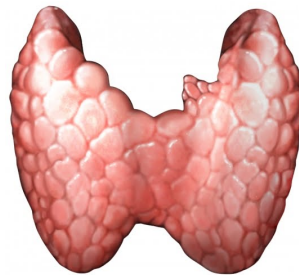




Universidad de Málaga
Facultad de Medicina

Tesis doctoral

**Nuevos biomarcadores moleculares
de interés pronóstico en el
carcinoma diferenciado de tiroides**



Ana María Gómez Pérez


Málaga, 2017

Endocrinología y Nutrición



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

AUTOR: Ana María Gómez Pérez

 <http://orcid.org/0000-0002-2874-5894>

EDITA: Publicaciones y Divulgación Científica. Universidad de Málaga



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional:

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/legalcode>

Cualquier parte de esta obra se puede reproducir sin autorización pero con el reconocimiento y atribución de los autores.

No se puede hacer uso comercial de la obra y no se puede alterar, transformar o hacer obras derivadas.

Esta Tesis Doctoral está depositada en el Repositorio Institucional de la Universidad de Málaga (RIUMA): riuma.uma.es



El trabajo de investigación que se expone en esta Memoria Doctoral con título “Nuevos biomarcadores moleculares de interés pronóstico en el carcinoma diferenciado de tiroides” ha sido realizado en el Servicio de Endocrinología y Nutrición del Hospital Universitario Virgen de la Victoria, Málaga, por D^a Ana María Gómez Pérez, bajo la dirección del Dr. Francisco José Tinahones Madueño, profesor titular de Universidad de Málaga, considerando que cumple todos los requisitos establecidos en la normativa vigente para su presentación y defensa pública y optar así al grado de doctora.

DIRECTOR:



Fdo: Dr. Francisco José Tinahones Madueño



El trabajo de investigación que se expone en esta Memoria Doctoral con título “Nuevos biomarcadores moleculares de interés pronóstico en el carcinoma diferenciado de tiroides” ha sido realizado en el Servicio de Endocrinología y Nutrición del Hospital Universitario Virgen de la Victoria, Málaga, por D^a Ana María Gómez Pérez, bajo la dirección del Dr. Jorge García Alemán, doctor por la Universidad de Málaga en 2009, considerando que cumple todos los requisitos establecidos en la normativa vigente para su presentación y defensa pública y optar así al grado de doctora.

DIRECTOR:



Fdo: Dr. Jorge García Alemán



“Nothing in life is to be feared, it is only to be understood. Now is the time to understand more, so that we may fear less”.

Marie Curie



Agradecimientos

A Francisco Tinahones, motor de este trabajo y de tantas otras cosas, por ser capaz de contagiar su entusiasmo por la ciencia y por la claridad de sus ideas.

A Jorge García Alemán. Sin él este trabajo no hubiera sido posible. Gracias también por haberse cruzado en mi camino en el momento justo y haberme ayudado a dirigir mi vida hacia esta especialidad. Pero sobre todo por su amistad.

A Leticia, Juan, Carlos y Arantzazu, que tanto me han ayudado en el reclutamiento de pacientes, en la extracción de las muestras y en su análisis. Han sido piezas clave en la realización de este trabajo.

A José Manuel e Isabel Mancha, por ser maestros imprescindibles en la ciencia y en la vida. Gracias por todo lo que habéis compartido conmigo y seguís compartiendo. A Diego, a Silvia y al resto de compañeros y amigos del servicio de Endocrinología y Nutrición del Hospital Clínico, por acompañarme en este camino. Siempre os llevo conmigo.

A mis niñas Araceli, Isa, María y Cristina, amigas sobre todo y compañía inmejorable. Gracias por hacerme disfrutar de los buenos ratos y por aliviar los no tan buenos.

A mis hermanas, por ser un ejemplo a seguir y cómplices inseparables en mi vida. A mis padres, por haber hecho todo lo posible para que cumpliera mis sueños, enseñarme que la perseverancia y el amor pueden con todo y por su valentía. Os lo debemos todo.

A Ramón, por estar siempre ahí y hacerme mejor cada día. No podría haber encontrado mejor compañero de viaje en la vida. A nuestra pequeña Ana, que colma de felicidad nuestras vidas.



Índice general

Índice general	11
Índice de figuras	15
Índice de tablas	19
1. Introducción	23
1.1. Resumen	24
1.2. La glándula tiroides: anatomía, histología y fisiología	24
1.2.1. Fisiología del tiroides y producción hormonal	26
1.3. Cáncer diferenciado de tiroides	28
1.3.1. Definición y características generales	28
1.3.2. Etiología del cáncer de tiroides	30
1.3.3. Presentación clínica	40
1.3.4. Diagnóstico	41
1.3.5. Tratamiento inicial	46
1.3.6. Clasificación postoperatoria del riesgo de recurrencia y mortalidad	50
1.3.7. Tratamiento adyuvante	55
1.3.8. Seguimiento	58
1.3.9. Enfermedad metastásica	62
1.3.10. Factores pronósticos en el carcinoma diferenciado de tiroides	65
1.4. MicroRNA, su desregulación y el cáncer	70
1.4.1. Mecanismos de acción	72
1.4.2. Papel de los microRNAs en las vías oncogénicas	75
1.5. Desregulación de los microRNAs en el cáncer de tiroides	75
1.5.1. Carcinoma papilar y microRNAs	76
1.5.2. Carcinoma folicular y microRNAs	77

1.5.3. Carcinoma anaplásico y microRNAs	78
1.5.4. Papel de los microRNAs en las vías de señalización molecular en el cáncer de tiroides	78
1.5.5. Receptor de hormona tiroidea β y microRNA	80
1.5.6. MicroRNAs como factores pronósticos en el cáncer de tiroides . . .	81
1.5.7. MicroRNAs circulantes	83
1.5.8. MicroRNA como diana terapéutica en el cáncer de tiroides	87
2. Hipótesis y objetivos	89
2.1. Hipótesis	90
2.2. Objetivos	90
2.2.1. Objetivo principal	90
3. Diseño y metodología	93
3.1. Diseño	94
3.2. Pacientes y métodos	94
3.2.1. Población de estudio	94
3.2.2. Metodología	96
3.2.3. Análisis estadístico	101
4. Resultados	103
4.1. Características basales de los grupos de estudio	104
4.1.1. Variables cuantitativas	104
4.1.2. Variables cualitativas	108
4.2. Variables cuantitativas por subgrupos: histología del tumor	120
4.3. Correlaciones	136
4.4. Regresión lineal	145
5. Discusión	147
5.1. Genética del cáncer de tiroides	148
5.1.1. El papel de los microRNAs en la carcinogénesis tiroidea	149
5.2. Factores pronósticos en el cáncer diferenciado de tiroides	150
5.3. Limitaciones	159
6. Conclusiones	161
A. Consentimiento informado	163



ÍNDICE GENERAL

B. Resumen	167
Bibliografía	169

Índice de figuras

1.1. Anatomía del tiroides	25
1.2. Síntesis de hormona tiroidea	27
1.3. Eje hipotálamo-hipófisis-tiroides	28
1.4. Principales vías de señalización implicadas en la carcinogénesis del tiroides	36
1.5. Características ecográficas	43
1.6. Indicaciones	44
1.7. Histología	45
1.8. Compartimentos ganglionares del cuello	49
1.9. Riesgo de recurrencia	52
1.10. Impacto de la respuesta al tratamiento inicial en la evaluación inicial del riesgo.	55
1.11. Indicaciones de radioyodo	57
1.12. Protocolo de seguimiento.	59
1.13. Protocolo de seguimiento.	60
1.14. Protocolo de seguimiento.	61
1.15. Protocolo de seguimiento.	62
1.16. Biogénesis de los microRNA.	73
1.17. Mecanismo de regulación negativa.	74
1.18. Asociación entre la expresión de miR-146b y la tasa de supervivencia libre de enfermedad.	82
1.19. Identificación de microRNAs en plasma humano.	84
4.1. Variables cualitativas. Sexo.	109
4.2. Variables cualitativas. Afectación ganglionar.	111
4.3. Variables cualitativas. Datos de invasión linfática en la pieza quirúrgica. . .	112
4.4. Variables cualitativas. Datos de invasión vascular en la pieza quirúrgica. . .	113



4.5. Variables cualitativas. Invasión de tejidos adyacentes. 113

4.6. Variables cualitativas. Metástasis al diagnóstico. 114

4.7. Variables cualitativas. Metástasis en el seguimiento. 114

4.8. Variables cualitativas. Sexo. 116

4.9. Variables cualitativas. Afectación ganglionar. Criterios de curación 118

4.10. Variables cualitativas. Datos de invasión linfática en la pieza quirúrgica. Criterios de curación 118

4.11. Variables cualitativas. Datos de invasión vascular en la pieza quirúrgica. Criterios de curación. 119

4.12. Variables cualitativas. Invasión de tejidos adyacentes. Criterios de curación 119

4.13. Variables cualitativas. Metástasis al diagnóstico. Criterios de curación. 120

4.14. Variables cualitativas. Metástasis en el seguimiento. Criterios de curación. 120

4.15. Correlación entre los niveles de Tg en la extracción y los niveles de miR-146. 136

4.16. Correlación entre los niveles de Tg en la extracción y los niveles de miR-221. 136

4.17. Correlación entre los niveles de Tg en la extracción y los niveles de miR-222. 137

4.18. Correlación entre los niveles de Tg en la extracción y los niveles de Tg en la primera ablación con I131. 137

4.19. Correlación entre los niveles de TSH de la extracción y los niveles de T4L de la extracción. 138

4.20. Correlación entre los niveles Tg durante la primera dosis de I131 y la Tg estimulada el primer año al quinto día. 138

4.21. Correlación entre los niveles de miR-221 y miR-222. 139

4.22. Correlación entre los niveles de miR-222 y miR-146. 139

4.23. Correlación entre los niveles de miR-146 y miR-221. 140

4.24. Correlación entre los niveles de miR-146 y la Tg de la extracción en pacientes con carcinoma papilar. 140

4.25. Correlación entre los niveles de miR-146 y la Tg estimulada al primer año el día 5 en pacientes con carcinoma papilar. 141

