



UNIVERSIDAD  
**NACIONAL**  
DE COLOMBIA

# **PRESENCIA DE LA MUTACIÓN BRAF V600E Y EL SIMPORTER YODO- SODIO EN NIÑOS CON CARCINOMA PAPILAR DE TIROIDES**

**Esteban Felipe Patiño Calderón**

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Medicina, Departamento de Patología  
Bogotá, Colombia  
2017

# **PRESENCIA DE LA MUTACIÓN BRAF V600E Y EL SIMPORTER YODO- SODIO EN NIÑOS CON CARCINOMA PAPILAR DE TIROIDES**

Esteban Felipe Patiño Calderón

Trabajo de Grado presentado como requisito para optar al título de:  
**Patólogo Anatómico y Clínico**

Director:

Dra. Natalia Olaya

Profesora Asociada, Universidad Nacional de Colombia

Codirector:

Dra. Lina Jaramillo Barbieri

Profesor Titular, Universidad Nacional de Colombia

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Medicina, Departamento de Patología  
Bogotá, Colombia

2017



A la Doctora Lina Jaramillo Barbieri por siempre creer en mí y por mostrarme que los profesores de verdad todavía existen.

A la Doctora Natalia Olaya, porque más que una profesora se convirtió en mi amiga.

## Resumen

El carcinoma de tiroides es la neoplasia endocrina más frecuente, con una incidencia de 9 a 12/100.000 individuos por año, y con una mortalidad de 0.4 – 2.8/100.000 en mujeres y de 0.2-1.2/100.000 en hombres. El tipo histológico más frecuente es el papilar, que es derivado de células epiteliales tiroideas, y se encuentra en el 80% a 90% de los casos de carcinoma bien diferenciado de tiroides. Para el año 2004, la incidencia anual en niños fue de 0.54 por 100000 habitantes, con una incidencia de 0.89 por 100000 mujeres y 0.2 por 100000 hombres, con predominio en adolescentes y en la raza blanca.

En adultos el subtipo más común fue el carcinoma papilar variante clásica (60%) seguido de carcinoma papilar variante folicular (23%) carcinoma folicular (9.5%) y medular (5%). La edad media de diagnóstico en niños es 16 años. Al igual que en la población adulta, el cáncer tiroideo en los niños predomina en el género femenino. Del mismo modo, los subtipos más comunes en la infancia son semejantes a los encontrados en los adultos, siendo en su orden el carcinoma papilar variante clásica y el carcinoma papilar variante folicular los dos subtipos más comúnmente encontrados. Al momento del diagnóstico, los niños son más propensos a presentar enfermedad avanzada, con compromiso ganglionar y metastásico. A pesar de esto, los pacientes que desarrollan cáncer de tiroides en la infancia tienen una sobrevida de más de 30 años. El manejo para el carcinoma tiroideo se basa en tiroidectomía radical para el carcinoma medular y tiroidectomía total/lobectomía más yodo/radioterapia terapia en pacientes con carcinoma papilar. La tiroidectomía en manos expertas es un procedimiento seguro, pero las complicaciones de esta cirugía son significativas.

El abordaje inicial de los pacientes con carcinoma papilar se realiza mediante la biopsia aspiración con aguja fina (ACAF). Hasta el 15% de las lecturas de citología son reportadas como Atipias de significado indeterminado o lesión folicular de significado indeterminado, las cuales tienen un potencial maligno del 5% al 20%. Estos pacientes suelen ser observados, y se les realiza un nuevo ACAF en tiempo prudencial, o son llevados a cirugía en caso de presentar factores de riesgo.

Por ello, los esfuerzos en la investigación de la patología molecular y el tratamiento del carcinoma de tiroides se han enfocado en desarrollar nuevas técnicas de detección de cáncer tiroideo, como son el uso de marcadores moleculares en inmunohistoquímica, y la detección de mutaciones frecuentemente asociadas con carcinoma de tiroides, como es la mutación BRAFV600E.

La mutación BRAFV600E es la más frecuentemente asociada con carcinoma papilar de tiroides, encontrándose en el 60% de los casos, y en la variante papilar

de células altas hasta en el 80% de los casos. Se asocia con factores de mal pronóstico, como extensión a nódulos linfáticos y a tejidos extratiroideos, mayor riesgo de recurrencia, y baja captación de yodo radiactivo.

Los estudios publicados en nuestro medio generalmente se basan en estudios de población adulta, sin tener real certeza si esta patología se comporta de igual manera en la población pediátrica, por lo anterior, se hace necesario conocer la frecuencia de la mutación BRAFV600E en niños y su correlación con la clínica y aspectos histopatológicos

**Palabras clave:** Carcinoma papilar, inmunohistoquímica, BRAFV600E, NIS, Simporter.

## Abstract

Papillary thyroid carcinoma is rare in children. It is more clinically aggressive, since it usually presents extension to the neck ganglia and metastasis. In adults, and Hispanic children, the most common mutation is BRAFV600E, which affects the response to iodine through the expression of the sodium / iodine symporter. Early exposure to radiation, on the other hand, is associated with the RET / PTC rearrangement. In children, the treatment is controversial and iodine is not routinely used.

We present a series of pediatric cases of papillary thyroid carcinoma, in which risk factors, BRAFV600E mutation and sodium / iodine symporter were evaluated. All cases of children with papillary thyroid carcinoma submitted to thyroidectomy were taken at the Hospital de la Misericordia-Bogotá Foundation, between 2010 and 2016. Clinical and histological characteristics are described. The BRAFV600E mutation was searched by RT-PCR and the symporter expression of sodium / iodine by immunohistochemistry. We evaluated 12 cases, 2 children and 10 girls, with an average age of 10 years at diagnosis and no history of exposure to radiation was found. A case with a mutation was found for the BRAFV600 gene, associated with pulmonary metastases.

The sodium / iodine symporter was expressed in 8/12 cases. All patients had histological risk factors. In conclusion, the BRAFV600E mutation is not prevalent in our series, unlike the iodine / sodium symporter, whose extended expression could be related to an exquisite sensitivity to iodine.

