman GF, Hoang-Vu C, Cetin Y, Gimm O, Behrends J, von Wasielewski R, Georgii A, Birchmeier W, von Zur Mühlen A, Dralle H. Clinical significance of E-cadherin as a prognostic marker in thyroid carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995 Jul;80(7):2168-72.
- Schlumberger MJ. Papillary and follicular thyroid carcinoma. *N Engl J Med*. 1998 Jan 29;338(5):297-306.
- Schmitt AC, Cohen C, Siddiqui MT. Paired box gene 8, HBME-1, and cytokeratin 19 expression in preoperative fine-needle aspiration of papillary thyroid carcinoma: diagnostic utility. *Cancer Cytopathol*. 2010 Aug 25;118(4):196-202.
- Schraml P, Bucher C, Bissig H, Nocito A, Haas P, Wilber K, et al. Cyclin E overexpression and amplification in human tumours. *J Pathol*. 2003 Jul;200(3):375-82.
- Schreiber V, Dantzer F, Ame JC, de Murcia G. Poly(ADP-ribose): novel functions for an old molecule. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2006 Jul;7(7):517-28.
- Schröder S, Böcker W. Signet-ring-cell thyroid tumors. Follicle cell tumors with arrest of folliculogenesis. *Am J Surg Pathol*. 1985 Sep;9(9):619-29.
- Scognamiglio T, Hyjek E, Kao J, Chen YT, Scognamiglio T. Diagnostic usefulness of HBME1, galectin-3, CK19, and CITED1 and evaluation of their expression in encapsulated lesions with questionable features of papillary thyroid carcinoma. *Am J Clin Pathol*. 2006;126(5): 700-8.
- Segev DL, Umbricht C, Zeiger MA. Molecular pathogenesis of thyroid cancer. *Surg Oncol*. 2003 Aug;12(2):69-90.
- Sgambato A, Zhang YJ, Ciaparrone M, Soh JW, Cittadini A, Santella RM, et al. Overexpression of P27Kip1 inhibits the growth of both normal and transformed human mammary epithelial cells. *Cancer Res*. 1998 Aug 1;58(15):3448-54.
- Shahedian B, Shi Y, Zou M, Farid NR. Thyroid carcinoma is characterized by genomic instability: evidence from P53 mutations. *Mol Genet Metab*. 2001 Feb;72(2):155-63.
- Shattuck TM, Westra WH, Ladenson PW, Arnold A. Independent clonal origins of distinct tumor foci in multifocal papillary thyroid carcinoma. *N Engl J Med*. 2005 Jun 9;352(23):2406-12.
- Sheibani K, Esteban JM, Bailey A, Battifora H, Weiss LM. Immunopathologic and molecular studies as an aid to

## Bibliografía.

the diagnosis of malignant mesothelioma. *Hum Pathol*. 1992 Feb;23(2):107-16.

Shi YF, Zou MJ, Schmidt H, Juhasz F, Stensky V, Robb D, et al. High rates of ras codon 61 mutation in thyroid tumors in an iodide-deficient area. *Cancer Res*. 1991 May 15;51(10):2690-3.

Shi Y, Zou M, Ahmad M, Farid NR Studies of the human TSH receptor gene in physiology and pathology. *Horm Metab Res*. 1993 Dec;25(12):632-6.

Shimoyama Y, Hirohashi S, Hirano S, Noguchi M, Shimosato Y, Takeichi M, et al. Cadherin cell-adhesion molecules in human epithelial tissues and carcinomas. *Cancer Res*. 1989 Apr 15;49(8):2128-33.

Shioda T, Fenner MH, Isselbacher KJ. msg1, a novel melanocyte-specific gene, encodes a nuclear protein and is associated with pigmentation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996 Oct 29;93(22):12298-303.

Shioda T, Fenner MH, Isselbacher KJ. MSG1 and its related protein MRG1 share a transcription activating domain. *Gene*. 1997 Dec 19;204(1-2):235-41.

Shivakumarswamy U, Arakeri SU, Karigowdar MH, Yelikar B. Diagnostic utility of the cell block method versus the conventional smear study in pleural fluid cytology. *J Cytol*. 2012 Jan;29(1):11-5.

Siironen P, Louhimo J, Nordling S, Ristimäki A, Mäenpää H, Haapiainen R, et al. Prognostic factors in papillary thyroid cancer: an evaluation of 601 consecutive patients. *Tumour Biol*. 2005 Mar-Apr;26(2):57-64.

