



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

**MUTACIÓN BRAF V600E Y SU ASOCIACIÓN  
CON PRESENCIA DE CARCINOMA DE  
TIROIDES PAPILAR EN ACAF DE  
PACIENTES CON NÓDULO TIROIDEO.**

**JUAN ALBERTO PERALTA GOMEZ**

Universidad Nacional de Colombia  
Facultada de Medicina , Departamento Medicina Interna  
Bogotá, Colombia  
2015



**MUTACIÓN BRAF V600E Y SU ASOCIACIÓN  
CON PRESENCIA DE CARCINOMA DE  
TIROIDES PAPILAR EN ACAF DE  
PACIENTES CON NÓDULO TIROIDEO.**

**Juan Alberto Peralta Gómez**

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de:  
**Especialista en Endocrinología**

Director:

Dr. Juan Manuel Arteaga Díaz, Especialista en medicina interna-  
Endocrinología

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Medicina interna, Departamento de Medicina Interna  
Bogotá, Colombia  
2015



## Resumen

El nódulo tiroideo constituye el 20% de los motivos de consulta en endocrinología, este porcentaje ha venido en aumento progresivo en los últimos años. De allí que la presencia de un nódulo tiroideo, despierta siempre la sospecha de presencia de malignidad y de allí surge la necesidad de un diagnóstico confiable para descartar o confirmar la presencia de malignidad sobre esta lesión tiroidea.

La aspiración con aguja fina (ACAF) es el procedimiento diagnóstico más usado en el discernimiento de este dilema Su sensibilidad diagnóstica se ha reportado en 80%,

Estudios de expresión genética por vía de la reacción en cadena de la polimerasa han evaluado la importancia diagnóstica potencial de genes como fibronectina, Met/HGFR, MUC 1 y Más recientemente se ha identificado la mutación BRAF V600E en el carcinoma papilar de tiroides como un hallazgo común en el carcinoma papilar de tiroides, alcanzando una tasa de hasta 89% en las variables en el carcinoma papilar convencional. Se ha propuesto inclusive que la mutación BRAF esté asociada a formas clínicas más agresivas de carcinoma papilar de tiroides. Con lo cual su identificación en los especímenes de citología por ACAF de los nódulos tiroideos permitirá mejorar la sensibilidad diagnóstica este procedimiento y hacer una selección más adecuada y precisa de los pacientes que verdaderamente requieren de un tratamiento y seguimiento adecuado considerando las implicaciones de la presencia de esta mutación en el carcinoma papilar de tiroides

**Palabras clave: thyroid carcinoma, BRAF v600e, cytology, Fine needle aspiration.**

# Contenido

	<u>Pág.</u>
1. INTRODUCCION	1
2. CARCINOMA DE TIROIDES	2
3. CARCINOMA PAPILAR	4
4. NODULO TIROIDEO	4
5. ENFOQUE DIAGNOSTICO DEL NÓDULO TIROIDEO	5
6. ULTRASONOGRAFIA DE TIROIDES	6
7. CITOLOGIA POR ASPIRACION CON AGUJA FINA (ACAF).	6
8. RECOMENDACIONES PARA LA REALIZACION DE ACAF DE TIROIDES SEGÚN GUIAS ATA 2009.	6
9. SISTEMA BETHESDA PARA CITOLOGIA DE TIROIDES	7
10. BETHESDA RIESGO DE MALIGNIDAD Y RECOMENDACION CLINICA DE MANEJO	7
11. GENETICA MOLECULAR EN EL DIGNOSTICO DE CANCER DE TIROIDES	8
12. RET/PTC REORDENAMIENTO	8
13. MUTACION RAS	10
14. MUTACION PAX8/PPARC	10
15. MUTACION BRAF V600E	10
16. MUTACION DE BRAF CON CARACTERISTICAS CLINICO PATOLOGICAS DE ALTO RIESGO EN CARCINOMA PAPILAR DE TIROIDES.	11
17. DETECION DE LA MUTACION BRAF COMO POTENCIAL AYUDA EN EL DIAGNOSTICO ESTRATIFIACION Y MANEJO.	12

## 2. INTRODUCCION

El cáncer de tiroides es la neoplasia maligna más frecuente encontrada en la consulta de endocrinología . En el mundo se estiman 212.000 casos nuevos anuales, para una tasa de incidencia de 3,1 por 100.000.(1) En Colombia, la incidencia calculada para mujeres en 2006 fue de 6,9 por 100.000 y para hombres fue de 1,8 por 100.000 ( Entre 2003 y 2007 hubo en el Instituto Nacional de Cancerología. 1.145 casos nuevos, que fueron clasificados por su tipo histopatológico en relación con la frecuencia, en: papilar (88%), folicular (3%), medular (3%), de células de Hurtle (1%), anaplásico (1%) y otros, o no clasificados (4%). (2)

En países donde la ingestión de yodo es adecuada las formas diferenciadas representan más del 80% de todos los carcinomas tiroideos, entre los cuales el papilar es el tipo histológico más visto (60%-80%). Según Correa y cols.

El carcinoma tiroideo se presenta como un nódulo solitario o nódulo dominante con o sin presencia de adenopatías regionales, de allí la importancia del estudio de los nódulos tiroideos especialmente cuando se encuentran factores de riesgo asociados. En nuestro país Otero y Martin reportaron la presencia de nódulos tiroideos en 35,9% de 1000 autopsias realizadas en el Instituto Nacional de Cancerología en Bogotá. Del total de nódulos reportados 20% resultaron malignos. (3).

La aspiración con aguja fina (ACAF) es el procedimiento diagnóstico más usado en el discernimiento de este dilema diagnóstico y es la base para guiar la conducta quirúrgica, desde su introducción en 1970 el ACAF ha permitido reducir el número de cirugías innecesarias mejorando la exactitud diagnóstica del cáncer de tiroides.