4.26. Correlación entre los niveles de miR-222 y la Tg de la extracción en pacientes con carcinoma papilar con patrón folicular. 141

4.27. Correlación entre los niveles de miR-222 y la Tg estimulada al primer año el día 5 en pacientes con carcinoma papilar patrón folicular. 142

4.28. Correlación entre los niveles de miR-146 y los anticuerpos antiTg de la extracción en pacientes con carcinoma papilar patrón folicular. 142



ÍNDICE DE FIGURAS

4.29. Correlación entre los niveles de miR-221 y los anticuerpos antiTg de la extracción en pacientes con carcinoma papilar patrón folicular.	143
4.30. Correlación entre los niveles de miR-222 y los anticuerpos antiTg de la extracción en pacientes con carcinoma papilar patrón folicular.	143
4.31. Correlación entre los niveles de miR-146 y la Tg de la primera dosis de radioyodo en pacientes con carcinoma de células de Hürthle.	144
4.32. Correlación entre los niveles de miR-221 y la Tg de la primera dosis de radioyodo en pacientes con carcinoma de células de Hürthle.	144
4.33. Correlación entre los niveles de miR-222 y la Tg de la primera dosis de radioyodo en pacientes con carcinoma de células de Hürthle.	145

Índice de tablas

1.1. Clasificación TNM del cáncer diferenciado de tiroides	51
1.2. Estadiaje del cáncer diferenciado de tiroides	51
1.3. Clasificación inicial del riesgo de recurrencia según la ATA.	53
4.1. Características basales. Variables cuantitativas. Clasificación según escala dinámica del riesgo de recurrencia.	104
4.2. Características basales. Variables cuantitativas. Clasificación según crite- rios de curación.	106
4.3. Variables cualitativas. Antecedentes familiares de tiroidopatía. Clasificación según escala dinámica del riesgo.	108
4.4. Variables cualitativas. Antecedentes personales de tiroidopatía. Clasifica- ción según escala dinámica del riesgo.	108
4.5. Variables cualitativas. Histología de la PAAF. Clasificación según escala dinámica del riesgo.	110
4.6. Variables cualitativas. Histología de la pieza quirúrgica. Clasificación según escala dinámica del riesgo.	110
4.7. Variables cualitativas. Antecedentes personales de tiroidopatía. Clasifica- ción según criterios de curación.	115
4.8. Variables cualitativas. Histología de la PAAF. Clasificación según criterios de curación.	116
4.9. Variables cualitativas. Histología de la pieza quirúrgica. Clasificación según criterios de curación.	117
4.10. Comparación por subgrupos. Edad (años). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.	121
4.11. Comparación por subgrupos. Peso (kg). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.	121



4.12. Comparación por subgrupos. Talla (cm). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.	122
4.13. Comparación por subgrupos. Edad al diagnóstico (años). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.	123
4.14. Comparación por subgrupos. Número de dosis de radioyodo. Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.	123
4.15. Comparación por subgrupos. Número de rastreos realizados. Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.	124
4.16. Comparación por subgrupos. Tiroglobulina 1ª ablación (ng/mL). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.	124
4.17. Comparación por subgrupos. Anticuerpos antiTg 1ª ablación (UI/mL). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.	125
4.18. Comparación por subgrupos. Dosis de la 1ª ablación (mCi). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.	126
4.19. Comparación por subgrupos. Tg estimulada el primer año al tercer día (ng/mL). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.	126
4.20. Comparación por subgrupos. Anticuerpos antiTg el primer año al tercer día (UI/mL). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.	127
4.21. Comparación por subgrupos. Tg estimulada el primer año al quinto día (ng/mL). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.	127
4.22. Comparación por subgrupos. Anticuerpos antiTg el primer año al tercer día (UI/mL). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.	128
4.23. Comparación por subgrupos. Glucemia basal (mg/dl). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.	129
4.24. Comparación por subgrupos. Creatinina (mg/dl). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.	129
4.25. Comparación por subgrupos. TSH en la extracción (μ UI/ml). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.	130
4.26. Comparación por subgrupos. T4L en la extracción (ng/dl). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.	131
4.27. Comparación por subgrupos. Tg en la extracción (ng/ml). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.	131
4.28. Comparación por subgrupos. Anticuerpos antiTg en la extracción (UI/ml). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.	132



ÍNDICE DE TABLAS

4.29. Comparación por subgrupos. Niveles de miR-146 (copias/ μ L). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.	132
4.30. Comparación por subgrupos. Niveles de miR-221 (copias/ μ L). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.	133
4.31. Comparación por subgrupos. Niveles de miR-222 (copias/ μ L). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.	133
4.32. Análisis de comparaciones múltiples. Test de Duncan. miR-222 (copias/ μ L)	135
4.33. Análisis de comparaciones múltiples. Test de Duncan. miR-146 (copias/ μ L)	135
4.34. Análisis de regresión lineal simple para niveles de tiroglobulina en el momento de la extracción y de tiroglobulina estimulada al primer año (tercer día).	146

Capítulo 1

Introducción

1.1. Resumen

El cáncer es hoy en día una de las principales causas de enfermedad y muerte en el mundo occidental. Sin embargo, es una patología parcialmente prevenible si se interviene sobre los factores de riesgo y si conseguimos un diagnóstico en fases precoces, dependiendo del tipo de tumor. Ésta es una de las razones por las que la búsqueda de nuevos biomarcadores que nos ayuden a prevenir, detectar o tratar diferentes tipos de cáncer, se ha convertido en un punto central de la investigación oncológica en los últimos años. Y entre esos biomarcadores están los microRNA, cuya cuantificación está emergiendo como una prometedora herramienta en este campo.

Teniendo en cuenta que el cáncer diferenciado de tiroides es la neoplasia endocrina más frecuente, el objetivo de este proyecto es estudiar la expresión de microRNA en nuestra población de pacientes con carcinoma diferenciado de tiroides. Una vez estudiados dichos perfiles de expresión, trataremos de determinar cual es la utilidad clínica de estos biomarcadores en nuestro medio: podrían ser de utilidad en el diagnóstico de nódulos tiroideos de citología dudosa ayudando a mejorar el abordaje terapéutico en esos casos, podrían ser útiles también en el seguimiento del tumor de forma similar a otros biomarcadores como la tiroglobulina y los anticuerpos antitiroglobulina, sobre todo en casos en los que estos marcadores no pueden ser utilizados o pierden valor. Pero sobre todo, el objetivo fundamental de este trabajo es buscar su posible relación con la evolución de la enfermedad y establecer así si tienen valor como factores pronósticos, que puedan servir para establecer un plan terapéutico y de seguimiento personalizado a cada paciente o incluso para desarrollar nuevas terapias moleculares dirigidas.

1.2. La glándula tiroides: anatomía, histología y fisiología

El tiroides es uno de los órganos endocrinos de mayor tamaño, con un peso habitual de entre 15 y 20 gramos y con una gran capacidad de crecimiento. Suele estar formado por dos lóbulos unidos por una pequeña banda de tejido conocida como istmo. Cada lóbulo mide entre 2 y 4 cm en su diámetro máximo, aunque el derecho suele estar más vascularizado y ser de mayor tamaño y, a veces, puede encontrarse un lóbulo piramidal en forma de proyección digitiforme hacia arriba desde el istmo. La irrigación del tiroides proviene fundamentalmente de dos arterias, la arteria tiroidea superior que proviene de la

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

arteria carótida externa, y la arteria tiroidea inferior que se origina en la arteria subclavia. El volumen de irrigación del tiroides es muy alto, estimado en torno a 46 ml/minuto por gramo de tejido, siendo por tanto muy superior al flujo renal que está en torno a 3 ml/minuto por gramo de tejido.

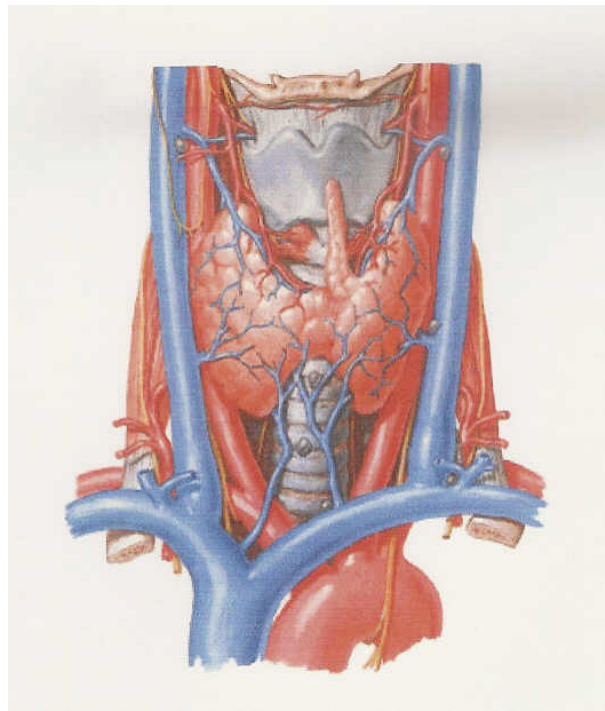


Figura 1.1: Anatomía del tiroides [1].

A nivel histológico, la glándula está formada por unidades esféricas denominadas folículos. En el interior de dichos folículos encontramos un coloide proteico de aspecto claro que ocupa la mayor parte de la masa tiroidea. En un corte transversal el tiroides está formado por un conjunto de estructuras anulares estrechamente agrupadas y formadas, cada una de ellas, por una sola capa de células foliculares. Se trata de un epitelio folicular cuyas células tienen características comunes con otros tipos de células secretoras, con una zona apical repleta de microvellosidades que contactan con la matriz coloide y que es donde se lleva a cabo la yodación, la exocitosis y la fase inicial de la secreción de hormonas tiroideas. Entre las células del epitelio folicular o en el intersticio tiroideo, aparecen otras células denominadas C o parafoliculares, que son las encargadas de la producción de calcitonina, hormona implicada en la homeostasis del calcio. Estas células C pertenecen al sistema neuroendocrino, por tanto tienen una regulación diferente a las células foliculares y origina tumores de comportamiento muy diferente.