Siironen P, Ristimäki A, Narko K, Nordling S, Louhimo J, Andersson S, Haapiainen R, Haglund C. VEGF-C and COX-2 expression in papillary thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2006 Jun;13(2):465-73.

Sipos JA, Mazzaferri EL. Thyroid cancer epidemiology and prognostic variables. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 2010 Aug;22(6):395-404.

Siraj AK, Hussain AR, Al-Rasheed M, Ahmed M, Bavi P, Alsobhi SA, et al. Demethylation of TMS1 gene sensitizes thyroid cancer cells to TRAIL-induced apoptosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011 Jan;96(1):E215-24.

Slingerland J, Pagano M. Regulation of the cdk inhibitor P27 and its deregulation in cancer. *J Cell Physiol*. 2000 Apr;183(1):10-7.

Slosar M, Vohra P, Prasad M, Fischer A, Quinlan R, Khan A. Insulin-like growth factor mRNA binding protein 3 (IMP3) is differentially expressed in benign and malignant follicular patterned thyroid tumors. *Endocr Pathol*. 2009 Fall;20(3):149-57

Smith DP, Houghton C, Ponder BA. Germline mutation of RET codon 883 in two cases of de novo MEN 2B. *Oncogene*. 1997 Sep 4;15(10):1213-7.

Smith RA, Salajegheh A, Weinstein S, Nassiri M, Lam AK. Correlation between BRAF mutation and the clinicopathological parameters in papillary thyroid carcinoma with particular reference to follicular variant. *Hum Pathol*. 2011 Apr; 42(4):500-6.

Sobrinho-Simões M, Máximo V, Castro IV, Fonseca E, Soares P, Garcia-Rostan G, et al. Hürthle (oncocytic) cell tumors of thyroid: etiopathogenesis, diagnosis and clinical significance. *Int J Surg Pathol*. 2005 Jan;13(1):29-35

Sofiadis A, Tani E, Foukakis T, Kjellman P, Skoog L, Höög A, et al. Diagnostic and prognostic potential of MIB-1 proliferation index in thyroid fine needle aspiration biopsy. *Int J Oncol*. 2009 Aug;35(2):369-74.

Sobrinho-Simões M, Magalhães J, Soares P. Hot topics in papillary thyroid carcinoma. *Int J Surg Pathol*. 2010 Jun;18(3 Suppl):190S-193S

Soh EY, Duh QY, Sobhi SA, Young DM, Epstein HD, Wong MG, et al., Grossman RF, Siperstein AE, Clark OH. Vascular endothelial growth factor expression is higher in differentiated thyroid cancer than in normal or benign

thyroid. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997 Nov;82(11):3741-7.

Soslow RA, Dannenberg AJ, Rush D, Woerner BM, Khan KN, Masferrer J, et al. COX-2 is expressed in human pulmonary, colonic, and mammary tumors. *Cáncer.* 2000 Dec 15; 89(12):2637-45.

Specht MC, Tucker ON, Hocever M, González D, Teng L, Fahey TJ. Cyclooxygenase-2 expression in thyroid nodules. *J Clin endocrinol Metab* 2002; 87: 358-63

Spruck CH, Won KA, Reed SI. Deregulated cyclin E induces chromosome instability. *Nature.* 1999 Sep 16;401(6750):297-300.

Straight AM, Patel A, Fenton C, Dinauer C, Tuttle RM, Francis GL. Thyroid carcinomas that express telomerase follow a more aggressive clinical course in children and adolescents. *J Endocrinol Invest* 2002; 25: 302-8.

Su L, Beals T, Bernacki EG, Giordano TJ. Spindle epithelial tumor with thymus-like differentiation: a case report with cytologic, histologic, immunohistologic, and ultrastructural findings. *Mod Pathol.* 1997 May;10(5):510-4.

Suchy B, Waldmann V, Klugbauer S, Rabes HM. Absence of RAS and P53 mutations in thyroid carcinomas of children after Chernobyl in contrast to adult thyroid tumours. *Br J Cáncer.* 1998 Mar;77(6):952-5.

Sullivan RP, Mortimer G, Muirheartaigh IO. Cell proliferation in breast tumours: analysis of histological parameters Ki67 and PCNA expression. *Ir J Med Sci.* 1993 Sep;162(9):343-7.