Su sensibilidad diagnóstica se ha reportado en 80%, sin embargo aquellos pacientes que presentan un resultado negativo en el ACAF no son sometidos a cirugía y por tanto no hacen parte del análisis estadístico.

Entre las desventajas del análisis citológico de los aspirados de tiroides se cuentan la capacidad del patólogo, la cantidad de tejido recuperado para el análisis y la falta de criterios estandarizados de diagnóstico lo que conlleva la necesidad de cirugía aunque en la patología post-operatoria apenas 20% a 30% resultan definitivamente malignas.

Diversos marcadores moleculares han sido aplicados a técnicas de inmunohistoquímica para mejorar la sensibilidad diagnóstica del ACAF. Entre ellos HBMEI, galectina 3, y CITED-1. Éstos, de acuerdo con diversos autores, puede llegar a mejorar la sensibilidad diagnóstica del BACAF hasta en un 10%.(4)

Estudios de expresión genética por vía de la reacción en cadena de la polimerasa han evaluado la importancia diagnóstica potencial de genes como fibronectina, Met/HGFR, MUC 1 y Más recientemente se ha identificado la mutación BRAF V600E en el carcinoma papilar de tiroides como un hallazgo común en el carcinoma papilar de tiroides, alcanzando una tasa de hasta 89% en las variables en el carcinoma papilar convencional. Se ha propuesto inclusive que la mutación BRAF esté asociada a formas clínicas más agresivas de carcinoma papilar de tiroides.

En el mismo sentido, la tecnología de re-arreglo genético ha permitido incrementar la exactitud diagnóstica de los especímenes obtenidos por aspiración con aguja fina. Algunos grupos que han

empleado esta tecnología han informado de sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo de 85%, 100% y 92,3% (5)

En Colombia no hay estudios publicados con respecto a la prevalencia la mutación BRAF V600E relacionada con carcinoma papilar de tiroides y considerando que la identificación de esta mutación específicas en los especímenes de citología por ACAF de los nódulos tiroideos permitirá mejorar la sensibilidad diagnóstica este procedimiento y hacer una selección más adecuada y precisa de los pacientes que verdaderamente requieren de un tratamiento y seguimiento adecuado considerando las implicaciones de la presencia de esta mutación en el carcinoma papilar de tiroides



### 3. CARCINOMA DE TIROIDES

El carcinoma de tiroides es la patología maligna más frecuente en el sistema endocrino, correspondiendo hasta el 90% de las neoplasias endocrinas. Su incidencia se ha reportado entre 9-12/100.000 individuos, y aumenta con la edad, pero alcanza una meseta a partir de los 50 años. El riesgo de desarrollar cáncer de tiroides es de 0.69% (1 en 146 individuos) (6) , siendo dos a tres veces más común en mujeres que en hombres. Se desconoce la causa por la cual la incidencia de esta enfermedad es mayor en mujeres. La tasa de mortalidad anual de esta enfermedad se encuentra en 0.4 – 2.8/100.000 en mujeres, y 0.2-1.2/100.000 en hombres.(7)

Los factores de riesgo asociados con el desarrollo de cáncer de tiroides son edad menor de 20 años y mayor de 60; factores medioambientales, como exposición a radiación ionizante dependiendo de la edad y tiempo de exposición a esta radiación, deficiencia de ingesta de yodo, índice de masa corporal en rango de obesidad con un riesgo 5 veces mayor en hombres y 2 veces en mujeres y factores hormonales. Si bien el antecedente de enfermedad benigna tiroidea es un factor de riesgo, la tiroiditis de Hashimoto o el bocio multinodular no se consideran lesiones pre malignas.(5-7)

El diagnóstico de este tipo de paciente se realiza durante un examen de rutina en donde en la evaluación se encuentra uno o varios nódulos dependientes de la tiroides, por lo general no se encuentran alteración en la función tiroidea. Al momento del diagnóstico, el tumor se encuentra localizado en la tiroides en el 59% de los casos, está diseminado a ganglios linfáticos en el 34%, y presenta diseminación a otros órganos en el 5%.

*Tabla 1. Frecuencia de tumores de la tiroides*

Tipo de carcinoma	Frecuencia
Carcinoma Papilar	80%
Carcinoma Folicular (incluye carcinoma de células de Hürthle )	10%
Carcinoma Medular	5%
Carcinoma indiferenciado	3%
Misceláneos ( linfoma, fibrosarcoma,, carcinoma de células escamosas, endotelioma maligno , teratomas y metástasis)	1%

Tomado de Greenspan's Basic & Clinical Endocrinology eighth edition.

### 4. CARCINOMA PAPILAR

El carcinoma papilar de tiroides se define como “un tumor epitelial maligno que muestra evidencias de diferenciación celular folicular, y se caracteriza por la formación de papilas y/o un grupo de

cambios nucleares distintivos.”(8) Conforman entre el 50-85% de todos los carcinomas diferenciados de tiroides, aunque se registran incidencias tan elevadas como del 90-95% en Corea (9) , donde se asocia a una ingesta alta en yodo como factor de riesgo principal.

Microscópicamente, el tumor se compone de capas individuales de células tiroideas dispuestas forma lineal con los vasos, con proyecciones papilares que se extienden a espacios como quistes microscópicos. Los núcleos de las células son grandes y pálidos y con frecuencia contienen cuerpos intranucleares vidriosos con cuerpos de inclusión claros . Alrededor del 40% de carcinomas papilares forman esferas laminadas calcificadas que a menudo se localizan en la punta de la papila, corresponden a los cuerpos de psammoma que son patognomónicos de carcinoma papilar de tiroides. (10)

En el carcinoma papilar se encuentran tres variantes principales:

- Variante folicular: Tumores que con núcleos característicos de carcinoma papilar , pero el resto de su arquitectura semeja el carcinoma folicular.
- Variante encapsulada: Comprende el 10% de los carcinomas papilares, se encuentra bien encapsulada, y rara vez se disemina a ganglios linfáticos. Suele confundirse con un adenoma benigno.
- Variante de células altas: Muestran células columnares con citoplasma eosinófilo intenso, son tumores grandes y presentan invasión vascular y extratiroidea..