1.2.1. Fisiología del tiroides y producción hormonal

La principal función del tiroides es la producción de hormona tiroidea en cantidad suficiente como para cubrir la demanda de los tejidos periféricos. Las hormonas tiroideas se sintetizan a partir de la tirosina, pero para ello, es necesario el transporte diario de yoduro potásico al interior de la célula tiroidea a través del cotransportador sodio-yodo (NIS) localizado en la membrana basolateral cercana a los capilares, su transferencia al coloide y su oxidación por la peroxidasa tiroidea (TPO), además de la síntesis de un homodímero glucoprotéico conocido como tiroglobulina (Tg). Como puede observarse en la figura 1.2 la captación del yodo y su transporte a través del NIS está estimulada por la hormona estimulante del tiroides o TSH, cuando se une a su receptor en la membrana basolateral. Una vez que ha sido transportado al coloide a través de la pendrina (PDS), el yoduro es oxidado por acción de las enzimas oxidasas duales DUOX1, DUOX2 y por la TPO, uniéndose posteriormente a los residuos de tirosina de la tiroglobulina para yodarlos y formar en esta región apical de la célula folicular la monoyodotirosina (MIT) y la diyodotirosina (DIT). La TPO, además, cataliza la unión de dos moléculas de DIT o una de DIT y otra de MIT para formar T4 o tiroxina y T3 respectivamente, que son almacenadas en el coloide y unidas todavía a la tiroglobulina. Posteriormente el coloide es pinocitado por la célula folicular y se forman fagolisosomas dentro de los cuáles la tiroglobulina es digerida por proteasas específicas que liberan T3, T4, MIT y DIT durante el transporte del lisosoma a la membrana basolateral. La T3 y la T4 se transportan al exterior de la célula folicular hacia los capilares y se unen a proteínas plasmáticas tales como la globulina transportadora de tiroxina (TBG), la prealbúmina o la albúmina. El MIT y el DIT son desyodizados por la yodotirosina halogenasa para reciclar el yoduro e incorporarlo de nuevo a la célula tiroidea.

En la circulación, el 70 % de las hormonas tiroideas van unidas a la TBG y menos del 0.5 % va en forma libre, siendo esta pequeña fracción la que determina la actividad de dichas hormonas a nivel periférico. La mayor parte de hormona liberada es T4, sólo un 10 % de T3 y una pequeña cantidad de rT3 o T3 reversa que es biológicamente inactiva. En cualquier caso la T4 debe ser desyodada a T3 en los tejidos periféricos para ejercer su acción. Esta T3 actúa sobre prácticamente todas las células del organismo y entre sus principales acciones se encuentran la regulación del metabolismo basal, un efecto inotrópico y cronotrópico sobre el corazón, un papel fundamental en el desarrollo fetal especialmente en el desarrollo cerebral, el desarrollo esquelético durante la infancia y la regulación del remodelado y mineralización óseos.

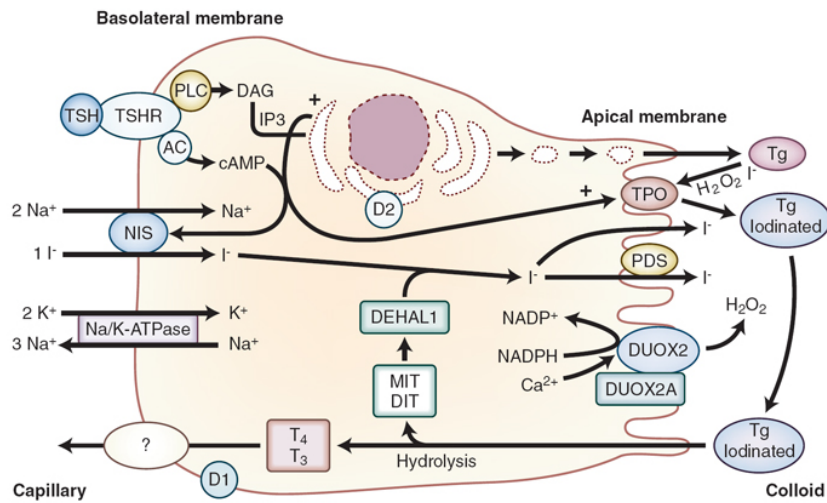


Figura 1.2: Síntesis de hormona tiroidea [2].

Regulación de la función tiroidea

La función del tiroides está regulada por el llamado eje hipotálamo-hipófiso-tiroideo que forma un mecanismo de control por retroalimentación. Además, existe una relación inversa entre el nivel de yodo presente en la glándula y la velocidad de la producción hormonal. Es una forma de mantener la estabilidad en la velocidad de síntesis hormonal a pesar de las posibles fluctuaciones de los niveles de yodo disponible y las variaciones en la cantidad de hormonas tiroideas libres, que son detectadas por el eje por pequeñas que sean.

La TRH o hormona liberadora de tirotropina se origina en los núcleos paraventriculares del hipotálamo, discurre por las neuronas peptidérgicas de la eminencia media y se libera cerca del plexo portal hipotálamo-hipofisario, para estimular la producción de TSH en las células tirotropas de la adenohipófisis. La presencia de T3 y T4 en el sistema nervioso central inhibe la síntesis de TRH y bloquea su capacidad para estimular a las células tirotropas. La TSH es la principal regulación de la morfología y función del tiroides y está formada por una subunidad α que es común a otras hormonas como la hormona luteinizante (LH), la foliculoestimulante (FSH) o la gonadotropina coriónica humana (hCG), y otra subunidad β que es específica. La TRH estimula la producción de ambas subunidades y las hormonas tiroideas la suprimen, de modo que son las dos principales reguladoras de la producción de TSH. Para protegerse de la degradación y para conseguir una actividad biológica completa, la TSH debe glicosilarse y para este proceso también es fundamental la TRH. Por otra parte, existe una relación inversa entre la concentración de T4 libre en el

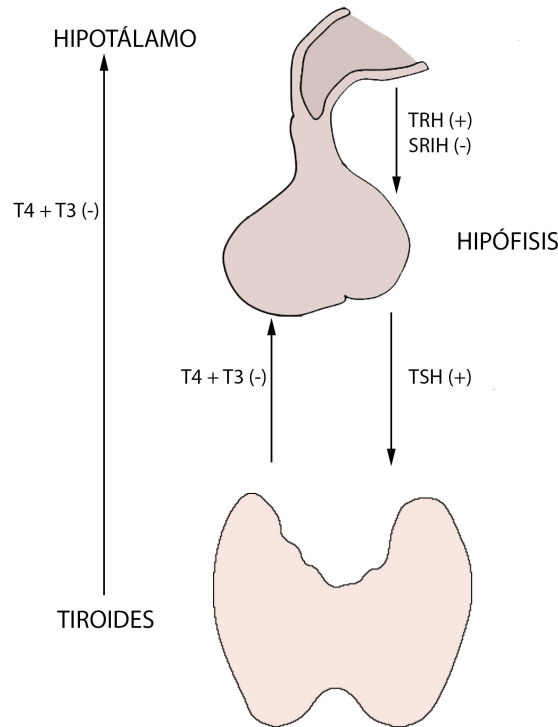


Figura 1.3: Eje hipotálamo-hipofisario-tiroideo. Adaptado de Williams [2].

suero y la TSH, de modo que la TSH es un indicador muy sensible del estado tiroideo en los pacientes que conservan el eje hipotálamo-hipofisario normal. Otro factor que puede influir en la producción de TSH es la somatostatina, producida también en el hipotálamo y que disminuye la secreción de TSH a través de una proteína G inhibidora [2].

1.3. Cáncer diferenciado de tiroides

1.3.1. Definición y características generales

El cáncer de tiroides supone sólo un 1 % de todos los tumores que puede presentar el ser humano, lo que corresponde a un 0.5 % en hombres y un 1.5 % en mujeres [3], pero aún así es la neoplasia endocrina más frecuente. La prevalencia del nódulo tiroideo ronda entre el 20 y el 50 % en la población general y de ellos entre un 7-15 % son malignos, pero la mayoría de ellos son de escasa relevancia clínica (microcarcinomas papilares) [4]. Además, la incidencia del cáncer de tiroides, especialmente el carcinoma diferenciado, está aumentando de forma rápida, al menos en Estados Unidos. La epidemiología en Europa puede ser sensiblemente distinta, probablemente debido a diferentes factores ambientales que de-

terminan diferencias en los factores patogénicos, la presentación clínica y el manejo de la enfermedad. Otro dato a tener en cuenta es que en los últimos años, la presentación clínica ha cambiado de carcinomas avanzados a tumores incidentales descubiertos mediante ecografía tiroidea [5].

Para comprender los diferentes tipos de tumores tiroideos, debemos saber que existen dos tipos celulares implicados en la producción hormonal y que componen el tejido tiroideo tal como se dijo en la sección 1.2: las células foliculares, que son responsables de la captación de yodo y la síntesis de las hormonas tiroideas, y las células parafoliculares o células C que se encargan de la producción de calcitonina, hormona implicada en la homeostasis del calcio. De los diversos tipos de cáncer de tiroides, los más comunes son aquellos que derivan de la estirpe de células foliculares, constituyendo aproximadamente un 95 % del total. Otro tipo mucho más minoritario es el carcinoma medular de tiroides (3 %), que deriva de las células C o parafoliculares y es un tumor neuroendocrino. Por otra parte, los tumores de estirpe folicular se dividen habitualmente en bien diferenciados, pobremente diferenciados o indiferenciados. Los bien diferenciados, incluyen el carcinoma papilar de tiroides (CPT) y el carcinoma folicular (CFT). Estos dos tipos de tumor bien diferenciado pueden progresar hacia pobremente diferenciados e incluso acabar desdiferenciándose por completo y convirtiéndose en carcinoma anaplásico (CAT) [6].