Sywak M, Pasięka JL, Ogilvie T. A review of thyroid cancer with intermediate differentiation. *J Surg Oncol.* 2004 Apr 1;86(1):44-54.

## T

Tallini G, Santoro M, Helie M, Carlomagno F, Salvatore G, Chiappetta G, et al. RET/PTC oncogene activation defines a subset of papillary thyroid carcinomas lacking evidence

of progression to poorly differentiated or undifferentiated tumor phenotypes. *Clin Cáncer Res.* 1998 Feb;4(2):287-94.

Tallini G, Garcia-Rostan G, Herrero A, Zelterman D, Viale G, Bosari S, Cargangiu ML. Downregulation of P27KIP1 and Ki67 labeling index support the classification of thyroid carcinoma into prognostically categories. *Am J Surg Pathol* 1999; 23: 678-85.

Tallini G. Molecular pathobiology of thyroid neoplasms. *Endocr Pathol.* 2002 Winter; 13(4):271-88.

Tan A, Etit D, Bayol U, Altinel D, Tan S. Comparison of proliferating cell nuclear antigen, thyroid transcription factor-1, Ki-67, p63, P53 and high-molecular weight cytokeratin expressions in papillary thyroid carcinoma, follicular carcinoma, and follicular adenoma. *Ann Diagn Pathol.* 2011 Apr;15(2):108-16.

Tan GH, Gharib H. Thyroid incidentalomas: management approaches to nonpalpable nodules discovered incidentally on thyroid imaging. *Ann Intern Med.* 1997 Feb 1;126(3):226-31.

Tanaka K, Kurebayashi J, Sonoo H, Otsuki T, Yamamoto Y, Ohkubo S, et al. Expression of vascular endothelial growth factor family messenger RNA in diseased thyroid tissues. *Surg Today.* 2002;32(9):761-8.

Takano T, Matsuzuka F, Miyauchi A, Yokozawa T, Liu G, Morita S, et al. Restricted expression of oncofetal fibronectin mRNA in thyroid papillary and anaplastic carcinoma: an in situ hybridization study. *Br J Cáncer.* 1998 Jul;78(2):221-4.

Temim L, Ebraheem AK, Baker H, Sinowatz F. Cyclin D1 Expression in Human Thyroid Gland in Thyroid Cancer. *Anat. Histol. Embryol.* 2006; 35: 125–129

Terrier P, Sheng ZM, Schlumberger M, Tubiana M, Caillou B, Travagli JP, et al. Structure and expression of c-myc and c-fos proto-oncogenes in thyroid carcinomas. *Br J Cáncer.* 1988 Jan;57(1):43-7.

## Bibliografia.

Tfelt-Hansen J, Kanuparthi D, Chattopadhyay N. The emerging role of pituitary tumor transforming gene in tumorigenesis. *Clin Med Res.* 2006 Jun;4(2):130-7.

Thomas GV, Szigeti K, Murphy M, Draetta G, Pagano M, Loda M. Down-regulation of P27 is associated with development of colorectal adenocarcinoma metastases. *Am J Pathol.* 1998 Sep;153(3):681-7.

Tremmel M, Matzke A, Albrecht I, Laib AM, Olaku V, Ballmer-Hofer K, et al. A CD44v6 peptide reveals a role of CD44 in VEGFR-2 signaling and angiogenesis. *Blood.* 2009 Dec 10;114(25):5236-44.

Tronccone G, Iaccarino A, Russo M, Palmieri EA, Volante M, Papotti M, et al. Accumulation of P27(kip1) is associated with cyclin D3 overexpression in the oxyphilic (Hurthle cell) variant of follicular thyroid carcinoma. *J Clin Pathol.* 2007 Apr;60(4):377-81. Epub 2006 Jun 23.

Tronccone G, Volante M, Iaccarino A, Zeppa P, Cozzolino I, Malapelle U, et al. Cyclin D1 and D3 overexpression predicts malignant behavior in thyroid fine-needle aspirates suspicious for Hurthle cell neoplasms. *Cáncer.* 2009 Dec 25;117(6):522-9.

Trovisco V, Soares P, Preto A, de Castro IV, Lima J, Castro P, et al. Type and prevalence of BRAF mutations are closely associated with papillary thyroid carcinoma histotype and patients' age but not with tumour aggressiveness. *Virchows Arch.* 2005 Jun;446(6):589-95.