Más del 80% de los carcinomas papilares son detectados en estadios tempranos (estadio I-II), y tienen muy buen pronóstico. La mortalidad de esta enfermedad es del 1%, y la gran mayoría son pacientes en estadio IV.

## 5. NODULO TIROIDEO

Los nódulos tiroideos son un motivo de consulta común en endocrinología, al igual que su hallazgo durante el examen físico de un paciente que acude por otras causas. La prevalencia de la presencia de nódulos tiroideos depende en gran medida del método de búsqueda y la población evaluada. El aumento de la edad, el sexo femenino, la deficiencia de yodo, una historia de radiación en cabeza y cuello o antecedente familiar parecen aumentar el riesgo de los nódulos tiroideos.

Nódulos palpables están presentes en el 0,2% al 21% siendo mas frecuentes pacientes de mayor edad. La palpación es la técnica menos sensible y específica por lo que es poco fiable para nódulos menores de 1 cm. (11) sin embargo, es barato, no es técnicamente exigente y se realiza fácilmente en casi cualquier entorno clínico por lo que se aconseja realizarlo de manera rutinaria.

El ultrasonido tiene la ventaja de ser más sensible que la exploración física para la detección de nódulos tiroideos. Se estima que la palpación sola no puede detectar hasta dos tercios de los nódulos evidenciados por ecografía, en grandes series de pacientes asintomáticos se encuentra entre 19% a 35% nódulos solitarios o múltiples. En la ultrasonografía de alta resolución (13MHz) esta cifra se acerca al 70%.(12). El examen histopatológico sigue siendo el estándar de oro para la evaluación de nódulos en la tiroides y en consecuencia, los estudios de autopsia probablemente proporcionan la representación

más exacta de prevalencia. Aunque las técnicas de preparación de muestras y definiciones de los nódulos son algo variables, estudios más autopsias han encontrado nódulos en 50% a 65% de los pacientes. (13).

## 6. ENFOQUE DIAGNOSTICO DEL NÓDULO TIROIDEO

Al igual que en todo enfoque diagnóstico en medicina se requiere de una adecuada historia clínica a fin de identificar factores de riesgo que sugieran mayor riesgo de padecer carcinoma de tiroides, además de un buen examen físico en donde se determinan las características de nódulo además de la presencia o no de adenopatías cervicales. Para completar el estudio contamos con la ultrasonografía que aporta información en cuanto medidas y características de nódulo y la realización de ACAF de tiroides con él se tiene una aproximación más precisa del diagnóstico del nódulo tiroideo para así determinar la conducta a seguir.

**Tabla 2 Factores que incrementan el riesgo de malignidad**

**Historia de irradiación en cabeza y cuello**

**Historia familiar de carcinoma de tiroides o neoplasia endocrina tipo 2**

**Edad menor a 14 o mayor de 70.**

**Sexo femenino**

**Crecimiento del nódulo**

**Consistencia firme o dura**

**Adenopatías cervicales**

**Nódulo fijo**

**Presencia de disfonía, disfagia o disnea.**

**AACE/AME/ETA Thyroid Nodule Guidelines, *Endocr Pract.* 2010;16**

## 7. ULTRASONOGRAFIA DE TIROIDES

El ultrasonido de alta resolución (13MHz) es el método de detección por imagen más sensible y específico para la evaluación de nódulo tiroideo. A través de este método se realiza la confirmación y la caracterización de los nódulos e incidentalomas palpables. Las características ecográficas asociados con un mayor riesgo de malignidad son microcalcificaciones, tamaño mayor de 4 cm, hipoecogenicidad, nódulos sólidos, presencia vascularización central intranodular, bordes irregulares o microlobulados, relación largo / ancho superior a uno. Una característica adicional es la presencia de la enfermedad nodal dentro de los compartimentos laterales del cuello. (14).

## 8. CITOLOGIA POR ASPIRACION CON AGUJA FINA (ACAF).

Esta la técnica más costo efectiva para la evaluación de nódulo tiroideo. El elemento aguja fina es el más importante al ejecutar la técnica, pues el uso de agujas de calibres 23 a 25 o menos será el que determine en buena medida la obtención de una muestra adecuada, con escasa sangre y suficiente material celular para la realización del citodiagnóstico. Se podría pensar que si se utiliza una aguja de mayor grosor, se obtendrá mayor cantidad de material celular; esto es esta alejado de la realidad, pues con agujas gruesas se traumatiza más el tejido y se provoca una mayor lesión vascular, con profuso sangrado, de manera que lo más probable es que se extraiga una muestra no útil por la presencia de abundante sangre, lo cual dificulta o impide la observación celular. (15)

## 9. RECOMENDACIONES PARA LA REALIZACION DE ACAF DE TIROIDES SEGÚN GUIAS ATA 2009. .

1 .Historia de alto riesgo		
Características ecográficas sospechosas	>5mm	Recomendación A
Sin características ecográficas sospechosas	>5mm	Recomendación I
Presencia de adenopatías cervicales	todos	Recomendación A
Presencia de microcalcificaciones	≥1 cm	Recomendación B
2. Nodulo solido		
Hipoecogenico	>1 cm	Recomendacion B
Iso o hiperecogenico	≥1–1.5 cm	Recomendación C
3. Nodulo mixto solido- quistico		
Con cualquier característica sospechosa	≥ 1.5–2.0 cm	Recomendación B
Sin características ecográficas sospechosas	≥ 2 cm	Recomendación C
3. Nódulo esponjiforme	≥ 2.0 cm	Recomendación C
4. Puramente quístico	no indicado	Recomendación E