**Keywords:** Papillary carcinoma, immunohistochemistry, iodine/sodium symporter, BRAFV600E





# Contenido

# Contenido

## Introducción

1. **Capítulo 1 – Generalidades**
  - 1.1 **Epidemiología y factores de riesgo**
  - 1.2 **Factores hormonales y reproductivos**
  - 1.3 **Síndromes genéticos**
2. **Capítulo 2 – Patología molecular del carcinoma de tiroides**
  - 2.1 **Reordenamiento RET/PTC**
  - 2.2 **BRAF V600E**
  - 2.3 **Mutación PAX8/PPARC**
  - 2.4 **Mutación RAS**
3. **Capítulo 3 – Factores pronósticos**
4. **Capítulo 4 – Sobrevida**
5. **Capítulo 5 – Metástasis y diseminación**
6. **Capítulo 6 – Variantes del carcinoma papilar**
  - 6.1 **Microcarcinomas**
  - 6.2 **Variante folicular**
    - 6.2.1 **Variante folicular encapsulada**
    - 6.2.2 **Variante macrofolicular**
  - 6.3 **Variante sólida**
  - 6.4 **Variante difusa esclerosante**
  - 6.5 **Variante difusa multinodular**
  - 6.6 **Variante oncocítica**
  - 6.7 **Variante de célula alta**
  - 6.8 **Variante de célula columnar**
  - 6.9 **Variante cribiforme**
7. **Metodología**
  - 7.1 **Objetivo general**
  - 7.2 **Objetivos específicos**
  - 7.3 **Selección de pacientes**
  - 7.4 **Criterios de inclusión**
  - 7.5 **Registro de pacientes**
  - 7.6 **Extracción de ADN**
  - 7.7 **Detección de la mutación BRAFV600E mediante PCR en tiempo real**
  - 7.8 **Inmunohistoquímica para NIS**
8. **Consideraciones éticas**
9. **Resultados**



# 1. Introducción

El carcinoma de tiroides es la neoplasia endocrina más frecuente, con una incidencia de 9 a 12/100.000 individuos por año, y con una mortalidad de 0.4 – 2.8/100.000 en mujeres y de 0.2-1.2/100.000 en hombres. El tipo histológico más frecuente es el papilar, que es derivado de células epiteliales tiroideas, y se encuentra en el 80% a 90% de los casos de carcinoma bien diferenciado de tiroides. Para el año 2004, la incidencia anual en niños fue de 0.54 por 100000 habitantes, con una incidencia de 0.89 por 100000 mujeres y 0.2 por 100000 hombres, con predominio en adolescentes y en la raza blanca.

En adultos el subtipo más común fue el carcinoma papilar variante clásica (60%) seguido de carcinoma papilar variante folicular (23%) carcinoma folicular (9.5%) y medular (5%). La edad media de diagnóstico en niños es 16 años. Al igual que en la población adulta, el cáncer tiroideo en los niños predomina en el género femenino. Del mismo modo, los subtipos más comunes en la infancia son semejantes a los encontrados en los adultos, siendo en su orden el carcinoma papilar variante clásica y el carcinoma papilar variante folicular los dos subtipos más comúnmente encontrados. Al momento del diagnóstico, los niños son más propensos a presentar enfermedad avanzada, con compromiso ganglionar y metastásico. A pesar de esto, los pacientes que desarrollan cáncer de tiroides en la infancia tienen una supervivencia de más de 30 años. El manejo para el carcinoma tiroideo se basa en tiroidectomía radical para el carcinoma medular y tiroidectomía total/lobectomía más yodo/radioterapia terapia en pacientes con carcinoma papilar. La tiroidectomía en manos expertas es un procedimiento seguro, pero las complicaciones de esta cirugía son significativas.

El abordaje inicial de los pacientes con carcinoma papilar se realiza mediante la biopsia aspiración con aguja fina (ACAF). Hasta el 15% de las lecturas de citología son reportadas como Atipias de significado indeterminado o lesión folicular de significado indeterminado, las cuales tienen un potencial maligno del 5% al 20%. Estos pacientes suelen ser observados, y se les realiza un nuevo ACAF en tiempo prudencial, o son llevados a cirugía en caso de presentar factores de riesgo.

Por ello, los esfuerzos en la investigación de la patología molecular y el tratamiento del carcinoma de tiroides se han enfocado en desarrollar nuevas técnicas de detección de cáncer tiroideo, como son el uso de marcadores moleculares en inmunohistoquímica, y la detección de mutaciones frecuentemente asociadas con carcinoma de tiroides, como es la mutación BRAFV600E.

La mutación BRAFV600E es la más frecuentemente asociada con carcinoma papilar de tiroides, encontrándose en el 60% de los casos, y en la variante papilar

de células altas hasta en el 80% de los casos. Se asocia con factores de mal pronóstico, como extensión a nódulos linfáticos y a tejidos extratiroideos, mayor riesgo de recurrencia, y baja captación de yodo radiactivo.

Los estudios publicados en nuestro medio generalmente se basan en estudios de población adulta, sin tener real certeza si esta patología se comporta de igual manera en la población pediátrica, por lo anterior, se hace necesario conocer la frecuencia de la mutación BRAFV600E en niños y su correlación con la clínica y aspectos histopatológicos

# 1.Marco teórico

## 1.1 Epidemiología y factores de riesgo

El carcinoma de tiroides es la neoplasia maligna más frecuente encontrada en la consulta de endocrinología. En el mundo se estiman 300.000 casos/año de carcinoma de tiroides y es la octava neoplasia más común en mujeres. Según un reporte de la *American Cancer Society*, en las mujeres de habla hispana, el carcinoma de tiroides es la segunda neoplasia más diagnosticada, con una incidencia de 17.2 casos por 100.000 habitantes. Se estima que 6000 nuevos casos de carcinoma de tiroides se diagnostican anualmente en Estados Unidos, por encima de los 5300 nuevos casos de carcinoma colorectal, los 5100 casos nuevos de carcinoma de cuello uterino y los 4600 de carcinoma bronquial. 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 se diagnosticaron en el Instituto Nacional de Cancerología 1.145 casos nuevos, siendo el carcinoma papilar el más frecuente con 88% de los casos.