El carcinoma papilar de tiroides es el más frecuente en nuestra población (90 % de todas las neoplasias diferenciadas de tiroides), suele ser multifocal y metastatiza normalmente a los ganglios linfáticos regionales [7]. Característicamente, el carcinoma papilar muestra predominantemente estructuras papilares que consisten en un centro fibrovascular rodeado de una sola capa epitelial, mezcladas con folículos neoplásicos. El núcleo de esos folículos es muy característico en el análisis histológico y frecuentemente tiene cuerpos de psamoma, que son capas microscópicas calcificadas. Además, podemos dividir el CPT en algunos subtipos con diferentes características: hablamos de variante folicular cuando predominan las estructuras foliculares sobre las papilares; variante esclerosante difusa cuando hay afectación difusa de uno o los dos lóbulos de la glándula, diseminación linfática, fibrosis importante e infiltración linfoide; variante de células altas cuando encontramos papilas cubiertas de células cuya altura es al menos dos veces mayor que su anchura; y finalmente variante de células columnares cuando tenemos núcleos estratificados y células altas. Las dos últimas variantes parecen ser más agresivas [2]. En cualquier caso, la tasa de supervivencia del CPT fue del 98 % en un informe en Estados Unidos sobre 15700 pacientes [3].

En cuanto al carcinoma folicular, es menos frecuente (5-10 %) y puede ser convencional o variante oncocítica o de células de Hürthle. Suele ser unifocal, encapsulado y con una alta tendencia a metastatizar en hueso y pulmón [7]. El CFT se puede dividir en mínimamente invasivo o ampliamente invasivo. Esta diferenciación determina la agresividad y el pronóstico del CFT, ya que los mínimamente invasivos tienen una menor tasa de recurrencias y metástasis así como una mayor supervivencia. Es importante tener en cuenta que los tumores mínimamente invasivos pueden ser difíciles de distinguir del adenoma folicular, porque la invasión capsular y vascular no pueden detectarse en un examen macroscópico. Por el contrario, los ampliamente invasivos se distinguen fácilmente de las lesiones benignas [2]. La tasa de supervivencia para el carcinoma folicular fue del 92 % en el mismo informe que mencionamos previamente [3].

El carcinoma anaplásico de tiroides, que suele derivar de tumores preexistentes bien diferenciados, es muy poco frecuente, totalmente indiferenciado, fuertemente agresivo y habitualmente insensible a los tratamientos habituales con cirugía o yodo radiactivo. De hecho, el CAT es uno de los tumores más letales en el ser humano [7], con una tasa de supervivencia del 13 % [3].

1.3.2. Etiología del cáncer de tiroides

La etiología del cáncer de tiroides sigue siendo en parte desconocida actualmente. Se han identificado múltiples factores genéticos y ambientales implicados en la génesis de esta patología. Sin embargo, el papel específico de cada uno de ellos todavía no está claro, especialmente en el CPT [6].

Predisposición genética

Se ha descrito un fuerte componente familiar en algunos tipos de cáncer de tiroides, pero no está claro el papel de la genética en todas las histologías. Para estudiar la predisposición genética en el cáncer se suelen utilizar estudios de casos y controles, de tal modo que la razón de riesgo familiar se obtiene como la ratio entre la prevalencia familiar entre dos cohortes de probandos, una con el fenotipo de la enfermedad y la otra sin él. Se han hecho diversos estudios al respecto, en los que la razón de riesgo familiar para todos los cánceres oscilaba entre 2 y 4, sin embargo para el cáncer de tiroides se ha obtenido la razón de riesgo familiar más alta en dos estudios con series importantes realizados en Utah (razón de riesgo familiar 8.5) y en Suecia (razón de riesgo familiar 12.4). Estos datos no significan que el

cáncer de tiroides presente una predisposición genética especialmente alta, ya que debemos tener en cuenta que por lo general una misma familia suele compartir ambiente y estilo de vida, sobre todo entre familiares de primer grado. De modo, que existen otros estudios que ayudan a discernir entre el componente genético y el ambiental en estos casos, los estudios con gemelos comparando gemelos monocigotos (que comparten el 100 % de sus genes) y gemelos dicigotos (que sólo comparten el 50 % de sus genes) [6]. En este sentido también se han hecho estudios, el más importante fue realizado en Escandinavia y en él sólo se pudieron analizar muestras de gemelos para obtener datos fiables en los casos de tumores más frecuentes. En concreto, en el cáncer de tiroides no se encontró ninguna concordancia en el grupo de monocigotos que constaba de 39 miembros ni en el de dicigotos que constaba de 63, teniendo en cuenta además que se analizaron todos los tipos de tumores tiroideos. Aunque la muestra era muy pequeña para extraer conclusiones definitivas, estos resultados hacen pensar en que la predisposición genética no es tan alta [8] y que la agregación familiar en el cáncer diferenciado de tiroides se debe también en buena parte a la presencia de factores ambientales comunes [6].

Gracias a estos estudios se han descrito múltiples factores genéticos y epigenéticos en la carcinogénesis de la glándula tiroides, muchos de los cuáles están en común con otros tumores sólidos [3]. La mayoría de los datos acumulados al respecto se relacionan con mutaciones somáticas, muchas de las cuales ocurren de forma precoz en la transformación celular y por tanto, se consideran fundamentales para la carcinogénesis tiroidea. Por lo general, en el cáncer de tiroides se suelen producir mutaciones por dos mecanismos moleculares distintos, las mutaciones puntuales y los reordenamientos cromosómicos. La mayoría de las mutaciones en el cáncer de tiroides se relacionan con la vía MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinases*) y con la vía PI3K-AKT (*phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B*) [9].

Antes de describir con más detalle las mutaciones más frecuentes implicadas en el carcinoma diferenciado de tiroides, es importante conocer las dos vías de señalización molecular más frecuentemente afectadas y su implicación en la carcinogénesis, ya no sólo de la glándula tiroides:

- Vía de la MAPK: la vía de las quinasas activadas por mitógenos es una ruta de señalización intracelular evolutivamente muy conservada y es una de las cascadas moleculares con mayor importancia en la regulación de múltiples procesos celulares (diferenciación, proliferación o migración celular). Como en la mayoría de las vías

de señalización, comienza con la activación de un receptor de membrana que en ocasiones es de tipo tirosin-quinasa y en otras ocasiones, asociado a proteínas G. La cascada de señales se inicia mediante la unión de la proteína RAS¹ a un GTP o guanosintrifosfato, pasando de su forma inactiva a su forma activa. La forma activa produce, a su vez, la activación de la MAPquinasa-quinasa-quinasa o RAF, que fosforila a la MAPquinasa-quinasa o MEK. Finalmente, MEK activa a la MAPquinasa o ERK, que se trasloca al núcleo y activa mediante fosforilación a gran cantidad de sustratos como c-jun o c-Myc. Estos sustratos ponen en marcha procesos de diferenciación, proliferación o migración celular, cuya alteración forma parte de los hitos de la oncogénesis ya que puede dar lugar a la desdiferenciación, crecimiento descontrolado o invasión de otros tejidos por células malignas.

Se ha observado que la alteración de esta vía está implicada en la carcinogénesis de numerosos tumores humanos, incluido como veremos más adelante el cáncer diferenciado de tiroides. De hecho, muchas de sus proteínas efectoras se identificaron inicialmente como protooncogenes, ya que su activación aberrante es un hallazgo muy frecuente en las células tumorales [10].

- Vía PI3K-AKT: la vía de las fosfatidilinositol-3 quinazas constituye una familia de quinazas que se caracterizan por su habilidad para fosforilar el anillo 3'-OH del inositol en los fosfolípidos. La clase I de PI3Ks son heterodímeros compuestos por una subunidad catalítica y otra adaptadora o reguladora, y además se divide en otras dos subclases, la IA que se activa por proteínas con actividad tirosin-quinasa, y la IB que se activa por receptores acoplados a proteínas G. La activación se produce por la asociación de PI3K con el receptor a través de uno o dos puentes disulfuro en la subunidad adaptadora, dando lugar a una activación alostérica de la subunidad catalítica que fosforila los residuos de tirosina y esto pone en marcha el resto de la cascada a través de proteínas efectoras, entre las que se encuentra la AKT.

AKT también es conocida como PKB o proteína quinasa B y hasta el momento se han identificado tres miembros de esta familia, AKT1 (PKB α), AKT2 (PKB β) y AKT3 (PKB γ). Cuando se activa la vía, AKT interacciona con los fosfolípidos producidos por la unión de PI3K con el receptor y se produce una traslocación a la cara interna de la membrana, donde AKT sufre cambios conformacionales que exponen sus dos principales dominios de fosforilación. Una vez que ocurre esto,

¹Rat Sarcoma viral oncogene.

AKT interacciona con otra proteína efectora, PDK1², fosforilándose y activándose. La AKT activada es trascolada por mecanismos que no son bien conocidos hasta el núcleo, donde se localizan gran parte de sus sustratos, implicados en la supervivencia celular, la progresión del ciclo celular y el crecimiento celular.

Se ha observado que AKT está implicada en diferentes procesos característicos del cáncer, cuando la vía de señalización se altera. Por ejemplo, en la autonomía de la señal de crecimiento, ya que una sobreexpresión o activación constante puede llevar a una respuesta aumentada a los niveles ambientales de factores de crecimiento; la insensibilidad a las señales antiproliferativas a través de la inhibición de los procesos regulados por p53 y la inducción de p27 y p21 que promueven la proliferación; la inhibición de la apoptosis, inactivando factores proapoptóticos como la procaspasa-9 o el Fas-ligando que forma parte de la familia del factor de necrosis tumoral (TNF); el potencial replicativo ilimitado, aumentando la actividad telomerasa; la angiogénesis, a través de la activación de la óxido nítrico sintasa que a su vez activa los factores de crecimiento endotelial; y por último, la invasión y las metástasis, inhibiendo la muerte celular programada y estimulando la secreción de metaloproteasas [11].