Trovisco V, Soares P, Sobrinho-Simões M. B-RAF mutations in the etiopathogenesis, diagnosis, and prognosis of thyroid carcinomas. *Hum Pathol.* 2006 Jul;37(7):781-6.

Tuttle RM, Fleisher M, Francis GL, Robbins RJ. Serum vascular endothelial growth factor levels are elevated in metastatic differentiated thyroid cancer but not increased by short-term TSH stimulation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Apr;87(4):1737-42.

## U

Umbricht CB, Saji M, Westra WH, Udelsman R, Zeiger MA, Sukumar S. Telomerase activity: a marker to distinguish follicular thyroid adenoma from carcinoma. *Cáncer Res.* 1997 Jun 1;57(11):2144-7.

Umbricht CB, Conrad GT, Clark DP, Westra WH, Smith DC, Zahurak M. Human telomerase reverse transcriptase gene expression and the surgical management of suspicious thyroid tumors. *Clin Cáncer Res.* 2004 Sep 1;10(17):5762-8.

Unger K, Zitzelsberger H, Salvatore G, Santoro M, Bogdanova T, Braselmann H, et al. Heterogeneity in the distribution of RET/PTC rearrangements within individual post-Chernobyl papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89:4264-6

United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation (UNSCEAR). Volume I: Sources, effects and risks of ionizing radiation, UNSCEAR 2000 Report to the General Assembly, with scientific annexes. United Nations sales publication E.00.IX.3. United Nations, New York. 2000

## V

van den Brekel MW, Hekkenberg RJ, Asa SL, Tomlinson G, Rosen IB, Freeman JL. Prognostic features in tall cell papillary carcinoma and insular thyroid carcinoma. *Laryngoscope.* 1997 Feb;107(2):254-9.

van Rees BP, Saukkonen K, Ristimäki A, Polkowski W, Tytgat GN, Drillenburger P, et al. Cyclooxygenase-2 expression during carcinogenesis in the human stomach. *J Pathol.* 2002 Feb;196(2):171-9.

Variakojis D, Getz ML, Paloyan E, Straus FH. Papillary clear cell carcinoma of the thyroid gland. *Hum Pathol.* 1975 May;6(3):384-90.

Vasko V, Hu S, Wu G, Xing JC, Larin A, Savchenko V, et al. High prevalence and possible de novo formation of BRAF mutation in metastasized papillary thyroid cancer in lymph nodes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 Sep;90(9):5265-9.