El número de casos de cáncer de tiroides diagnosticados se ha incrementado debido a la aparición de herramientas diagnósticas cada vez más sensibles como la tomografía computarizada, la resonancia nuclear magnética, el PET SCAN, y los marcadores bioquímicos. El uso de estas herramientas ha llevado al aumento en la detección de todo tipo de neoplasias. En cuanto a la tiroides, el uso de la ultrasonografía y la citología han aumentado la detección de un número mayor de tumores asintomáticos y pequeños. El ultrasonido, ha permitido la detección de pequeños nódulos tiroideos que no habrían sido diagnosticados en la práctica clínica (sólo el 40% de los nódulos tiroideos con diámetro inferior a 1,5 cm se descubren durante un examen físico). Los nódulos tiroideos tienen una gran incidencia en la población afectando hasta el 50% de los adultos mayores. Finalmente, la recomendación actual de realizar resecciones quirúrgicas ampliadas (tiroidectomía total o subtotal) para las enfermedades no malignas de la tiroides, ha permitido también el descubrimiento incidental de tumores tiroideos en el examen histopatológico. Estudios observacionales han mostrado que la mayoría de las neoplasias tiroideas miden menos de 2 cm de diámetro al momento del diagnóstico.

Sin embargo, parece que el aumento en la incidencia de neoplasias tiroideas no puede explicarse solo por la implementación de nuevos equipos y la utilización de mejores técnicas diagnósticas. Estudios observacionales de España y Estados Unidos han mostrado que la incidencia de tumores tiroideos se ha visto

incrementada casi exclusivamente para carcinoma papilar, pero que la detección de microcarcinomas y tumores de mayor tamaño no ha aumentado, lo que va en contradicción con señalar a los métodos de detección mejorados como el factor determinante, ya que, si fuera así, se aumentaría la incidencia de todos los tipos de lesiones.

El pico de incidencia para el diagnóstico está entre la 5ta y 6ta de la vida, con una edad promedio de 51 años. En pediatría, el carcinoma de tiroides es una neoplasia relativamente rara. Para el año 2004, la incidencia anual en niños fue de 0.54 por 100000 habitantes, con una incidencia de 0.89 por 100000 mujeres y 0.2 por 100000 hombres, con predominio en adolescentes y en la raza blanca.

En adultos el subtipo más común fue el carcinoma papilar variante clásica (60%) seguido de carcinoma papilar variante folicular (23%) carcinoma folicular (9.5%) y medular (5%). La edad media de diagnóstico en niños es 16 años, lo que puede atribuirse a una exposición a edad temprana a radiación, teniendo en cuenta que el periodo de latencia entre exposición a radiación y aparición de neoplasia es de 8.5 años. Al igual que en la población adulta, el cáncer tiroideo en los niños predomina en el género femenino lo que corrobora la sensibilidad de la glándula tiroides a los estrógenos. Del mismo modo, los subtipos más comunes en la infancia son semejantes a los encontrados en los adultos, siendo en su orden el carcinoma papilar variante clásica y el carcinoma papilar variante folicular los dos subtipos más comúnmente encontrados. Al momento del diagnóstico, los niños son más propensos a presentar enfermedad avanzada, con compromiso ganglionar y metastásico. A pesar de esto, los pacientes que desarrollan cáncer de tiroides en la infancia tienen una supervivencia de más de 30 años. El manejo para el carcinoma tiroideo se basa en tiroidectomía radical para el carcinoma medular y tiroidectomía total/lobectomía más yodo terapia en pacientes con carcinoma papilar y folicular.

## **1.2 Factores de riesgo**

Se han encontrado diferentes factores de riesgo que pueden contribuir al aumento de la incidencia de las neoplasias tiroideas. Durante los últimos 25 años, en Estados Unidos la exposición individual a la radiación se ha incrementado el doble, pasando de 3 mSv/año a 6 mSv/año. Este incremento se debe principalmente a los procedimientos médicos y odontológicos (rayos X) y el incremento del uso de la tomografía computarizada. Más del 50% de la radiación proveniente de cualquier tomografía computarizada es absorbida por el paciente, dando una dosis acumulativa de 50 - 60 mGy, triplicando el riesgo de desarrollar leucemia y tumores del sistema nervioso central.

La tiroides infantil es muy sensible a la radiación. Los niños expuestos a radiación ionizante frecuentemente desarrollan carcinoma papilar de tiroides como lo

demuestra el accidente de Chernóbil. La población infantil con historia de radioterapia para el manejo de tumores, especialmente linfoma Hodgkin, leucemia y tumores del sistema nervioso central tiene alto riesgo de desarrollar carcinoma de tiroides. Las neoplasias secundarias al tratamiento generalmente se desarrollan aproximadamente a los 10 años siguientes de la primera neoplasia y el riesgo de desarrollar malignidades secundarias a la radiación se mantiene por 20 años más.

### **1.3 Factores hormonales y reproductivos**

El carcinoma de tiroides es más común en mujeres que en hombres. Los estudios sugieren que varios factores hormonales juegan un papel importante en el desarrollo de la enfermedad. Entre estos factores se encuentran la multiparidad, primer embarazo tardío, uso de anticonceptivos orales. Lee y colaboradores mostraron que el estradiol promueve la proliferación celular por medio del mejoramiento de la vía antiapoptótica en el carcinoma papilar de tiroides.

### **1.4 Síndromes genéticos**

El carcinoma papilar de tiroides se ha descrito en pacientes con poliposis adenomatosa familiar, el síndrome de Cowden, el síndrome de cáncer colorectal hereditario no polipósico, el síndrome de Peutz-Jeghers y la ataxia telangiectasia.



## **2. Patología molecular del carcinoma de tiroides**

### **2.1 Reordenamiento RET/PTC**

El proto-oncogen RET que codifica para receptor tirosina-quinasa, se encuentra localizado en el cromosoma 10q11.2 como un receptor de membrana tirosina quinasa. En la tiroides normal, RET se expresa solo en las células C y no en las células foliculares. Hasta el momento se han encontrado 11 tipos de rearrreglos relacionados con el carcinoma papilar de tiroides, siendo el rearrreglo RET/PTC 1 y RET/PTC 3 las formas más frecuentes de rearrreglos encontrados en carcinoma papilar de tiroides esporádico. La activación de RET/PTC lleva a una activación permanente de la vía de señalización MAPK.

La prevalencia del rearrreglo RET/PTC en carcinoma papilar de tiroides varía significativamente entre varias regiones geográficas. En Estados Unidos, la prevalencia de RET/PTC está entre el 11% y el 43%. En tumores esporádicos, RET/PTC1 es la forma más común de rearrreglo (60% - 70%) seguido de RET/PTC3 (20% - 30%). Estos rearrreglos no solo se encuentran en carcinoma de tiroides, se han encontrado además en patologías benignas como el adenoma trabecular hialinizante, la tiroiditis de Hashimoto, en nódulos hiperplásicos y en el adenoma folicular. La asociación de carcinoma papilar de tiroides y la tiroiditis de Hashimoto es controversial, ya que mientras algunos autores sugieren que hay algún tipo de asociación entre las dos entidades, otros sugieren que coexisten debido a que ambas son entidades muy comunes.