Los genes mutados en estas vías codifican el receptor de membrana con actividad tirosinquinasa RET³ (presente en el 30 % de carcinomas papilares), también el receptor NTRK1⁴ y otros transductores intracelulares como por ejemplo BRAF⁵ (presente en el 40 % de los carcinomas papilares) o RAS (en el 15 % de los CPT de variante folicular) [7]. En estudios más recientes se han encontrado otros oncogenes importantes como el promotor TERT⁶, cuya asociación con BRAF está cobrando importancia como marcador de un pronóstico más desfavorable en el CPT [4]. En el caso de los carcinomas foliculares la mutación RAS también es relevante y PAX8/PPAR γ ⁷ se ha descrito en el 50-80 % de los CFT [7], [3], [9]. Sin embargo, debemos tener en cuenta que la mutación RAS también puede identificarse en los adenomas foliculares benignos y su papel en la progresión a carcinoma folicular aún no está clara [6]. En cuanto al carcinoma anaplásico, es importante la mutación de P53. Finalmente, en el carcinoma medular, el principal factor de riesgo genético es la mutación del proto-oncogén RET, cuya identificación es muy importante en el síndrome

²3'-phosphoinositide-dependent kinase1/kinase1

³Rearranged during transfection.

⁴Neurotrophic tyrosine kinase receptor.

⁵Proto-oncogene B-Raf.

⁶Telomerase reverse transcriptase.

⁷Peroxisome proliferator-activated receptors.

de neoplasia endocrina múltiple tipo 2 (MEN-2) [7]. A continuación, se revisan con más detenimiento cada una de esas mutaciones:

- Mutación BRAF: es una quinasa serina-treonina que produce una fosforilación que activa a MAPK, tras haber sido activada por RAS. BRAF se activa normalmente por una mutación puntual que produce una sustitución de timina por valina en la posición 1799 y de valina por glutamato en el residuo 600 (Val600Glu). Existe una alta correlación genotipo-fenotipo, y es una mutación que se detecta casi de forma exclusiva en el carcinoma papilar o el carcinoma papilar variante folicular. Esta mutación constituye el 98-99 % de todas las mutaciones de BRAF en el cáncer de tiroides, incluyendo un 40-45 % del carcinoma papilar generalmente de variante clásica y de células altas, un 20-40 % del carcinoma de tiroides pobremente diferenciado y un 30-40 % del anaplásico, sugiriendo que esta mutación favorece el paso de un estadio temprano a la dediferenciación. Existen otras mutaciones de BRAF mucho menos frecuentes que están asociadas a otras formas más raras de CDT.
- Mutación RAS: los genes RAS codifican proteínas G que transmiten información entre receptores tirosin-quinasa (TRK) y receptores acoplados a proteínas G relacionados con la vía de las MAPK y PI3K-AKT. Los codones más frecuentemente afectados de los genes RAS en el cáncer de tiroides son el 12, el 16 y el 61, dando lugar a mutaciones activadoras. Las mutaciones de RAS se pueden encontrar en un 10-20 % de los tumores papilares sobre todo de variante folicular, un 40-50 % de los foliculares y un 20-40 % de los anaplásicos y pobremente diferenciados. Esta mutación se puede encontrar también en adenomas foliculares benignos, por lo que podría ser un evento precoz en la carcinogénesis tiroidea que predisponga a la dediferenciación celular y la transformación anaplásica.
- Reordenamientos RET/PTC: consiste en un reordenamiento cromosómico por el que una porción del gen RET se fusiona con otro gen de entre muchos posibles, dando lugar a diferentes tipos de genes quiméricos en los que se mantiene la porción de RET que codifica el dominio tirosin-quinasa intacto, fusionado al promotor activo de otro gen, dando lugar a la expresión y dimerización de la proteína RET/PTC. Esto produce una estimulación crónica de la vía de señalización de las MAPK que lleva a la aparición del cáncer de tiroides. Hay diferentes tipos de reordenamiento, los más comunes son el RET/PTC1 y el RET/PTC3 y su distribución es muy heterogénea. Además se ha comprobado que el reordenamiento RET/PTC puede estar presente

en una gran proporción de células tumorales y ser detectado por múltiples métodos (fenómeno conocido como RET/PTC clonal) o bien ocurrir sólo en una pequeña fracción o incluso células aisladas y por tanto, ser detectables sólo por métodos ultrasensibles (RET/PTC no clonal). El RET/PTC clonal ocurre en un 10-20% de los carcinomas papilares y es específico de este tumor, mientras que el RET/PTC no clonal se da con mayor prevalencia en los tumores papilares pero también en otro tipo de lesiones tiroideas, incluso benignas. Esa es una de las posibles razones por la que la prevalencia varía entre diferentes series de pacientes [9].

- Promotor del gen TERT: TERT es la subunidad catalítica de la telomerasa, que juega un papel fundamental en la inmortalidad celular y la oncogénesis. Mutaciones de este promotor se han identificado en recientes estudios en aproximadamente un 7-22% de los CPT y el 14-17% de los CFT, pero con mayor prevalencia en tumores desdiferenciados. En algunas series se ha encontrado mayor frecuencia de mutaciones TERT en CPT que también tenían mutaciones BRAF, y parece que esta combinación se asocia con un peor pronóstico del tumor [4]. Las mutaciones de este gen promotor ocurren en dos puntos calientes, en las posiciones 124 y 126 cercanas al lugar de inicio AGT, confiriendo una mayor actividad del promotor [12].
- PAX8/PPAR γ : cuando el gen PAX8 se fusiona con el gen PPAR γ hay una fuerte sobreexpresión de la proteína quimérica. Esta mutación es frecuente en el carcinoma folicular (30-35%) y también en la variante folicular del carcinoma papilar. No suele superponerse con las mutaciones puntuales de RAS, lo que hace pensar que representan distintas vías patogénicas en el desarrollo de los carcinomas foliculares.
- Reordenamientos NTRK1 o TRK: los reordenamientos cromosómicos que afectan a este otro receptor también se pueden dar en los carcinomas papilares pero con menos frecuencia que el RET/PTC, en el 2-15% de los casos según la serie.

Además de las mutaciones de BRAF y RAS, que como ya hemos dicho parecen representar eventos tempranos en la carcinogénesis tiroidea y que pueden predisponer a la desdiferenciación celular, los carcinomas anaplásicos y pobremente diferenciados habitualmente presentan otras alteraciones genéticas adicionales que sólo se encuentran en este tipo de tumores y que, por tanto, parecen ser eventos más tardíos. Algunas de ellas son las mutaciones del gen TP53 que codifica la proteína p53, un importante gen supresor tumoral

que pierde su función cuando muta (50-80 % de carcinomas anaplásicos), y CTNNB1⁸ que codifica una β -catenina implicada en la adhesión celular (60 % de carcinomas anaplásicos) [9].

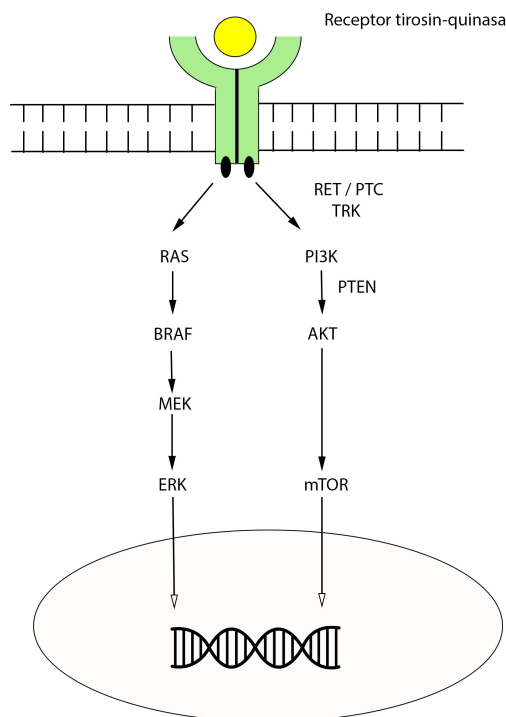


Figura 1.4: Principales vías de señalización implicadas en la carcinogénesis del tiroides. Adaptado de Nikiforov [9].

Factores de riesgo ambientales

Sabemos que la radiación ionizante es carcinogénica para la glándula tiroides y que en muchas ocasiones condiciona un peor pronóstico, apoyándonos además en los datos recogidos tras las bombas nucleares de Hiroshima y Nagasaki y el desastre nuclear de Chernobyl, ya que en ambos casos se ha observado un aumento de la incidencia del cáncer de tiroides fundamentalmente de estirpe papilar, especialmente cuando la exposición a la radiación ambiental se produjo en la infancia. En 2006 se publicaron datos de un estudio transversal en Japón entre 4091 supervivientes de las bombas de Hiroshima y Nagasaki a los que se sometió a una exploración tiroidea específica, encontrando que la prevalencia de cáncer de tiroides y patología nodular estaba claramente incrementada y relacionada con la dosis de radiación recibida (44.8 % en total, 2.2 % para tumores malignos). Estimaron que un 37 %

⁸cadherin-associated protein.

de los tumores malignos estaban relacionados con la exposición a la radiación con una dosis media de 0.449 Sievert (SV). Los datos obtenidos del desastre nuclear de Chernobyl aporta una información algo diferente, ya que las bombas supusieron una exposición a altos niveles de radiación de corta duración, mientras que en el caso de Chernobyl se trata de una exposición crónica a isótopos radiactivos ingeridos, entre ellos el radioyodo (I131 y I133). Desde 1986 se han detectado miles de carcinomas de tiroides en esa zona, aunque con una baja mortalidad. Quizá tenga también relación con este aumento de la incidencia asociada con la radiación el hecho de que se trata de una zona deficiente en yodo en la dieta, de hecho se ha observado un efecto protector de la administración de yoduro potásico incluso meses después de la explosión [13]. Recientemente se ha publicado un estudio transversal realizado entre los residentes del área de Fukushima, menores de 18 años en el momento del accidente, para establecer la prevalencia de trastornos tiroideos y su posible relación con la exposición a la radiación. Se llevó a cabo un cuestionario, una ecografía tiroidea (n 1137), análisis de sangre entre los que se incluía hormonas tiroideas (n 731), medición de yoduria (n 770) y concentración de I131 en deposiciones (n 1137). No se encontró ninguna relación significativa entre esos indicadores y tampoco se diagnosticó ningún caso de cáncer de tiroides, de modo que concluyeron que a los 20-30 meses del accidente de Fukushima no se pudo establecer ningún efecto deletéreo de la exposición a la radiación en la población menor de 18 años en aquella zona [14].