- Vickery AL Jr, Carcangiu ML, Johannessen JV, Sobrinho-Simoes M. Papillary carcinoma. *Semin Diagn Pathol*. 1985 May;2(2):90-100.
- Vidal-Rios P, Rodriguez A, Hofmann LH, Matias X, Jiménez T. Primeras impresiones sobre la utilidad de la TPO47 en PAAF de nódulos tiroideos. *Endocrinol Nutr (Barc)* 2002; 98:8
- Vlotides G, Eigler T, Melmed S. Pituitary tumor-transforming gene: physiology and implications for tumorigenesis. *Endocr Rev*. 2007 Apr;28(2):165-86.
- Vogelstein B, Lane D, Levine AJ. Surfing the P53 network. *Nature*. 2000 Nov 16;408(6810):307-10.
- Volante M, Collini P, Nikiforov YE, Sakamoto A, Kakudo K, Katoh R, et al. Poorly differentiated thyroid carcinoma: the Turin proposal for the use of uniform diagnostic criteria and an algorithmic diagnostic approach. *Am J Surg Pathol*. 2007 Aug;31(8):1256-64.
- von Wasielewski R, Rhein A, Werner M, Scheumann GF, Dralle H, Pötter E, et al. Immunohistochemical detection of E-cadherin in differentiated thyroid carcinomas correlates with clinical outcome. *Cáncer Res*. 1997 Jun 15;57(12):2501-7.
- W
- Wang CC, Friedman L, Kennedy GC, Wang H, Kebebew E, Steward DL, et al. A large multicenter correlation study of thyroid nodule cytopathology and histopathology. *Thyroid*. 2011 Mar;21(3):243-51.
- Wang SL, Chen WT, Wu MT, Chan HM, Yang SF, Chai CY. Expression of human telomerase reverse transcriptase in thyroid follicular neoplasms: an immunohistochemical study. *Endocr Pathol*. 2005 Fall;16(3):211-8.
- Wang W, Johansson H, Bergholm U, Wilander E, Grimelius L. Apoptosis and Expression of the Proto-Oncogénes bcl-2 and P53 and the Proliferation Factor Ki-67 in Human Medullary Thyroid Carcinoma. *Endocr Pathol*. 1996 Spring;7(1):37-45.
- Wang W, Wang H, Teng X, Wang H, Mao C, Teng R, et al. Clonal analysis of bilateral, recurrent, and metastatic papillary thyroid carcinomas. *Hum Pathol*. 2010 Sep;41(9):1299-309.
- Wartofsky L. Highlights of the American Thyroid Association Guidelines for patients with thyroid nodules or differentiated thyroid carcinoma: the 2009 revision. *Thyroid*. 2009 Nov;19(11):1139-43
- Weber F, Shen L, Aldred MA, Morrison CD, Frilling A, Saji M, et al. Genetic classification of benign and malignant thyroid follicular neoplasia based on a three-gene combination. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005 May;90(5):2512-21.
- Weidinger C, Karger S, Krause K, Schierle K, Steinert F, Gimm O, et al. Distinct regulation of intrinsic apoptosis in benign and malignant thyroid tumours. *Horm Metab Res*. 2010 Jul;42(8):553-6.
- Weier HU, Rhein AP, Shadravan F, Collins C, Polikoff D. Rapid physical mapping of the human *trk* protooncogéne (NTRK1) to human chromosome 1q21-q22 by P1 clone selection, fluorescence in situ hybridization (FISH), and computer-assisted microscopy. *Genomics*. 1995 Mar 20;26(2):390-3.
- Wenig BM, Thompson LD, Adair CF, Shmookler B, Heffess CS. Thyroid papillary carcinoma of columnar cell type: a clinicopathologic study of 16 cases. *Cáncer*. 1998 Feb 15;82(4):740-53.
- Williams ED, Doniach I, Bjarnason O, Michie W. Thyroid cáncer in a iodine rich area. *Cáncer*. 1977; 39: 215-222.
- Williams ED. Guest Editorial: Two Proposals Regarding the Terminology of Thyroid Tumors. *Int J Surg Pathol*. 2000 Jul;8(3):181-183.
- Williams ED. Cáncer after nuclear fallout: lessons from the Chernobyl accident. *Nat Rev Cáncer*. 2002 Jul;2(7):543-9.

## Bibliografía.

Williams GH, Stoeber K. The cell cycle and cáncer. *J Pathol.* 2012 Jan;226(2):352-64.

Wiseman SM, Masoudi H, Niblock P, Turbin D, Rajput A, Hay J, et al. Derangement of the E-cadherin/catenin complex is involved in transformation of differentiated to anaplastic thyroid carcinoma. *Am J Surg.* 2006 May;191(5):581-7.

Wiseman SM, Griffith OL, Deen S, Rajput A, Masoudi H, Gilks B, et al. Identification of molecular markers altered during transformation of differentiated into anaplastic thyroid carcinoma. *Arch Surg.* 2007 Aug;142(8):717-27;

Wolfe HJ, Melvin KE, Cervi-Skinner SJ, Saadi AA, Juliar JF, Jackson CE, et al. C-cell hyperplasia preceding medullary thyroid carcinoma. *N Engl J Med.* 1973 Aug 30;289(9):437-41.

Wu CL, Zukerberg LR, Ngwu C, Harlow E, Lees JA. In vivo association of E2F and DP family proteins. *Mol Cell Biol.* 1995 May;15(5):2536-46.

Wu MY, Zhuang CX, Yang HX, Liang YR. Expression of Egr-1, c-fos and cyclin D1 in esophageal cáncer and its precursors: An immunohistochemical and in situ hybridization study. *World J Gastroenterol.* 2004 Feb 15;10(4):476-80.

### X

Xing M. BRAF mutation in thyroid cáncer. *Endocr Relat Cáncer.* 2005 Jun;12(2):245-62. Review.

Xing M, Clark D, Guan H, Ji M, Dackiw A, Carson KA, Kim M, et al. BRAF mutation testing of thyroid fine-needle aspiration biopsy specimens for preoperative risk stratification in papillary thyroid cáncer. *J Clin Oncol.* 2009 Jun 20;27(18):2977-82.