### **2.2 BRAF V600E**

El proto-oncogén 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 quinasas, y se expresa en todos los tipos celulares. 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 MAPK. 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 quinasas.

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

tiamina por adenosina en la posición 1799, que resulta en una sustitución de valina-a-glutamato en el residuo 600 (Val600Glu). 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. La mutación también se encuentra en el 20-40% de los carcinomas de tiroides pobremente diferenciados y 30-40% de los carcinomas anaplásicos.

## **2.3 Mutación 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, 11 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.

## **2.4 Mutación RAS**

Familia de genes codifican proteínas G en el interior de las 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 más como predictor de malignidad en muestras de ACAF con un valor predictivo positivo de 74- 88%.

### **3. Factores Pronósticos**

El desenlace de los pacientes con carcinoma papilar de tiroides en general es muy bueno, casi comparable con la población general, sin embargo, hay unas variables que pueden empeorar su pronóstico; entre ellos se incluyen la edad, ya que casi la mitad de las muertes relacionadas a carcinoma papilar de tiroides se dan en pacientes mayores de 40 años. En cuanto al género, los pacientes de sexo masculino tienen peor desenlace que las mujeres. El tamaño tumoral tiene una relación inversamente proporcional con el pronóstico y la presencia de cápsula es factor de buen pronóstico, incluso se ha visto que estos pacientes tienen una sobrevida igual a la población general. En niños y adolescentes, a pesar que el carcinoma papilar de tiroides tiene un comportamiento más agresivo, debutando con metástasis ganglionar y metástasis a distancia, la enfermedad tiene buen pronóstico comparado con los adultos.

Se ha encontrado que los pacientes con carcinoma papilar de tiroides que poseen la mutación BRAF tienen un curso clínico más agresivo (mayor extensión extra tiroidea y estadio clínico más avanzado). Además, la variante de carcinoma papilar de tiroides de célula alta (fenotipo agresivo) se ha asociado con una alta prevalencia de la mutación del BRAF.

### **3. Sobrevida**

Según datos del SEER la sobrevida a 5 años es superior al 98% en pacientes con carcinoma de tiroides. Cuando la lesión se encuentra confinada a la tiroides, la sobrevida a 5 años es mayor al 99% pero cuando hay metástasis a distancia la sobrevida a 5 años es aproximadamente del 55%; aunque en los niños, a pesar de tener metástasis a distancia, la sobrevida es similar a la de los pacientes adultos con enfermedad local.

## 4. Metástasis y diseminación

La extensión extra tiroidea a los tejidos blandos alrededor de la glándula se observa hasta en el 25% de los casos de carcinoma papilar de tiroides y puede igualmente comprometer la glándula paratiroides. La extensión a ganglios linfáticos regionales es común, sobre todo en pacientes en edad pediátrica y puede ser la primera manifestación de la enfermedad. La diseminación hematógena es rara y cuando se produce el órgano más frecuentemente comprometido es el pulmón; del mismo modo, se pueden afectar otros órganos como el sistema nervioso central y los huesos. Algunas series de casos reportan que la extensión extra tiroidea, el compromiso nodal regional, las metástasis a distancia y la recurrencia de la enfermedad en ganglio linfático tienen mayor prevalencia en niños. Un estudio de Bielorrusia que incluyó 740 niños encontró que ellos tienen mayor riesgo de enfermedad recurrente en ganglio linfático y metástasis pulmonares. Cabe resaltar que los cirujanos tienden a ser más conservadores en el vaciamiento ganglionar en niños que en adultos, lo cual puede explicar la recaída en este grupo etario.

## **5. Clasificación de los carcinomas de tiroides**

Los carcinomas de tiroides se pueden clasificar en tumores primarios y secundarios. Los secundarios o metastásicos son raros. La mayoría de los tumores primarios son epiteliales, originados en las células foliculares tiroideas. A este grupo pertenecen las tres neoplasias más comunes del tiroides que son el adenoma folicular y los carcinomas papilar y folicular. Los tumores pobremente diferenciados y anaplásicos, también originados de las células foliculares tiroideas, se cree que son el resultado de una desdiferenciación de un carcinoma papilar o un carcinoma folicular. Lo más probable es que muchos carcinomas tiroideos se den como resultado de la transformación de un adenoma folicular, mientras muchos otros simplemente debutan como carcinoma. El carcinoma medular se origina de las células paratiroides o células C.

### **6.1 Microcarcinomas**

El término se usa para definir un carcinoma papilar que se encuentra de manera incidental y mide al momento del diagnóstico menos de 1 centímetro de diámetro mayor. Su incidencia es muy alta, se reportan hasta en el 24% de los especímenes de autopsia y en tiroides que se resecan por otros motivos diferentes. Varios estudios han mostrado que microcarcinomas de tienen una sobrevida similar a la población normal

### **Variantes del carcinoma papilar**

El carcinoma papilar de tiroides se caracteriza por una proliferación de estructuras papilares revestidas por unas células de citoplasma eosinófilo y núcleo grande de contorno irregular. El núcleo suele tener cambios de aclaramiento nuclear en “vidrio esmerilado” dándole una apariencia característica, hendiduras nucleares y además se pueden encontrar pseudoinclusiones nucleares, que no son más que invaginaciones citoplasmáticas. Aunque se han descrito múltiples variantes histológicas del carcinoma papilar con base a la morfología de las células, al patrón de crecimiento, la presencia de cápsula y la reacción del estroma adyacente entre otras, todas deben cumplir con los criterios citológicos

previamente descritos. El tamaño y las variantes que se nombran a continuación, se correlacionan con mayor o menor riesgo para el paciente.

## **6.2 Variante folicular**

Es el carcinoma papilar cuyas células tienen los cambios nucleares característicos, pero que crece con un patrón folicular. Algunas características soportan el diagnóstico como son un patrón de crecimiento infiltrativo, bandas fibróticas, cuerpos de psammoma y presencia de coloide. Su comportamiento es similar al carcinoma papilar clásico, con metástasis a ganglios linfáticos regionales.