Cooper et al. Revised American thyroid association management Guidelines for patients with thyroid nodules And differentiated thyroid cancer thyroid volume 19, number 11, 2009

## 10. SISTEMA BETHESDA PARA CITOLOGIA DE TIROIDES.

La clasificación de Bethesda surge la reunión del Instituto nacional (americano) de cáncer de octubre de 2007 en donde se reconoce la necesidad de unificar la terminología para el reporte de ACAF de tiroides de donde se clasifico en las siguientes categorías de diagnóstico :

- I. No diagnóstica o Insatisfactorio
  - Sólo líquido del quiste
  - Especimen Prácticamente acelular
  - Otros (sangre oscureciendo, artefacto de coagulación, etc.)
- II. Benigno
  - Nódulo folicular benigno (incluye nódulo adenomatoso, nódulo coloide, etc)
  - Consistente con tiroiditis linfocítica (Hashimoto) en el contexto clínico adecuado
  - Consistente con tiroiditis granulomatosa (subaguda)
  - Otros .
- III. Atipia de significado indeterminado o folicular Lesión de significado indeterminado.
- IV. Neoplasia folicular o sospechoso para Neoplasia folicular.  
Especificar si la célula es de tipo Hürthle (oncocítico)
- V. Sospechosa de malignidad

Sospecha de carcinoma papilar  
 Sospecha de carcinoma medular  
 Sospecha de carcinoma metastásico  
 Sospecha de linfoma  
 Otro  
 VI. Maligno  
 El carcinoma papilar de la tiroides  
 Carcinoma pobremente diferenciado  
 Carcinoma medular de tiroides  
 Carcinoma indiferenciado (anaplásico)  
 El carcinoma de células escamosas  
 Carcinoma con características mixtas (especificar)  
 El carcinoma metastásico  
 Linfoma no Hodgkin  
 Otro

## **11. BETHESDA RIESGO DE MALIGNIDAD Y RECOMENDACION CLINICA DE MANEJO.**

Categoría /Diagnóstico	Riesgo de malignidad (%)	Manejo usual
No diagnóstico o Insatisfactorio FNA	1-4%	Repetir
Benigna	0-3%	seguimiento clínico
Atipia de significado indeterminado o lesión folicular de significado indeterminado	5-15%	Repetir FNA
Neoplasia folicular o sospecha	15-30	lobectomía quirúrgica
Sospecha malignidad	60-75	Lobectomía o total
Maligno	97-99	Tiroidectomía total

Edmund S. Cibas and Syed Z. Ali. The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. Am J Clin Pathol 2009;132:658-665

## **12. GENETICA MOLECULAR EN EL DIGNOSTICO DE CANCER DE TIROIDES**

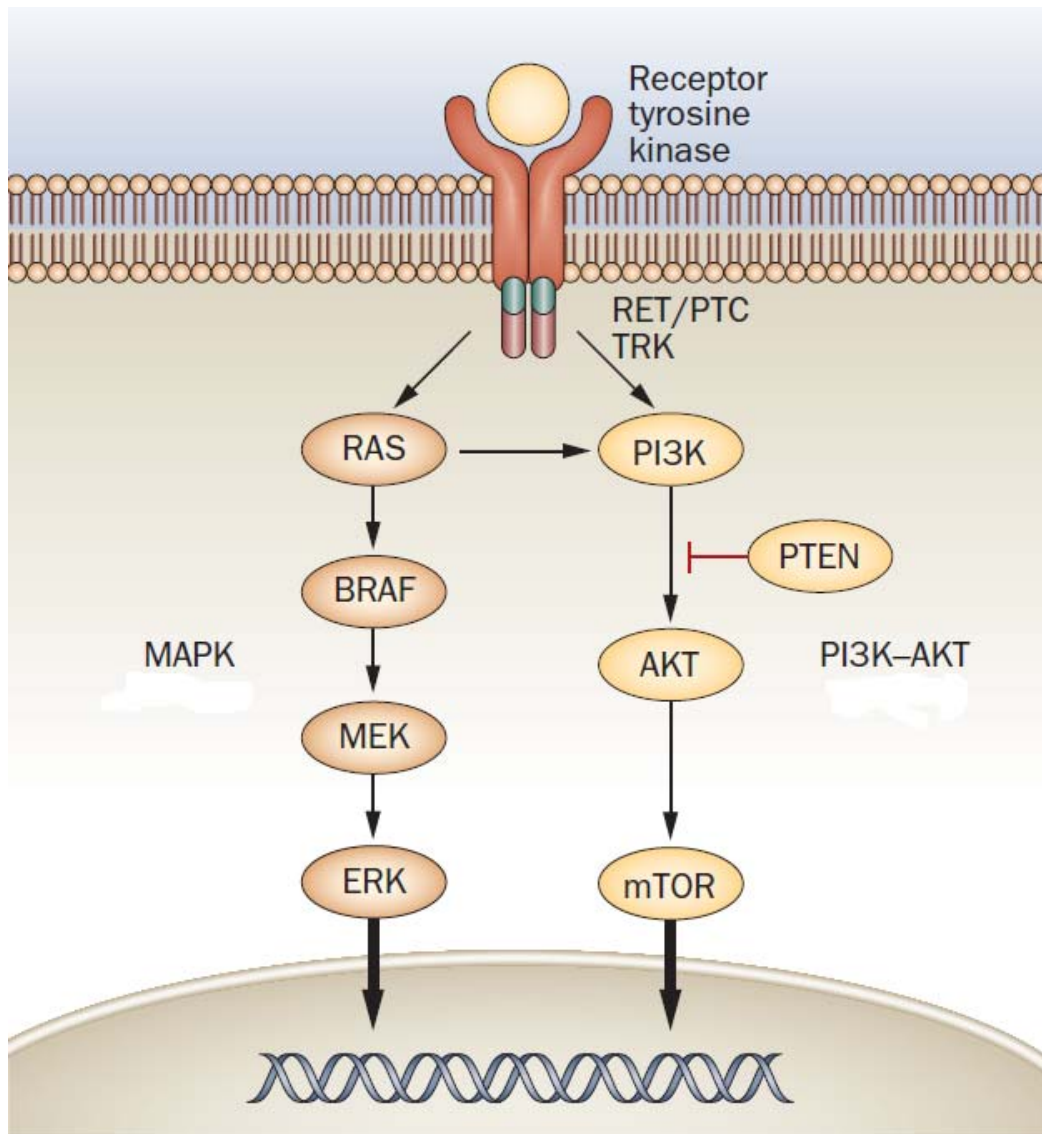
La mayoría de los nódulos tiroides son benignos sin embargo es importante la identificación rápida y precisa de la presencia de malignidad sin embargo en la realización de la citología hay un 25% de casos que no pueden ser determinados a través de esta, para estos casos surge la necesidad de recurrir a nuevos métodos mas sensibles como la detección de diferentes mutaciones asociadas a la presencia de carcinoma de tiroides.