En nuestro entorno es más frecuente un nivel bajo, crónico e intermitente de exposición a este tipo de radiaciones, procedente por ejemplo de radiografías cervicales o tomografías computerizadas, así como de tratamientos con radiación ionizante [6]. De hecho, la primera vez que se observó la relación entre la exposición a la radiación ionizante y el aumento de la incidencia del cáncer de tiroides, fue en 1950 en niños sometidos a radioterapia por neoplasias del timo. Posteriormente, otros estudios confirmaron este aumento de incidencia en niños sometidos a radiación externa para el tratamiento de patologías benignas de la cabeza, el cuello y el tórax [15]. Sabemos que el tiroides del niño es un órgano muy radiosensible y se ha estimado que existe un exceso de riesgo relativo por Gray (Gy) de hasta 7.7 (intervalo de confianza al 95 % de 2.1 a 28.7) y un exceso de riesgo absoluto de 4.4 por 10000 personas/año/Gy para sujetos expuestos antes de los 15 años. De hecho parece haber una relación inversamente proporcional con la edad en el momento de la exposición. La exposición médica a radiaciones puede deberse a exploraciones dentarias, radiología intervencionista, exploraciones de medicina nuclear, tomografías computerizadas (TC) o tratamientos radioterápicos. En concreto, se cree que la TC es uno de los mayores contribuyentes a este aumento de la exposición a la radiación en la población general.

Aunque todavía no hay datos claros sobre el riesgo de cáncer en sujetos expuestos a exploraciones de este tipo, si que se han realizado estimaciones de riesgo para diferentes edades y con diferentes zonas exploradas: en general se ha estimado mayor riesgo para mujeres que para hombres y cuanto menor es la edad de exposición. Por ejemplo, en el caso del TC de tórax, que es el que mayor dosis de radiación aporta, el exceso de riesgo por cada 10000 exploraciones oscila desde 35 casos/10000 TC en recién nacidos a 11 casos/10000 TC en niños de 10 años. En el caso de la radioterapia, se ha observado que el tratamiento para múltiples tumores tales como tumores de cabeza y cuello, pulmón, linfoma, leucemia, mama y cerebro, pueden suponer una dosis de radiación para el tiroides ≥ 0.25 Gy. De hecho, el cáncer de tiroides es una de las neoplasias secundarias más frecuentes en niños que han recibido tratamiento radioterápico para el Linfoma de Hodgkin, con un riesgo acumulado en los 30 años siguientes del 4.4 % [16].

Incluso podemos ir aún más lejos en la asociación entre factores genéticos y ambientales: hay una alta asociación entre los reordenamientos cromosómicos específicos del carcinoma papilar y la exposición a la radiación ionizante. Por ejemplo, el reordenamiento RET/PTC está presente en más o menos el 80 % de los sujetos con carcinoma papilar que además han estado sometidos a radiación ionizante. Este hecho se ha observado después del accidente de Chernobyl. Algo similar se ha visto con el reordenamiento BRAF/AKAT9. De hecho, estas dos mutaciones son más frecuentes en aquellos que desarrollaron carcinoma papilar en los primeros diez años tras el accidente, comparados con aquellos que desarrollaron la enfermedad más tarde. Por otra parte, se ha observado un fenómeno opuesto para las mutaciones puntuales en BRAF y RAS, que son menos frecuentes en los tumores relacionados con la radiación. La misma asociación se encontró en los pacientes con carcinoma papilar relacionado con las bombas de Hiroshima y Nagasaki. Esta relación entre radiación ionizante y reordenamientos cromosómicos se ha podido reproducir in vitro y parece que podría estar relacionada con la localización de los genes en la arquitectura nuclear o con la fragilidad cromosómica [9].

Hay otros factores ambientales menos conocidos, como la ingesta de yodo (tanto por exceso como por defecto) o la tiroiditis de Hashimoto [6]. Parece que el exceso de yodo puede estar relacionado con el carcinoma papilar, mientras que el defecto de yodo en la dieta podría tener relación con el carcinoma folicular [15]. En un estudio llevado a cabo en China en el que se observaron más de 1000 casos de carcinoma papilar en una región con alto contenido de yodo en el agua, se estableció una OR de 1.97 para la asociación entre el carcinoma papilar con una mutación BRAF Val600Glu y ese alto contenido en yodo del agua [9].

Los datos respecto a la tiroiditis de Hashimoto son contradictorios a pesar de que se han llevado a cabo múltiples estudios y de que se conoce la relación entre inflamación crónica y cáncer. En un estudio reciente realizado por Azizi et al, se analizaron de forma prospectiva los datos de 2100 pacientes con 2753 nódulos tiroideos con el fin de establecer la relación entre la tiroiditis de Hashimoto y el cáncer de tiroides. Encontraron que la presencia de anticuerpos antitiroglobulina (OR 2.24) y la $TSH \geq 1$ mUI/L (OR 1.49) eran predictores independientes para el cáncer de tiroides en el análisis multivariante corregido por sexo y edad. Sin embargo, no hallaron relación con la presencia de anticuerpos antiperoxidasa, lo que sugiere que la relación es anticuerpo específica [17]. En una revisión, también muy reciente, Noureldine et al recogen la información de numerosos estudios llevados a cabo en pacientes sometidos a tiroidectomía y con antecedentes de tiroiditis de Hashimoto en los que se ha reportado una mayor prevalencia de carcinoma papilar, en general con una evolución favorable y buen pronóstico especialmente en mujeres. Sin embargo, en los estudios llevados a cabo en muestras procedentes de punciones con aguja fina no se ha encontrado esa asociación. Concluyen, por tanto, que la tiroiditis de Hashimoto se podría asociar al carcinoma papilar y que podría constituir un factor de riesgo para el desarrollo de este tipo de tumores [18].

En cuanto a las mutaciones puntuales, también se ha observado relación con algunos factores ambientales. Por ejemplo, un estudio llevado a cabo en China, mostró una alta prevalencia de mutaciones puntuales de BRAF en pacientes con carcinoma papilar procedentes de regiones en las que el agua tiene un alto contenido en yodo comparado con otras regiones donde este contenido es normal. Otro estudio mostró resultados similares con mutaciones de BRAF en una región volcánica en la que el agua tenía un alto contenido en hierro, boro, vanadio y manganeso entre otros. Estos datos son consistentes con el hecho de que las islas hawaianas pertenecen a una región del mundo con una alta incidencia de cáncer de tiroides, aunque la prevalencia de las mutaciones BRAF en esta área todavía no ha sido reportada [9].

Se puede concluir que hay una predisposición genética al cáncer diferenciado de tiroides y en el caso del papilar, parece ser debido a una variedad de mutaciones genéticas que pueden ser comunes y de baja penetrancia o raras y de alta penetrancia. También parece que la interacción con factores ambientales juega un importante papel. Sin embargo, otra nueva idea emergente, sugiere que los genes responsables podrían no ser de los genes comunes codificantes de proteínas, sino genes no codificantes que han sido recientemente identificados, como por ejemplo los microRNA (miR) [6]. Existe un creciente interés en

este tipo de genes en los últimos años, que resumiremos en próximas secciones.

1.3.3. Presentación clínica

El carcinoma diferenciado de tiroides se suele presentar como un nódulo a nivel cervical, generalmente único, en muchas ocasiones detectado de forma incidental y que según la histología del tumor y sobre todo su tamaño y su velocidad de crecimiento, puede estar acompañado de otra sintomatología: molestias cervicales como disnea, disfagia, disfonía por afectación del nervio laríngeo recurrente, dolor cervical anterior o compresión de otras estructuras vecinas vasculares en casos más graves. En función de la histología del tumor, la clínica suele variar:

- Carcinoma papilar: es más frecuente entre la tercera y la quinta década de la vida, con una edad media de presentación de 45 años. Es también más frecuente en mujeres, el 60-80 % de los casos, la mayoría son menores de 4 cm y el incremento de la incidencia en los últimos años parecer ser debido a las formas micropapilares. Por otra parte, suele ser multifocal, bilateral entre un 20-80 % de los casos, la invasión extratiroidea está presente en un 15 % de los pacientes y en un tercio de ellos ya hay metástasis linfáticas regionales al diagnóstico. Sólo de un 1 a un 7 % de los pacientes tiene metástasis a distancia al diagnóstico.
- Carcinoma folicular: habitualmente aparece en edades más avanzadas de la vida que el papilar, con una edad media de 50 años, e incluso 60 años en el de células de Hürthle. Es dos veces más frecuente en mujeres que en hombres y en la mayoría de los casos se diagnostica como un nódulo solitario sin evidencia de metástasis ganglionares. Respecto al tamaño del tumor suelen ser mayores que los papilares y entre un 5-20 % de los pacientes presentan metástasis a distancia en el momento del diagnóstico, lo más frecuente óseas o pulmonares.
- Carcinoma anaplásico: la forma más frecuente de presentación es una gran masa cervical de rápido crecimiento, habitualmente dolorosa y de consistencia pétreas, con invasión de las estructuras adyacentes, que causa disnea, disfagia o disfonía. Las metástasis son frecuentes al diagnóstico [2].

1.3.4. Diagnóstico

Como dijimos en la sección anterior, el cáncer de tiroides aparece habitualmente como un nódulo solitario, por tanto el procedimiento diagnóstico comienza casi siempre con la evaluación de la patología tiroidea nodular. En la última guía de la *American Thyroid Association* (ATA), publicada en 2015, se han modificado los criterios de evaluación del nódulo tiroideo respecto a guías anteriores. En general, los nódulos >1 cm deben ser estudiados y los <1 cm no es necesario analizarlos, salvo que tengamos hallazgos ecográficos sospechosos, adenopatías patológicas o factores clínicos de alto riesgo que nos hagan plantearnos realizar una punción, como los siguientes:

- Radioterapia de cabeza/cuello en la infancia o la adolescencia.
- Irradiación corporal total accidental o para trasplante de médula ósea en la infancia o la adolescencia.
- Carcinoma tiroideo familiar.
- Síndromes que asocian carcinoma tiroideo (síndrome de Cowden, poliposis adenomatosa familiar, complejo de Carney, síndrome de Werner o síndrome DICER1⁹).
- Crecimiento rápido de un nódulo y/o disnea.
- Parálisis de cuerdas vocales.
- Adenopatías cervicales.
- Fijación del nódulo a estructuras vecinas.