Xu B, Yoshimoto K, Miyauchi A, Kuma S, Mizusawa N, Hirokawa M, et al. Cribriform-morular variant of papillary thyroid carcinoma: a pathological and molecular genetic study with evidence of frequent somatic mutations in exon 3 of the beta-catenin gene. *J Pathol.* 2003 Jan;199(1):58-67.

Xu H. IMP3: a diagnostic and prognostic biomarker in malignant melanoma. *Expert Rev Mol Diagn.* 2008 Sep;8(5):557-8.

### Y

Yang D, Guo J, Divieti P, Shioda T, Bringhurst FR. CBP/p300-interacting protein CITED1 modulates parathyroid hormone regulation of osteoblastic differentiation. *Endocrinology.* 2008 Apr;149(4):1728-35.

Yassa L, Cibas ES, Benson CB, Frates MC, Doubilet PM, Gawande AA, et al. Long-term assessment of a multidisciplinary approach to thyroid nodule diagnostic evaluation. *Cáncer.* 2007 Dec 25;111(6):508-16.

Yip L, Kelly L, Shuai Y, Armstrong MJ, Nikiforov YE, Carty SE, et al. MicroRNA signature distinguishes the degree of aggressiveness of papillary thyroid carcinoma. *Ann Surg Oncol.* 2011 Jul;18(7):2035-41. Epub 2011 May 3.

Yousaf U, Christensen LH, Rasmussen AK, Jensen F, Mollerup CL, Kirkegaard J, et al. Immunohistochemical staining for thyroid peroxidase (TPO) of needle core biopsies in the diagnosis of scintigraphically cold thyroid nodules. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2008 Jun;68(6):996-1001.

### Z

Zafon C, Obiols G, Castellví J, Tallada N, Baena JA, Simó R, et al. Clinical significance of RET/PTC and P53 protein expression in sporadic papillary thyroid carcinoma. *Histopathology.* 2007 Jan;50(2):225-31.

Zafon C, Obiols G. Vía de señalización dependiente de la proteínasa de activación mitogénica en el carcinoma papilar de tiroides. De las bases moleculares a la práctica clínica. *Endocrinol Nutr.* 2009 Apr;56(4):176-86.

Zafón C, Castellví J, Obiols G. Utilidad del análisis inmunohistoquímico de diversos marcadores moleculares en la caracterización del carcinoma papilar de tiroides con metástasis linfáticas iniciales. *Endocrinol Nutr.* 2010 Apr;57(4):165-9.

Zanetti A, Stoppacciaro A, Marzullo A, Ciabatta M, Fazioli F, Prat M, et al. Expression of Met protein and urokinase-type plasminogen activator receptor (uPA-R) in papillary carcinoma of the thyroid. *J Pathol.* 1998 Nov;186(3):287-91.

Zeiger MA, Saji M, Gusev Y, Westra WH, Takiyama Y, Dooley WC, et al. Thyroid-specific expression of cholera toxin A1 subunit causes thyroid hyperplasia and hyperthyroidism in transgenic mice. *Endocrinology.* 1997 Aug;138(8):3133-40.

Zeng L, Geng Y, Tretiakova M, Yu X, Sicinski P, Kroll TG. Peroxisome proliferator-activated receptor-delta induces cell proliferation by a cyclin E1-dependent mechanism and is up-regulated in thyroid tumors. *Cáncer Res.* 2008 Aug 15;68(16):6578-86.

Zhang HY, Meng X, Du ZX, Fang CQ, Liu GL, Wang HQ, et al. Significance of survivin, caspase-3, and VEGF expression in thyroid carcinoma. *Clin Exp Med.* 2009 Sep;9(3):207-13

Zhu Z, Gandhi M, Nikiforova MN, Fischer AH, Nikiforov YE. Molecular profile and clinical-pathologic features of the follicular variant of papillary thyroid carcinoma. An unusually high prevalence of ras mutations. *Am J Clin Pathol.* 2003 Jul;120(1):71-7.

Zhu X, Sun T, Lu H, Zhou X, Lu Y, Cai X, et al. Diagnostic significance of CK19, RET, galectin-3 and HBME-1 expression for papillary thyroid carcinoma. *J Clin Pathol.* 2010 Sep;63(9):786-9.