La mayoría de las mutaciones en el cáncer de tiroides implican los efectores de la vía MAPK y la PI3K-AKT. La activación de la vía MAPK es un paso determinante el inicio de la formación del

tumor tiroideo. Los genes mutados que afectan estas vías de los receptores tirosin-kinasa de la membrana celular codifican quinasas RET y NTRK1 y transductores de señales intracelulares como BRAF y RAS. Estas mutaciones se encuentran hasta en un 70% de los pacientes con carcinoma de tiroides papilar y se asocian a características clínicas e histológicas especiales. (16-17)

En el cáncer folicular de tiroides, además a la mutación de RAS, otro caso común es PAX8 / Reordenamiento PPAR.

Figura 1. Vía de señalización involucradas en la carcinogénesis tiroidea de las vías MAPK y PI3K-AKT.



### **13. RET/PTC REORDENAMIENTO**

Proto-oncogen RET codifica el receptor tirosin-quinasa, RET se expresa en celular parafoliculares en condición de normalidad y se puede activar por reordenamiento en células foliculares, se reconocen 11 reordenamientos, RET/PTC 1 y RET/PTC 3 son los se encuentran con mayor asociación con carcinoma de tiroides. La activación de RET/PTC lleva a una activación permanente de la vía de señalización de MAPK esta activación es el mecanismo para la tumorigenesis de la células tiroideas, esta mutación es muy específica para carcinoma papilar de tiroides y es posible identificarla con técnicas sensibles en nódulos benignos lo cual no la hace muy específica. El método utilizado dependerá del tipo de muestra que se vaya a estudiar, así en muestras frescas se realiza amplificación con PCR en tiempo real pero si está fijado por coloración o parafina la técnica a utilizar es la inmunofluorescencia. En personas expuestas a radiación se encuentra entre 50-80% la presencia de reordenamientos de este tipo. Los reordenamientos RET/PTC 1: se asocian a histología tumoral clásica mientras que el reordenamiento RET/PTC 3 con variante sólida. Dentro de las características clínicas del carcinoma de tiroides asociadas con RET/PTC se encuentran edad de presentación más temprana, Histología clásica, Alta tasa de presencia de ganglios y pronóstico más favorable.(17).

### **14. MUTACION RAS.**

Familia de genes codifican proteínas G en el interior de la células su función es la propagación de señales desde receptores tirosina quinasa. La mutación RAS se encuentran en todos los tipos de tumores tiroideos de células foliculares y en el carcinoma papilar entre un 10-20% Todos los carcinomas papilares de variante folicular tienen una mutación RAS como alteración genética y en 20-40% esta mutación presente en el adenoma folicular, dentro de las características clínicas encontradas en el carcinoma tiroideo asociado a mutación RAS encontramos un pronóstico favorable, presencia de formas encapsuladas y mayor comportamiento metastásico óseo, sin embargo los estudios muestran que no tiene utilidad como marcador de pronóstico y su uso es mas como predictor de malignidad en muestras de ACAF con un valor predictivo positivo de 74-88% (17).

### **15. MUTACION PAX8/PPARc**

Resulta de la translocación t(2;3)(q13;p25), esta mutación conduce a una fusión entre PAX8 y PPARc que produce una sobreexpresión de la proteína producida por PPARc que conduce a un aumento en la proliferación celular, se encuentra en un 30-40% de los carcinomas foliculares de tipo convencional, 38% de la variedad folicular del carcinoma papilar y en un 2-13% adenoma folicular. Las características clínicas que predominan en los tumores con esta mutación son la presentación en edad joven, presencia de tumores de tamaño pequeño pero con invasión vascular,

dentro de la utilidad como estudio molecular, la presencia de esta mutación no es diagnóstica de carcinoma pero si es sospechosa para búsqueda de malignidad. (17).

## 16. MUTACION BRAF V600E

El protooncogén *BRAF* se localiza en el locus 7q24, tiene una extensión de 190.753 pares de bases, 18 exones, un transcripto de mRNA de 2949 pares de bases, Codifica para la proteína B-RAF, que es una quinasa de serina/treonina, perteneciente a la familia de las RAF kinasas, y se expresa en todos los tipos celulares (18).