### **6.2.1 Variante folicular encapsulada**

Se define como el carcinoma papilar que está totalmente rodeado por una cápsula. Se puede asociar a metástasis a ganglios linfáticos regionales, pero la incidencia de metástasis a distancia es casi cero y la supervivencia igual a la de la población general.

### **6.2.2 Variante macrofolicular**

Esta variante se caracteriza porque puede simular una hiperplasia nodular, ya que se caracteriza por la formación de grandes folículos.

## **6.3 Variante sólida**

Esta variante, más común en niños, se caracteriza por la formación de nidos sólidos y redondeados que pueden verse como “folículos llenos” y se puede confundir con un carcinoma pobremente diferenciado o con un carcinoma insular, pero de nuevo, el diagnóstico se basa en que mantiene las características citológicas del carcinoma papilar. Su distinción con estas entidades es importante ya que su comportamiento es similar al del carcinoma papilar clásico.

## **6.4 Variante difusa multinodular**

Es una variante rara, puede comprometer todo un lóbulo tiroideo y puede ser difícil de reconocer cuando el compromiso es extenso.

## **6.5 Variante difusa esclerosante**

Se caracteriza porque se acompaña de una densa esclerosis, abundantes cuerpos de psammoma, focos sólidos, metaplasia escamosa y una infiltración linfocítica densa; el compromiso puede ser extenso. Se debe tener cuidado de no confundirla con la tiroiditis de Hashimoto. Es una variante de comportamiento más agresivo, casi siempre se acompaña de metástasis ganglionares y frecuentemente hace metástasis pulmonares y a sistema nervioso central.

## **6.6 Variante Oncocítica**

En esta variante, se mantienen los cambios nucleares del carcinoma papilar, pero el citoplasma es más abundante y granular. El patrón de crecimiento es variable, pudiendo ser papilar o folicular, encapsulado o invasivo, incluso su apariencia puede parecer un tumor de Warthin de glándula salival.

## **6.7 Variante de célula alta**

Se caracteriza por ser un carcinoma papilar, en las que sus papilas están revestidas por una capa simple de células "altas" (su largo es dos veces mayor que su ancho) con abundante citoplasma eosinofílico. Al menos la mitad de la lesión tumoral debe tener esta característica para ser considerado variante de célula alta. A pesar de que su patrón de crecimiento es en papilas, usualmente esta variante carece de las características nucleares típicas del carcinoma papilar, lo que ha llevado a que algunos autores pongan en duda que se trate realmente de un carcinoma papilar.

## **6.8 Variante columnar**

Se caracteriza por una prominente estratificación de la capa de revestimiento, acompañado de vacuolización citoplasmática. Las figuras mitóticas son más frecuentes. Esta variante tiene peor pronóstico que la variante clásica.

## **6.9 Variante Cribiforme**

Se caracteriza por un patrón de crecimiento cribiforme. Esta variante se ha relacionado con los síndromes familiares como la poliposis adenomatosa colónica.



## **6. Metodología**

### **7.1 Objetivo general**

Describir las características histológicas de una serie de casos de carcinoma papilar de tiroides diagnosticados en la Fundación Hospital de la Misericordia de Bogotá, estimando la frecuencia de la mutación BRAF V600E en muestras de ADN extraídas a partir de bloques de parafina.

### **7.2 Objetivos específicos**

- Describir las características clínicas y la presencia de factores de riesgo ya conocidos para carcinoma papilar de tiroides en esta serie de casos.
- Describir las características clínicas de los pacientes con carcinoma papilar de tiroides.
- Describir las principales características histológicas de los pacientes llevados a tiroidectomía por carcinoma papilar de tiroides.
- Describir la presencia de la mutación BRAF V600E y la expresión de NIS en el grupo descrito.
- Determinar la frecuencia de la mutación BRAFV600E en la muestra de pacientes con carcinoma papilar de tiroides.
- Evaluar la marcación de inmunohistoquímica para el symporter (NIS) de sodio/yodo su relación con la mutación de BRAF V600E

### **7.3 Selección de pacientes**

Se seleccionarán todos los casos de niños con diagnóstico de carcinoma papilar de tiroides que fueron sometidos a tiroidectomía en la Fundación Hospital de la Misericordia entre los años 2010 y 2016.

Las características clínicas que se describirán en esta serie de casos serán: Edad, sexo, edad al diagnóstico, comorbilidades, antecedentes de radiación.

## **7.4 Criterios de Inclusión**

Pacientes menores de 18 años con diagnóstico de carcinoma papilar de tiroides llevados a tiroidectomía según criterio del médico tratante; sin antecedentes familiares de poliposis adenomatosa familiar, síndrome de Cowden, síndrome de cáncer colorectal hereditario no polipósico, síndrome de Peutz-Jeghers y la ataxia telangiectasia.

## **7.5 Registro de pacientes**

A cada paciente se le asignará un número consecutivo, con el fin de preservar la identidad del paciente en completa confidencialidad durante el procesamiento de las muestras.

## **7.6 Extracción de ADN**

Se realizarán cortes de un bloque de parafina a 5 micras, en el cual estén representado el carcinoma papilar, posteriormente se realizará la extracción de ADN mediante Fenol-Cloroformo-Alcohol Isoamílico, según protocolo modificado por la Dra. Natalia Olaya. Posteriormente, se realizará la cuantificación de ADN mediante el equipo NanoDrop de Thermo.

## **7.7 Detección de la mutación BRAFV600E mediante PCR en tiempo real**

La detección de la mutación BRAFV600E se realiza en el equipo COBAS 4800 de roche. El principio en el que se basa la prueba es la PCR en tiempo real. La PCR en tiempo real es una técnica variante de la PCR convencional, que permite la cuantificación de la muestra y su análisis durante la amplificación. Esto es posible gracias a la medición de fluorescencia de un determinado fluoróforo que, en este experimento, se añade a uno de los extremos de un oligonucleótido que se une mediante apareamiento de bases a una secuencia específica de ADN. La

cantidad de fluorescencia detectada es directamente proporcional a la cantidad de producto de PCR en la reacción.