En primer lugar, ante un paciente con un nódulo tiroideo, es fundamental hacer una evaluación morfofuncional que incluya medición de la TSH sérica y en ocasiones otras mediciones analíticas como la calcitonina si tenemos datos de sospecha para carcinoma medular, la ecografía tiroidea y la punción-aspiración con aguja fina (PAAF) guiada por ecografía, cuando sea preciso. También puede ser necesario un PET-18FDG¹⁰ o una gammagrafía tiroidea [4].

⁹Síndrome de blastoma pleuropulmonar

¹⁰tomografía por emisión de positrones con 18-fluorodesoxiglucosa

Respecto a la determinación de la TSH sérica, es importante conocer las posibles alteraciones de la función tiroidea que pueden presentar los pacientes con nódulos. Además, debemos tener en cuenta que una TSH elevada o en el límite superior de la normalidad se asocia con un mayor riesgo de malignidad y un estadio más avanzado del tumor en caso de ser maligno [19]. Otras determinaciones como la tiroglobulina no se consideran necesarias, ya que suele estar elevada en la mayoría de las patologías tiroideas y no es sensible ni específico para el diagnóstico del cáncer de tiroides [20]. Sin embargo, la calcitonina sí puede ser útil cuando se sospecha un tumor diferente del carcinoma papilar en la punción o en aquellos pacientes en los que a priori no se va a realizar una tiroidectomía total. Cuando la calcitonina es >500 pg/ml debemos sospechar de la presencia de enfermedad metastásica, por lo que debemos hacer estudio de extensión que puede cambiar el procedimiento quirúrgico hacia una cirugía con intención paliativa. Por eso, medir la calcitonina de forma preoperatoria en el carcinoma medular es obligatorio [21] [22].

En cuanto a las pruebas de imagen, la ecografía tiroidea es el método de elección en la evaluación de un nódulo tiroideo. Siempre debemos evaluar las características del parénquima y el tamaño glandular, las características del nódulo (tamaño en 3 dimensiones, localización, composición, ecogenicidad, márgenes, presencia de calcificaciones y vascularización), así como la presencia de adenopatías [4]. Las características ecográficas del nódulo pueden ser de ayuda en el diagnóstico, ya que se han identificado una serie de rasgos con alta probabilidad de ser benignos como por ejemplo un componente quístico predominante o una apariencia esponjiforme que en algunas series tiene un valor predictivo negativo de hasta el 98.5%. Por otra parte, hay otras características con una alta probabilidad de malignidad: las de mayor especificidad son las microcalcificaciones solas o acompañadas de macrocalcificaciones o calcificaciones periféricas aisladas, los márgenes irregulares, infiltrativos, microlobulados o espiculados y un aspecto más alto que ancho en el corte transversal. Otros de menor especificidad son la hipoeogenicidad del nódulo respecto al tejido tiroideo normal o el aumento de la vascularización intranodular. Ninguna de estas características por sí solas, salvo la presencia de adenopatías sospechosas, tiene una sensibilidad o especificidad adecuada para identificar malignidad. No obstante, algunas de ellas o su combinación tienen un alto valor predictivo para sospechar malignidad [23] [24] [25]. Además, el estudio ecográfico también puede ser útil para diferenciar el carcinoma papilar del folicular de acuerdo a algunos datos: el papilar suele ser sólido, hipoeoico, con microcalcificaciones, con márgenes infiltrativos y aumento de la vascularidad intranodular; sin embargo el folicular suele ser iso-hiperecogénico y suele tener un halo fino e irregular, pero sin microcalcificaciones [26]. En la figura 1.5 se muestran los patrones ecográficos y

el riesgo de malignidad según la última guía de la ATA [4].

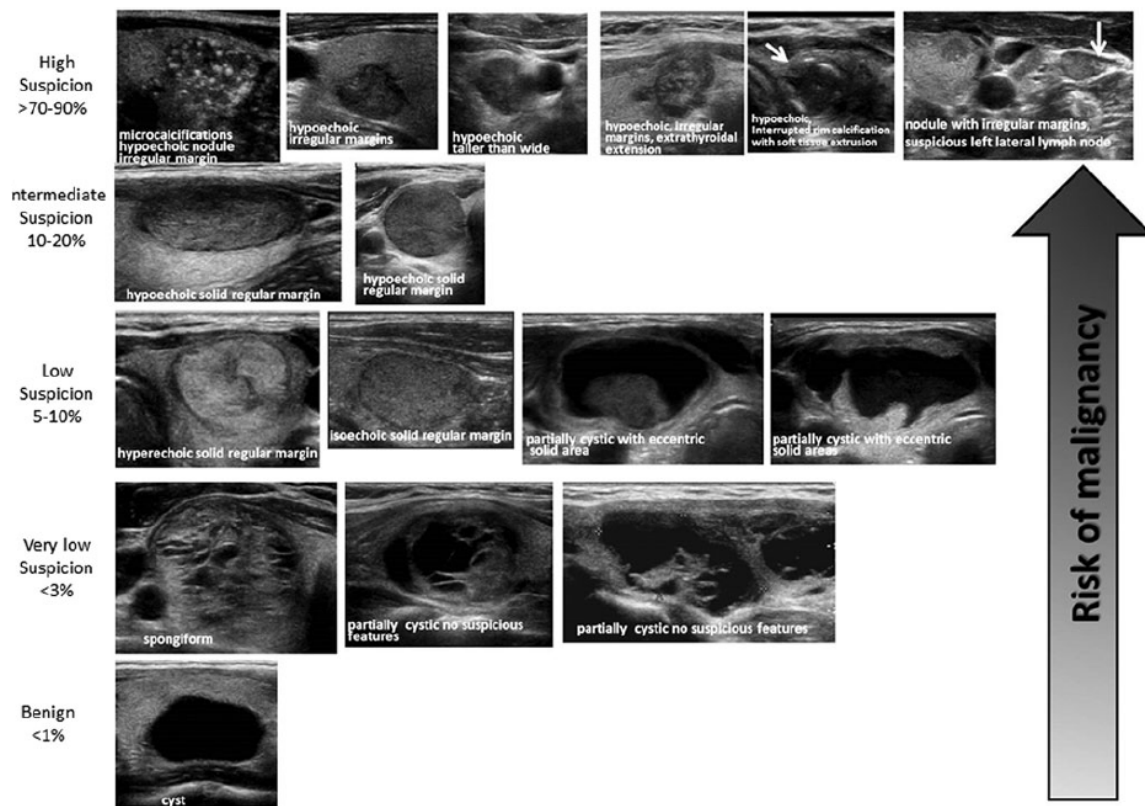


Figura 1.5: Patrones ecográficos y riesgo de malignidad [4]

Otras pruebas de imagen pueden ser útiles en el diagnóstico del cáncer de tiroides. Por ejemplo la gammagrafía tiroidea, que muestra los nódulos malignos como fríos o lesiones hipofuncionantes, aunque estos hallazgos no son específicos ni diagnósticos. Este es el motivo de que esta prueba se limite a aquellos pacientes con hipertiroidismo y nódulos de citología indeterminada. La tomografía computerizada (TC) y la resonancia magnética (RM) no son útiles en la valoración inicial de los nódulos tiroideos [3]. Otro ejemplo es el PET-18FDG que podría ayudarnos complementando a la ecografía, ya que la captación focal de un nódulo confirmado por ecografía tiene un riesgo de malignidad del 33% y debe ser evaluado como un nódulo de alta sospecha ecográfica de malignidad [4].

El análisis mediante estudio citológico tras una punción-aspiración con aguja fina (PAAF) es la mejor aproximación diagnóstica y su indicación se establece en función de las características del estudio ecográfico como se muestra en la figura 1.6. Como puede observarse en dicha tabla, en nódulos menores de 1 cm en principio no está indicada la PAAF, salvo que haya evidencia de extensión extratiroidea o adenopatías sospechosas o según las pre-

1.3. CÁNCER DIFERENCIADO DE TIROIDES

ferencias del paciente [4]. Esta aproximación es útil en el carcinoma papilar, el anaplásico y el medular, pero no en el caso del folicular, ya que el estudio citológico es insuficiente para diferenciar entre un adenoma y un carcinoma de esta histología. Para ello es necesario el estudio histológico de la pieza quirúrgica, ya que la forma de diferenciarlo es la presencia de invasión capsular o vascular, que son signos inequívocos de malignidad. Un análisis intraoperatorio de una muestra puede ser útil para confirmar la malignidad del tumor y elegir la mejor técnica quirúrgica [5]. En caso de haber identificado adenopatías sospechosas en la ecografía, también deben puncionarse y determinar tiroglobulina en el lavado de la aguja de punción independientemente del resultado de la citología nodular (en caso de sospechar carcinoma medular, debemos medir la calcitonina) [4].

Ecografía	Hallazgos	Riesgo	PAAF
Alta sospecha	Sólido hipoecoico con o sin componente quístico con alguno de los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> • Márgenes irregulares. • Microcalcificaciones. • Más alto que ancho. • Extensión extratiroidea. 	>70-90%	≥ 1 cm
Sospecha Intermedia	Sólido Hipoecoico con o sin componente quístico y con márgenes regulares sin: <ul style="list-style-type: none"> • Microcalcificaciones. • Más alto que ancho. • Extensión extratiroidea. 	10-20%	≥ 1 cm
Baja sospecha	Sólido Isoecoico, hiperecoico, o quístico con áreas sólidas excéntricas, sin signos de sospecha.	5-10%	≥ 1,5 cm
Muy baja sospecha	Espongiforme o parcialmente quístico.	< 3%	≥ 2 cm u observación
Benigno	Puramente quístico.	< 1%	No

Figura 1.6: Indicaciones de PAAF según patrón ecográfico [4].