La proteína B RAF es la isoforma más frecuentemente encontrada en las células foliculares tiroideas. Esta proteína es la que activa con mayor potencia la vía de señalización de la proteína quinasa (MAPK)(19). B RAF es una proteína de 766 aminoácidos, con un peso molecular de 84.437 kDa, y comparte tres regiones conservadas (CR) con las demás RAF kinasas. CR1 está compuesto de un dominio ligado a RAS, y un dominio rico en cisteína, que puede ligar dos iones de zinc. Tiene interacción con RAS y con los fosfolípidos de membrana. CR2 es un dominio rico en serina/treonina y contiene un sitio que cuando es fosforilado, puede ligarse a una proteína reguladora 14-3-3, cuya función es inhibitoria de la actividad de RAF. CR3 es el dominio proteína quinasa, y se localiza cerca a la terminación C.(20) Es también el sitio de unión de ATP, y contiene múltiples sitios de fosforilación, siendo los más importantes T598 y S601, los cuales al ser fosforilados al mismo tiempo, activan la proteína dentro de la cascada de activación de la MAPK.(21)

La activación de B RAF dentro de la vía MAPK comprende los siguientes eventos:

1. Reclutamiento en la membrana plasmática mediado por su interacción con RAS.
2. Dimerización de las proteínas RAF.
3. Fosforilación y desfosforilación de diferentes dominios.
4. Disociación de la proteína inhibidora RAF quinasa (RKIP)
5. Asociación con complejos proteicos *scaffold* (KSR, quinasa supresora de RAS). (22)

Dentro del proceso de activación, se produce la fosforilación de la treonina 599 y la serina 602, paso esencial en la activación de B RAF. Mientras que A RAF y C RAF requieren fosforilaciones adicionales en la región N-terminal, esta región en B RAF contiene aspartato en las posiciones 448 y 449, que aportan carga negativa. La serina en la posición 446 se encuentra fosforilada de forma constitutiva, lo que hace que B RAF no requiera modificaciones adicionales durante el proceso de activación, y hacen que B RAF sea más activa que las otras dos proteínas RAF. (23).

En el cáncer de tiroides, BRAF se activa por mutaciones puntuales con pequeñas deleciones, inserciones o por reorganización cromosómica. El mecanismo más común de activación es una mutación puntual que implica el cambio de una timina por adenosina en la posición nucleotídica 1799, que resulta en una sustitución de valina-a-glutamato en el residuo 600 (Val600Glu) .(24) Esta mutación BRAF constituye 98-99% de todas las mutaciones BRAF se encuentran en el cáncer de tiroides. Esta es la alteración genética más frecuente en el cáncer papilar de tiroides, se encuentra en el 40-45% de este tipo de tumor . (25) La mutación también se produce en el 20-40% de los carcinomas de tiroides pobremente diferenciados y 30-40% de los carcinomas anaplásicos.(26) Muchos de estos carcinomas también revelan áreas de cáncer papilar bien diferenciado, y BRAF Val600Glu está presente en ambos componentes del tumor, lo que sugiere que esta mutación es un evento temprano que predispone a la desdiferenciación del tumor. En el cáncer papilar de tiroides, la sustitución BRAF Val600Glu se encuentra típicamente en los tumores con histología papilar clásico y la histología de células de alta, y es rara las otras variantes. (25).



## **17. MUTACION DE BRAF CON CARACTERISTICAS CLINICO PATOLOGICAS DE ALTO RIESGO EN CARCINOMA PAPILAR DE TIROIDES.**

Diferentes investigaciones han mostrado la relación de la presencia de la mutación BRAF con ciertas características clínico patológicas, sin embargo no todos los resultados son consistentes. Dentro de estos estudios Nikiforova (27) muestra un serie de casos en población americana asociando la presencia de BRAF con enfermedad avanzada estadio III y IV, en Japón Namba también describe una serie de casos de asociación de BRAF y estadios avanzados de enfermedad (28) en Korea se reporta la presencia de la mutación con presencia de metástasis en nódulos cervicales e invasión extratiroidea al igual que lo mostro Jin en el estudio en la mayo clinic (29). Varios estudios han mostrado la presencia de la mutación en los nódulos linfáticos sin que esta se encuentre en el tumor primario lo cual indica que la mutación se produce de novo en las células metastasicas . (30). Se encuentra en conclusión asociación de BRAF con la presencia de invasión extratiroidea , presencia de nódulos metastasicos y enfermedades estadios III y IV .

Además de estas características clínicas la presencia de BRAF se ha asociado con la presencia de recurrencia de enfermedad en el carcinoma papilar de tiroides, el primer estudio al respecto lo realiza Xing con 219 pacientes analizándolos de manera retrospectiva en la relación con la presencia de BRAF y la presencia de recurrencia demostrando recurrencia con una mediana de 15 meses con odss radio de 4.0 (95%CI, 1.1-14.1; p=0.03). Otra serie de casos en un estudio Coreano de KIM (31) demostró la asociación de BRAF y recurrencia en una serie de 203 pacientes con carcinoma papilar de tiroides convencional.

Otra característica asociada a la presencia de BRAF en la perdida de la avidéz por el yodo en carcinoma papilar recurrente, está perdida está asociada con incremento en la morbilidad y mortalidad .

Todas esta características demuestran la utilidad de conocer la presencia de la mutación BRAF en este tipo de pacientes ya que no solo tiene utilidad en el diagnostico sino que además da una pauta sobre conductas quirúrgicas mas agresivas, posibilidad de requerir dosis más alta de yodo y un seguimiento estricto a los paciente que presentan esta mutación asociada al carcinoma papilar de tiroides.

## **18. DETECCION DE LA MUTACION BRAF COMO POTENCIAL AYUDA EN EL DIAGNOSTICO , ESTRATIFICACION Y MANEJO.**

Dentro de los posible beneficios de la detección de la mutación BAF V600E en mejorara el rendimiento diagnostico los ACAF de tiroides, para esto se han realizado estudios en busca de confirmar dicha teoría .