## 7.8 Inmunohistoquímica para NIS

La principal y única función de la célula folicular es la de captar yodo para sintetizar hormonas tiroideas. La captación de yodo es un proceso electroquímico activo, que es mediado por el symporter de sodio/yodo (*NIS*), el cual se encuentra en la membrana basal de la célula folicular. En la membrana apical, la *pendrina* transporta el yodo fuera de la célula a la luz del folículo tiroideo. En la luz del folículo tiroideo el yodo es oxidado por la tiroperoxidasa. En el lumen del folículo tiroideo, el yodo se somete a oxidación por la TPO y se incorpora a los residuos de tirosina de la tiroglobulina (TG), que posteriormente se separa a través de la proteólisis para producir hormonas tiroideas. Este proceso es regulado por la TSHR.

La mutación BRAFV600E se ha asociado con pérdida en la avidéz por el yodo radioactivo y por consiguiente con falla en el tratamiento en carcinoma papilar de tiroides. Algunos estudios han reportado la asociación entre la mutación de BRAFV600E y la disminución o ausencia de expresión de los genes que se encargan del manejo del yodo: *NIS*, *TPO*, *TSHR*, *TG*, *SLC26A4*. Hay un rol directo de BRAFV600E en la regulación a la baja de los genes encargados de la regular la vía de la síntesis de hormonas tiroideas. En modelos animales, la supresión de BRAFV600E restaura la expresión de los genes encargados de la síntesis de hormonas tiroideas.

Se realizará la marcación de inmunohistoquímica para el symporter de sodio/yodo validad por el laboratorio de patología de la Universidad de Antioquia.

## **8. Consideraciones éticas**

Este estudio se realizará sobre muestras de pacientes incluidos previamente en el proyecto “Obesidad, dieta, polimorfismos genéticos y cáncer colorrectal en diferentes poblaciones colombianas”, del Instituto Nacional de Cancerología. Estos pacientes firmaron un consentimiento para el uso futuro de las muestras en el cual se permite la utilización de las muestras en nuevos proyectos de investigación. Este es un estudio que se enmarca como SIN RIESGO para el paciente según el artículo 11 de la Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud, ya que no existe relación directa con el paciente por lo que el riesgo de daño o perjuicio es inexistente, aunque en el eventual caso que se determine algún factor de importancia predictiva o de cualquier otro tipo que tenga alguna influencia sobre la salud del paciente. Se realizó la verificación del proyecto por parte del comité de ética de la Universidad Nacional de Colombia, otorgando el aval el día 12 de noviembre de 2015. Ver en anexos carta de aprobación.

## 9 Resultados

Para el estudio se recolectaron y revisaron en total 12 casos, los cuales fueron incluidos en el proyecto.

En los 12 casos incluidos se determinaron las características histológicas del carcinoma papilar de tiroides, se estudió la mutación de BRAFV600E mediante PCR y se realizó la marcación con inmunohistoquímica para evaluar el simporter de sodio/yodo. Adicionalmente se evaluara si hay o no relación de este con la mutación BRAFV600E.

De los 12 casos seleccionados el 83% (n=10) fueron niñas y el 16.6% (n=2) fueron niños.

En relación con el motivo de consulta más frecuente el 50% (n=6) fue masa en cuello, seguido de nódulo cervical con el 33% (n=4). En dos pacientes (16.6%), no se tenía informe en la historia clínica sobre el motivo de consulta, ya que venían remitidos de otra institución para ser sometidos al procedimiento quirúrgico

Tabla N°1: Distribución de los casos incluidos en el estudio de acuerdo al procedimiento realizado:

Tabla 1

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS		
	n	%
Género (n=12)		
niño	2	1.6
niña	10	83.3
Edad		
Menores de 10 años	6	50
Mayores de 10 años	6	50
Motivos de consulta		
Masa en cuello	6	50
Nódulo cervical	4	33

En cuanto a variante histológica más frecuente se encontró que el patrón combinado, encontrándose en 91.6% de los pacientes (n=11/12), siendo el mas frecuente el patrón folicular > clásico con 54.5% (n=6/11), seguido de clásico > folicular con 36.6 % (n=4/11) y por último el folicular > sólido con el 9.09% (n=1/11). Solo se encontró un caso de carcinoma papilar variante folicular.

En características histológicas, todos los pacientes presentaron invasión capsular, el 75% presentó extensión extratiroidea (n=9/12), el 83.3% presento metástasis a ganglios linfáticos e invasión linfovascular (n=10/12) y el 25% presentaron metástasis extranodales.(Tabla 2)

Tabla 2

VARIANTE HISTOLÓGICA	FRECUENCIA	
	n	%
Patrón combinado	11/12	91.6%
Folicular > clásico	6/11	54,5%
Clásico > folicular	4/11	36,3%
Folicular > sólido	1/11	9,09%
Folicular	1/12	9.3%
Características Histológicas		
Invasión Capsular	12/12	100%
Extensión extratiroidea	9/12	75%
Metástasis a G. linfáticos	10/12	83.3%
Invasión linfovascular	10/12	83.3%
Metástasis extranodales	3/12	25%

En cuanto a la mutación BRAFV600E, se encontró la mutación en 1/12 pacientes, una niña de 12, con metástasis ganglionar y pulmonar, que presentaba variante histológica combinada, clásica > folicular.

Con respecto a la inmunohistoquímica para el simporter de sodio/yodo, se encontró reactividad focal en 4/12 pacientes, la reactividad estaba en menos del 10% del volumen tumoral. Todos los casos de reactividad focal se presentaron en tumores con patrón combinado clásico > folicular (Grafico 1 y 2