En Corea se realizó estudio de relación entre las características ecográfica y la presencia de la mutación BRAF V600E. De 244 nódulos, 66 fueron tenían hallazgos sugestivos por ecografía y 178 no las tenían. La tasa de malignidad fue del 92% (61/66) para las presencia de hallazgos y 14% (25 = 178) con hallazgos negativos. La mutación BRAFV600E se identificó en 67% (44 = 66) de las ecografías con hallazgos positivos y en el 10% (17 = 178) de las negativos. La mutación BRAFV600E de nódulos con citología indeterminada estaba presente en el 45% (5 = 11) de los casos con hallazgos positivos y en un 8% (2 = 26) negativos ( $p=0.0168$ ). Todos los nódulos con la mutación fueron confirmados quirúrgicamente como carcinomas papilares. Concluye el estudio que agregar el análisis genético en el ACAF en comparación con esta sola mejora únicamente la sensibilidad y la precisión en nódulos con hallazgos positivos, mientras que no hubo mejoría significativa en la precisión diagnóstica de los nódulos sin hallazgos malignos. (32).

Figura 2 .

TABLE 3. PERFORMANCE CHARACTERISTICS OF FINE-NEEDLE ASPIRATION AND BRAF<sup>V600E</sup> MUTATION TEST FOR DIAGNOSIS OF MALIGNANCY IN FINE-NEEDLE ASPIRATION SAMPLES FROM THYROID NODULES

	FNA	FNA and BRAF <sup>V600E</sup>	p-Value
Sensitivity	79.1%	88.4%	0.0047
Specificity	100.0%	100.0%	—
PPV	100.0%	100.0%	—
NPV	89.8%	94.1%	0.0058
Accuracy	92.6%	95.9%	0.0047

Nam SY, Han B,1 Young Ko, BRAF V600E Mutation Analysis of Thyroid Nodules Needle Aspirates in Relation to Their Ultrasonographic Classification: A Potential Guide for Selection of Samples for Molecular Analysis. THYROID Volume 20, Number 3, 2010.

Otro estudio realizado en Pisa, Italia busco describir como la presencia de la mutación BRAF es factor de pobre pronóstico en paciente que se consideran de bajo riesgo para esto seleccionaron 319 pacientes con un tumor intratiroideo y sin presencia de metástasis (T1-T2, N0, M0). La mutación BRAFV600E se analizó por PCR y secuenciación genómica directa. La correlación entre la presencia / ausencia de la mutación, las características clínico-patológicas, y el resultado de los pacientes con carcinoma papilar de tiroides fue el objetivo. La mutación BRAFV600E estaba presente en 106 de 319 pacientes (33,2%). La mutación BRAFV600E se correlaciono con la presencia multifocalidad, variante agresiva, infiltración de la cápsula por tumor tumoral además que pacientes con BRAFV600E mutado requiere una mayor dosis de yodo radioactivo para lograr quedar libres de enfermedad. Con este estudio se concluye que la mutación BRAFV600E es un factor de mal pronóstico para la persistencia de la enfermedad independiente de otras características

clínico-patológicas de bajo riesgo intratiroideo en paciente con carcinoma papilar de tiroides, lo que serviría para distinguir a los que requieren menos tratamientos agresivos incluso la no utilización de yodo de los que necesitarían manejo agresivo con todos sus componentes y seguimiento estricto a estos pacientes. (33).

Recientemente en estudio realizado en china en busca de la relación entre la presencia de la mutación y características clínicas analizaron 182 pacientes (132 carcinomas de tiroides papilar convencionales y 50 bocio). Realizan el genotipo de BRAFV600E por pirosecuenciación relacionándola características clínico-patológicas en los carcinomas papilares de tiroides. Encuentran 80 (60,61%) de los carcinomas papilares de tiroides con la presencia de la mutación mutación BRAFV600E en una gama de 7,7% a 46,3% de los alelos totales BRAF. La presencia de la mutación BRAFV600E se asoció significativamente con la invasión extratiroidea. No hubo diferencia significativa entre la presencia de la mutación BRAFV600E y otras características clínico-patológicas. Concluyen que la presencia de BRAFV600E podría ser una buena predicción de invasión extratiroidea previa a la cirugía.

En conclusión la realización de la Mutación BRAF v600E es una herramienta que podría ser útil en la evaluación de los pacientes con nódulo tiroideo no solo para el aumento en la sensibilidad y especificidad en al diagnostico de carcinoma de tiroides si no que también puede ayudar a establecer el pronóstico y la necesidad de realizar tratamientos más agresivos a fin de disminuir la persistencia y recidiva de la enfermedad. (34).

**BIBLIOGRAFIA**

1. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer*. 2001;94(2):153-6.
2. Colombia, Ministerio de la Protección Social, Instituto Nacional de Cancerología. Anuario Estadístico 2005. Bogotá: Ministerio de la Protección Social, Instituto Nacional de Cancerología; 2006.
3. Correa P, Castro S. Survey of pathology of thyroid glands from Cali, Colombia - A goiter area. *Lab Invest* 10:39-50, Jan-Feb 19614. <sup>1</sup>Pagedar, N. Chen D., Wasman J. et al. Classification of Thyroid Nodules by Cytology. *Laryngoscope* 118: April 2008
5. S.Lee, SKim, C Ki, J.Jang, J. Shin, Y. Lyun Oh, J. Kim, and J.Chung 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*, July 2012, 97(7):0000–0000
6. Tuttle, R. M., Leboeuf, R. & Martorella, A. J. Papillary thyroid cancer: monitoring and therapy. *Endocrinology and metabolism clinics of North America* 36, 753–78, vii (2007).
7. Giusti, F. *et al.* Thyroid cancer: current molecular perspectives. *Journal of oncology* 2010, 351679 (2010)
8. Melmed, S., Polonski, K., Larsen, R. & Kronenberg, H. *Williams Textbook of Endocrinology. BMJ (Clinical research ed.)* 308, 1512 (Elsevier Saunders: Philadelphia, PA, 2011).
9. Chung, K. *et al.* Detection of BRAFV600E mutation on fine needle aspiration specimens of thyroid nodule refines cyto-pathology diagnosis, especially in BRAF600E mutation-prevalent area. *Clinical endocrinology* 65, 660–6 (2006).
10. Gardner D, Shoback D, Greenspan's Basic & Clinical Endocrinology. eighth edition, 2007 by The McGraw-Hill Companies,.
11. Tan GH, Gharib H, Reading CC. Solitary thyroid nodule: comparison between palpation and ultrasonography. *Arch Intern Med* 1995;155:2418–23.
12. Guth S, Theune U, Aberle J, et al. Very high prevalence of thyroid nodules detected by high frequency (13 MHz) ultrasound examination. *Eur J Clin Invest* 2009;39(8):699–706.
13. Wang C, Crapo LM. The epidemiology of thyroid disease and implications for

screening. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1997;26(1):189–218.