Grafico 1

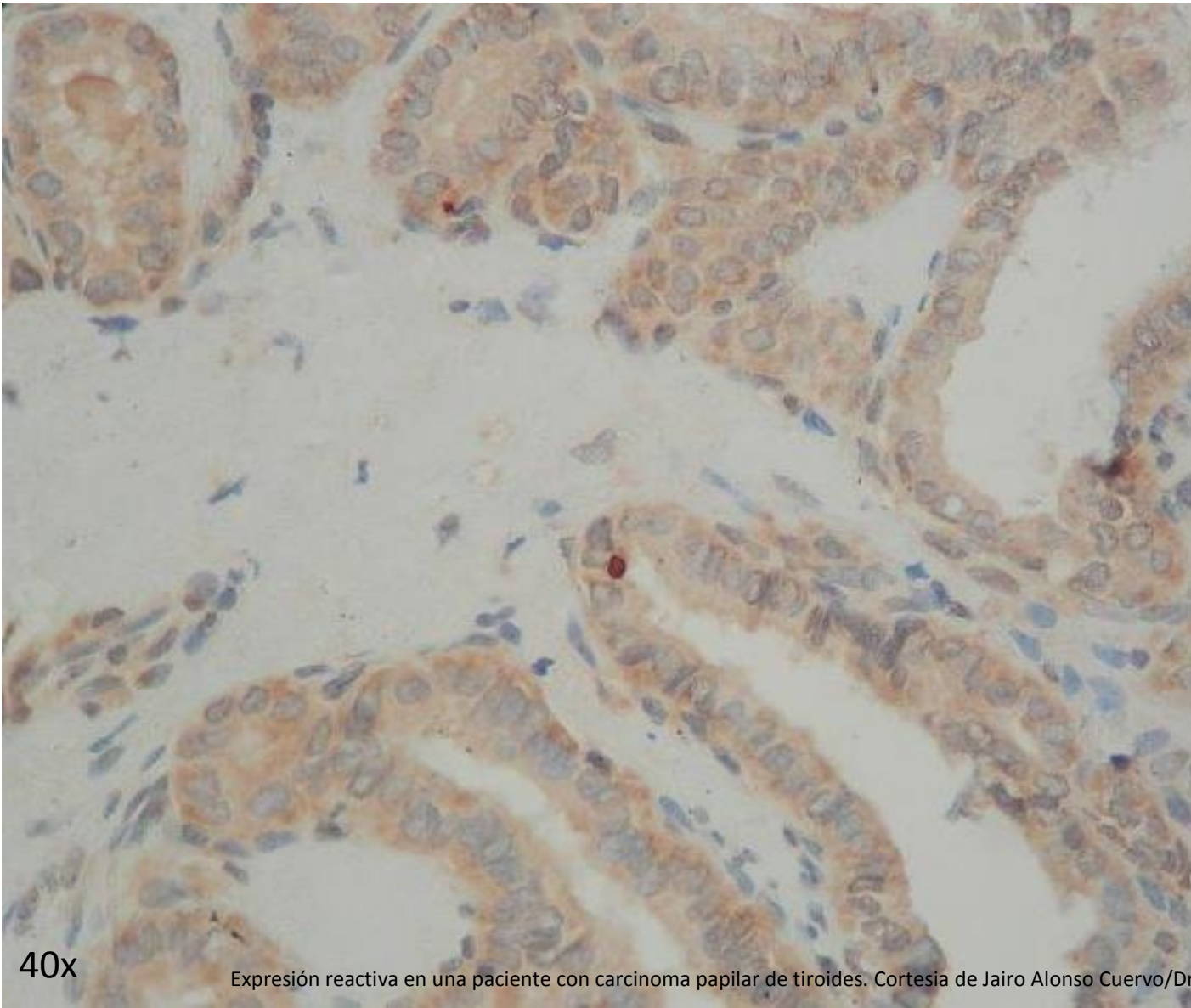
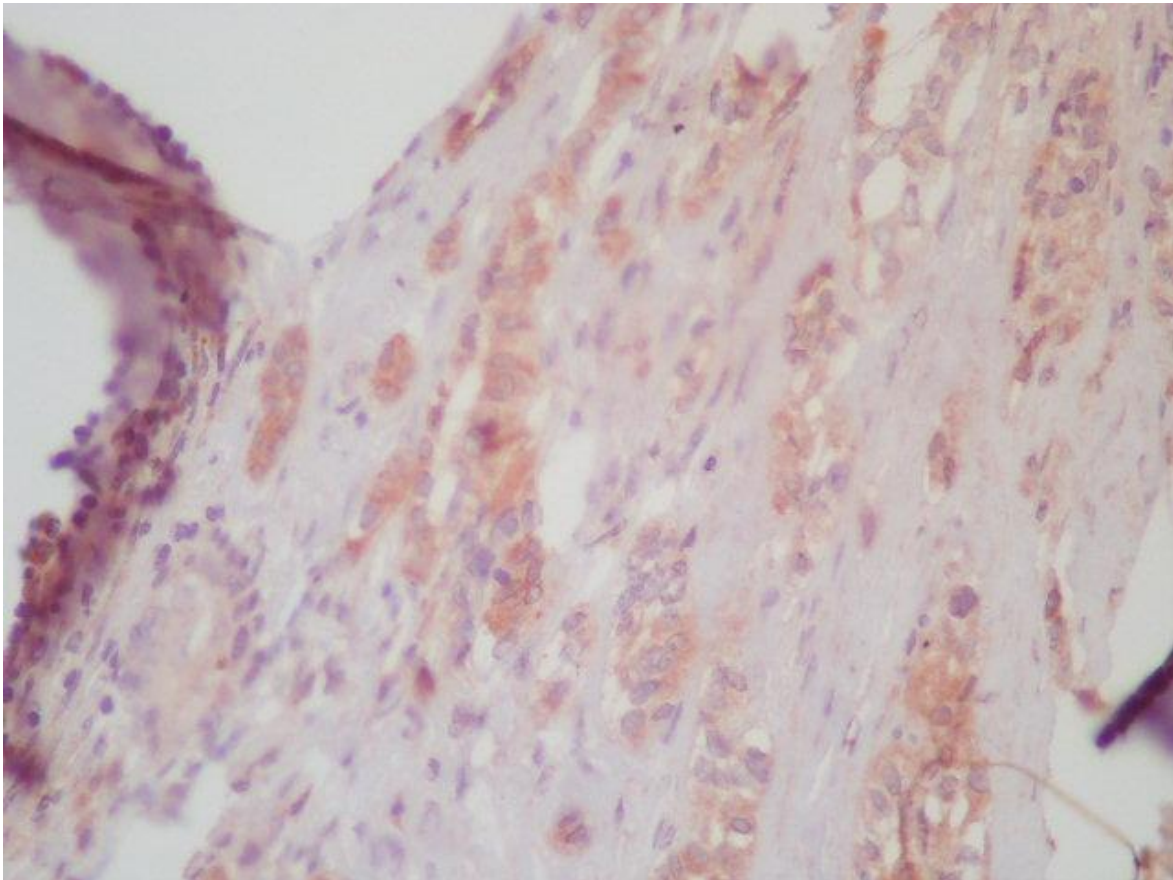




Grafico 2. Reactividad focal



Los hallazgos encontrados concuerdan con los reportados en la literatura en lo que respecta a presentación avanzada de la enfermedad, con metástasis ganglionar en el 83% de los casos.

La relación niño/niña fue 1:4, similar a la población adulta, la cual varía un poco con la reportada en la literatura donde los reportes muestran una relación cerca al 1:1.

La variante histológica predominante fue la combinada (91.6%) con predominio del patrón folicular-clásico. Estos hallazgos también se ven reflejados en la población adulta, donde el patrón cambiante es el patrón predominante.

La mutación BRAF V600E solo se encontró en 1/12 pacientes, lo cual era de esperarse debido a lo exótico de esta mutación en la población pediátrica. En cuanto a la relación de la mutación BRAFV600E y el simporter de sodio/yodo, no

se encontró relación. Algunos reportes de la literatura concuerdan en la baja expresión del simporter de sodio/yodo en los carcinomas papilares, lo cual podría explicarse por factores epigenéticos asociados a la expresión génica.

Es el primer estudio en Colombia donde se estudia la mutación de BRAF y su relación con el simporter de sodio-yodo en niños.

Los hallazgos encontrados concuerdan con los encontrados en la literatura, en cuanto a la baja frecuencia de mutación BRAF en la población pediátrica.



# Bibliografía

1. Xing, M. Molecular pathogenesis and mechanisms of thyroid cancer. *Nat Rev Cancer* 13, 184–199 (2013).
2. Cohen, Y. *et al.* BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma. *J. Natl. Cancer Inst.* 95, 625–627 (2003).
3. Nikiforov, Y. E. & Nikiforova, M. N. Molecular genetics and diagnosis of thyroid cancer. *Nat. Rev. Endocrinol.* 7, 569–580 (2011).
4. Sherman, S. I. Thyroid carcinoma. *Lancet* 361, 501–511 (2003).
5. Nikiforov, Y. E. Radiation-induced thyroid cancer: What we have learned from chernobyl. *Endocrine Pathology* 17, 307–317 (2006).
6. Fallis, A. . *WILLIAMS Textbook of ENDOCRINOLOGY*. Elsevier (2016). doi:10.1017/CBO9781107415324.004
7. Nikiforova, M. N. & Nikiforov, Y. E. Molecular diagnostics and predictors in thyroid cancer. *Thyroid* 19, 1351–61 (2009).
8. Brandi, M. L. *et al.* Thyroid cancer: Current molecular perspectives. *Journal of Oncology* (2010). doi:10.1155/2010/351679
9. Nikiforova, M. N. & Nikiforov, Y. E. Molecular genetics of thyroid cancer: implications for diagnosis, treatment and prognosis. *Expert Rev. Mol. Diagn.* 8, 83–95 (2008).
10. Leeman-Neill, R. J. *et al.* RET/PTC and PAX8/PPAR?? chromosomal rearrangements in post-Chernobyl thyroid cancer and their association with iodine-131 radiation dose and other characteristics. *Cancer* 119, 1792–1799 (2013).
11. He, G., Zhao, B., Zhang, X. & Gong, R. Prognostic value of the BRAF V600E mutation in papillary thyroid carcinoma. *Oncol Lett* 7, 439–443 (2014).
12. Zafon, C. *et al.* Differences in the Form of Presentation between Papillary Microcarcinomas and Papillary Carcinomas of Larger Size. *J. Thyroid Res.* 2011, 639156 (2010).

13. Sanchez, G., Gutierrez, C., Valenzuela, A. & Tovar, J. R. Carcinoma diferenciado de la glándula tiroidea: hallazgos en 16 años de manejo multidisciplinario. *Rev. Colomb. Cirugía* 29, 102–109 (2014).
14. Chala, A., Franco, H., Aguilar, C. & Cardona, J. Estudio descriptivo de doce años de cáncer de tiroides, Manizales, Colombia. *Rev colomb cir* 25, 276–289 (2010).
15. Granados, M., Estrada, E. & Apodaca, Á. Cáncer Diferenciado de la Tiroides: Aspectos Generales. *Cancerología* 4, 65–71 (2009).
16. Pellegriti, G., Frasca, F., Regalbuto, C., Squatrito, S. & Vigneri, R. Worldwide increasing incidence of thyroid cancer: Update on epidemiology and risk factors. *Journal of Cancer Epidemiology* 2013, (2013).
17. Cuervo Martínez, J. A., Osorio Luz, K., Romero Rojas, A. E. & Olaya Morales, N. Caracterización clínica e histopatológica del carcinoma papilar de tiroides en el instituto nacional de cancerología E.S.E., bogotá-colombia durante los años 2006 a 2012. *Rev. Colomb. Cancerol.* 17, 188 (2013).
18. LiVolsi, V. a. Papillary thyroid carcinoma: an update. *Mod. Pathol.* 24 Suppl 2, S1–S9 (2011).
19. Ferlay, J. *et al.* Estimates of worldwide burden of cancer in 2012: GLOBOCAN 2012. *Int. J. cancer J. Int. du cancer* 127, 2893–2917 (2012).
20. D'Agostino, M. *et al.* Different expression of TSH receptor and NIS genes in thyroid cancer: Role of epigenetics. *J. Mol. Endocrinol.* 52, 121–131 (2013).
21. Girardi, F. M., Barra, M. B. & Zettler, C. G. Variants of papillary thyroid carcinoma: Association with histopathological prognostic factors. *Braz. J. Otorhinolaryngol.* 79, 738–744 (2013).
22. UNSCEAR. *Sources and Effects of Ionising Radiation, Vol 1, United Nations Scientific Committee on the Effect of Atomic Radiation, Report to the general assembly with scientific annexes. United Nation I*, (2008).
23. Gharib, H. *et al.* American Association of Clinical Endocrinologists, Associazione Medici Endocrinologi, and European Thyroid Association Medical Guidelines for Clinical Practice for the Diagnosis and Management of thyroid Nodules. *Endocr. Pract.* 1–43 (2010).
24. Romero-Rojas, A., Cuervo-Martinez, J., Osorio-Arango, K. & Olaya, N. Histological variants and prognostic factors of papillary thyroid carcinoma at the Colombian Instituto Nacional de Cancerologia, 2006-2012. *Biomedica* 35, 429–436 (2015).

25. M.A., B. *et al.* Can malignant thyroid nodules be distinguished from benign thyroid nodules in children and adolescents by clinical characteristics? A review of 89 pediatric patients with thyroid nodules. *Thyroid* 25, 392–400 (2015).
26. Howell, G. M., Hodak, S. P. & Yip, L. RAS mutations in thyroid cancer. *Oncologist* 18, 926–932 (2013).