14. Matthew C. Miller. The Patient with a Thyroid Nodule. *Med Clin N Am* 94 (2010) 1003–1015.
15. Escalona Veloz, Rafael . Fine needle aspiration biopsy for the diagnosis of tumors in pathology. *MEDISAN* 2012; 16(2): 247
- 16 Adeniran, A. J. *et al.* Correlation between genetic alterations and microscopic features, clinical manifestations, and prognostic characteristics of thyroid papillary carcinomas. *Am. J. Surg. Pathol.* 30, 216–222 (2006).
17. Nikiforov y, Molecular Diagnostics of Thyroid Tumors. *Arch Pathol Lab Med—Vol 135*, May 2011.
18. Puxeddu, E., Durante, C., Avenia, N., Filetti, S. & Russo, D. Clinical implications of BRAF mutation in thyroid carcinoma. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM* 19, 138–45 (2008).
19. Cassol, C. A. & Asa, S. L. Molecular pathology of thyroid cancer. *Diagnostic Histopathology* 17, 124–139 (2011).
20. Roskoski, R. RAF protein-serine/threonine kinases: structure and regulation. *Biochemical and biophysical research communications* 399, 313–7 (2010).
21. Huang, Z. & Wu, Y. [Mutation of the BRAF genes in non-small cell lung cancer]. *Zhongguo fei ai za zhi = Chinese journal of lung cancer* 15, 183–6 (2012)
22. McCubrey, J. a *et al.* Roles of the Raf/MEK/ERK pathway in cell growth, malignant transformation and drug resistance. *Biochimica et biophysica acta* 1773, 1263–84 (2007).
23. McCubrey, J. a *et al.* Roles of the RAF/MEK/ERK and PI3K/PTEN/AKT pathways in malignant transformation and drug resistance. *Advances in enzyme regulation* 46, 249–79 (2006).
- 24 Cohen, Y. *et al.* BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma. *J. Natl Cancer Inst.* 95, 625–627 (2003).
25. Xing, M. BRAF mutation in thyroid cancer. *Endocr. Relat. Cancer* 12, 245–262 (2005).
26. Ricarte-Filho, J. C. *et al.* Mutational profile of advanced primary and metastatic radioactive iodine-refractory thyroid cancers reveals distinct pathogenetic roles for BRAF, PIK3CA, and AKT1. *Cancer Res.* 69, 4885–4893 (2009).
- 27 Nikiforova MN, Kimura ET, Gandhi M, Biddinger PW, Knauf JA, Basolo F, Zhu Z, Giannini R, Salvatore G, Fusco A, Santoro M, Fagin JA, Nikiforov YE 2003 BRAF mutations in thyroid tumors are restricted to papillary carcinomas and anaplastic or poorly differentiated carcinomas arising from papillary carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 88:5399–5404
28. Namba H, Nakashima M, Hayashi T, Hayashida N, Maeda S, Rogounovitch TI, Ohtsuru A, Saenko VA, Kanematsu T, Yamashita S 2003 Clinical implication of hot spot BRAF mutation, V599E, in papillary thyroid cancers. *J Clin Endocrinol Metab* 88:

4393–4397

29. Jin L, Sebo TJ, Nakamura N, Qian X, Oliveira A, Majerus JA, Johnson MR, Lloyd RV 2006 BRAF mutation analysis in fine needle aspiration (FNA) cytology of the thyroid. *Diagn Mol Pathol* 15:136–143

30. Rodolico V, Cabibi D, Pizzolanti G, Richiusa P, Gebbia N, Martorana A, Russo A, Amato MC, Galluzzo A, Giordano C 2007  
BRAF(V600E) mutation and p27(kip1) expression in papillary carcinomas of the thyroid  $\leq$  1 cm and their paired lymph node metastases.  
*Cancer* 110:1218–1226

31. Kim TY, Kim WB, Rhee YS, Song JY, Kim JM, Gong G, Lee S, Kim SY, Kim SC, Hong SJ, Shong YK 2006 The BRAF mutation is useful for prediction of clinical recurrence in low-risk patients with conventional papillary thyroid carcinoma. *Clin Endocrinol (Oxf)* 65: 364–368.

32. Nam SY, Han B, Young Ko, BRAF V600E Mutation Analysis of Thyroid Nodules Needle Aspirates in Relation to Their Ultrasonographic Classification: A Potential Guide for Selection of Samples for Molecular Analysis. *THYROID* Volume 20, Number 3, 2010.

33. Elisei R, Viola D, Torregrossa L The BRAF V600E Mutation Is an Independent, Poor Prognostic Factor for the Outcome of Patients with Low-Risk Intrathyroid Papillary Thyroid Carcinoma: Single-Institution Results from a Large Cohort Study *J Clin Endocrinol Metab*, December 2012, 97(12):4390–4398.

34. Shu Liu, Bingfei Zhang, Yanru Zhao, Pu Chen, Meiju Ji, Peng Hou, Bingyin Shi Association of BRAF<sup>V600E</sup> mutation with clinicopathological features of papillary thyroid carcinoma: a study on a Chinese population. *Int J Clin Exp Pathol* 2014;7(10):6922-6928