Aunque la PAAF es la herramienta diagnóstica más utilizada en el cáncer de tiroides, presenta algunos desafíos. Hay 6 posibles categorías diagnósticas en el resultado de una PAAF, según la clasificación de Bethesda:

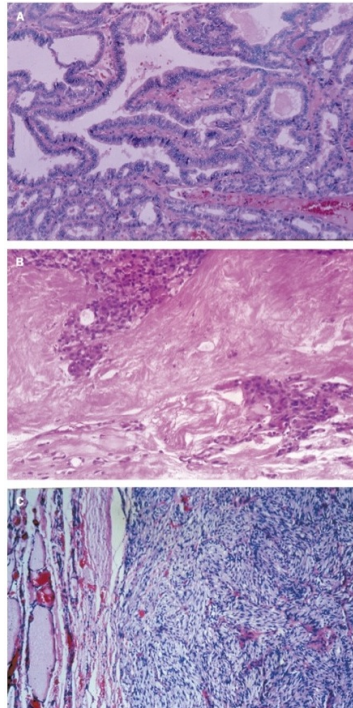


Figura 1.7: Histología. A: Carcinoma papilar, B: Carcinoma folicular, C: Carcinoma medular [3].

- (1) No diagnóstica/insatisfactoria: aquellas citologías que no reúnen los criterios específicos para el diagnóstico (presencia de al menos 6 grupos de células foliculares y que cada uno contenga entre 10-15 células derivadas de al menos dos aspirados del nódulo).
- (2) Benigna: compatible con nódulo folicular benigno, nódulo coloide, sugestivo de tiroiditis linfocitaria, granulomatosa o enfermedad de Graves.
- (3) Lesiones foliculares de significado incierto/atipia de significado indeterminado (AUS): tienen un riesgo de malignidad de entre el 5-10%. Se refiere a aquellas lesiones que contienen células con atipia pero que no es suficiente para clasificarla como maligna o sospechosa de malignidad. Se debería subdividir en atipia citológica (con mayor riesgo de malignidad) y atipia arquitectónica (con menor riesgo de malignidad).
- (4) Neoplasia folicular o sospechoso de neoplasia folicular/ neoplasia de células de Hürthle o sospechoso de neoplasia de células de Hürthle (FN): tienen un riesgo de malignidad del 15-30%. En este grupo es necesario especificar si son células de

Hürthle.

- (5) Sospechoso de malignidad (SUSP): en este caso el riesgo de malignidad es de un 50 a un 70 %.
- (6) Maligno: el riesgo de malignidad es del 95 % y el estudio citológico sugiere carcinoma papilar, anaplásico, medular, linfoma, etc [27].

Un aspecto muy importante a tener en cuenta, como ya se mencionó previamente, es la dificultad para interpretar la citología en los casos de Bethesda 3 y 4, lo que puede dar lugar a lobectomías innecesarias en hasta un 60-90 % de los casos, en los que posteriormente el análisis histológico de la pieza quirúrgica resulta benigno. Por ello se han buscado nuevas aproximaciones que pueden mejorar la rentabilidad de la citología en este tipo de lesiones. El análisis molecular se ha probado para mutaciones puntuales o para una batería de mutaciones. Las mutaciones BRAF que son positivas en un 15-40 % de las citologías indeterminadas, parecen ser un buen marcador de cáncer en los nódulos tiroideos, indicando que el riesgo de malignidad es mayor del 99 %. Otros estudios han probado baterías de mutaciones incluyendo BRAF y mutaciones puntuales de RAS, así como reordenamientos de RET/PTC y PAX8/PPAR γ . Sus resultados sugieren que el hecho de encontrar cualquiera de estas mutaciones es un fuerte factor predictor de malignidad, especialmente en la presencia de BRAF, RET/PTC o PAX8/PPAR γ , correlacionado este último con malignidad en el 100 % de los casos. El diagnóstico molecular también puede mejorar la aproximación quirúrgica en estos pacientes, evitando la necesidad de una segunda cirugía una vez se confirma malignidad por el análisis histológico. Incluso podría ser útil en el manejo postquirúrgico ya que algunas mutaciones se han relacionado con características histopatológicas más agresivas [9] [4].

1.3.5. Tratamiento inicial

Estudio preoperatorio

El tratamiento de elección en el carcinoma diferenciado de tiroides es la cirugía, como detallaremos a continuación. Antes de la intervención es importante realizar un correcto estudio preoperatorio que permita la elección de la técnica quirúrgica más apropiada en cada caso. Las nuevas guías de la ATA, recomiendan realizar una ecografía cervical que incluya el estudio del compartimento central y los compartimentos laterales en todos aque-

llos pacientes con una citología o estudio molecular sugestivo o sospechoso de malignidad. Además, se debe también realizar una PAAF de todas aquellas adenopatías con un más de 8-10 mm de diámetro menor antes de la cirugía [4]. Debemos tener en cuenta que las metástasis ganglionares son muy frecuentes en el carcinoma papilar (20-50 %), llegando incluso al 90 % si hablamos de micrometástasis, pero su repercusión clínica es muy baja en comparación a las macrometástasis [28] [29]. Por otra parte, la ecografía sólo es capaz de detectar la mitad de las metástasis que se encuentran en la cirugía [30]. La medición de tiroglobulina en el lavado de la PAAF puede aumentar la capacidad diagnóstica pero no hay consenso en cuanto al punto de corte y puede haber falsos positivos, sobre todo en el compartimento central en pacientes con tiroides aún intacto [31]. El TC o la RMN pueden ser de utilidad en pacientes en los que se sospecha enfermedad avanzada y el PET preoperatorio no está recomendado. Tampoco se recomienda el estudio preoperatorio de tiroglobulina y anticuerpos antitiroglobulina [4].

Tratamiento

Como hemos dicho anteriormente, el tratamiento de elección del carcinoma diferenciado de tiroides es la cirugía en la mayoría de los casos. En los últimos años ha existido cierta controversia en cuanto a la extensión de la cirugía, ya que hasta hace poco el tratamiento preferido ha sido la tiroidectomía total con linfadenectomía cuando es necesario. Se ha considerado preferible la tiroidectomía total a la hemitiroidectomía, porque el carcinoma papilar suele ser multifocal en el 60-85 % de los casos, de un 5-10 % de las recurrencias después de una hemitiroidectomía aparecen en el lóbulo contralateral y la efectividad de la ablación con yodo radiactivo y la especificidad de la tiroglobulina sérica como marcador tumoral, son mayores con la mínima cantidad de tejido tiroideo remanente [32]. Sin embargo, la última guía de la ATA especifica un poco más acerca de las técnicas quirúrgicas:

- Tiroidectomía total o casi total y exéresis de todo el tumor posible: para tumores >4cm, con extensión extratiroidea grosera, adenopatías metastásicas (confirmadas o clínicamente sugestivas) o metástasis a distancia.
- Tiroidectomía total, casi total o lobectomía: para tumores entre 1 y 4 cm sin enfermedad extratiroidea conocida tras el estudio preoperatorio de extensión linfática. La lobectomía es una opción disponible para tumores papilares o foliculares de bajo grado, aunque debe tomarse la decisión por parte de un equipo multidisciplinar

teniendo en cuenta un posible tratamiento con radioyodo.

- Lobectomía: para tumores < 1 cm sin extensión extratiroidea conocida tras el estudio de extensión linfática preoperatorio, salvo que haya una indicación clara para completar la tiroidectomía. Por ejemplo, la lobectomía se considera suficiente en microcarcinomas únicos en los que no hay factores de riesgo tales como radiación cervical, historia familiar de cáncer de tiroides o presencia de adenopatías o metástasis a distancia [4] [33] [34] [35].

En los últimos años, también ha sido un tema muy discutido el vaciamiento ganglionar profiláctico. Sabemos que hay metástasis ganglionares regionales en el momento del diagnóstico en el 20 al 90% de los casos de carcinoma papilar y en menor proporción en otros tipos histológicos [36]. Se ha publicado que las metástasis ganglionares del carcinoma papilar no tienen un efecto importante en la evolución de los pacientes con bajo riesgo, pero sí que pueden empeorar la supervivencia en pacientes con otros factores de riesgo como la edad superior a 45 años, metástasis a distancia o tumores de gran tamaño [37]. También se ha comprobado que el riesgo de recidiva local es mayor en los pacientes con metástasis ganglionares, especialmente en los que tienen metástasis múltiples y/o extensión extracapsular [38].

En la figura 1.8 quedan representados los diferentes niveles y subniveles de los compartimentos ganglionares del cuello. La glándula tiroides está localizada en el nivel VI, donde también se incluyen los ganglio linfáticos limitados en su región superior por el hueso hioides, lateralmente por las vainas de las carótidas e inferiormente por el tronco braquiocéfálico. Los niveles II, III y IV contienen nódulos localizados a lo largo de las venas yugulares en cada lado y están delimitados anteromedialmente por el nivel VI y lateralmente por el borde posterior del músculo esternocleidomastoideo. Los nódulos del nivel III están limitados en su parte superior por el nivel del hueso hioides e inferiormente por el nivel del cartílago cricoides, mientras que el nivel II está por encima del nivel III y el IV por debajo del mismo. El nivel I incluye los nódulos submentonianos y submandibulares sobre el hioides. Finalmente, el nivel V corresponde al triángulo posterior del cuello, lateral al borde lateral del músculo esternocleidomastoideo [39]. En su reciente guía, la ATA recomienda realizar el vaciamiento del espacio central o nivel VI cuando se haya demostrado la presencia de adenopatías en el estudio preoperatorio o durante la cirugía. En cuanto al vaciamiento profiláctico de dicho compartimento, ya sea ipsilateral o bilateral, queda recomendada para pacientes con tumores localmente avanzados (T3 y T4), con

adenopatías laterales clínicamente malignas o cuando la información de dicho vaciamiento se utiliza para la planificación del tratamiento, pero con un grado de recomendación y un grado de evidencia bajos. Se considera apropiada la tiroidectomía sin vaciamiento ganglionar central en pacientes con tumores pequeños (T1 y T2), no invasivos y sin hallazgos de adenopatías sospechosas. Por último, el vaciamiento del compartimento lateral se debe realizar sólo en el caso de que haya adenopatías confirmadas como metástasis mediante biopsia [4].

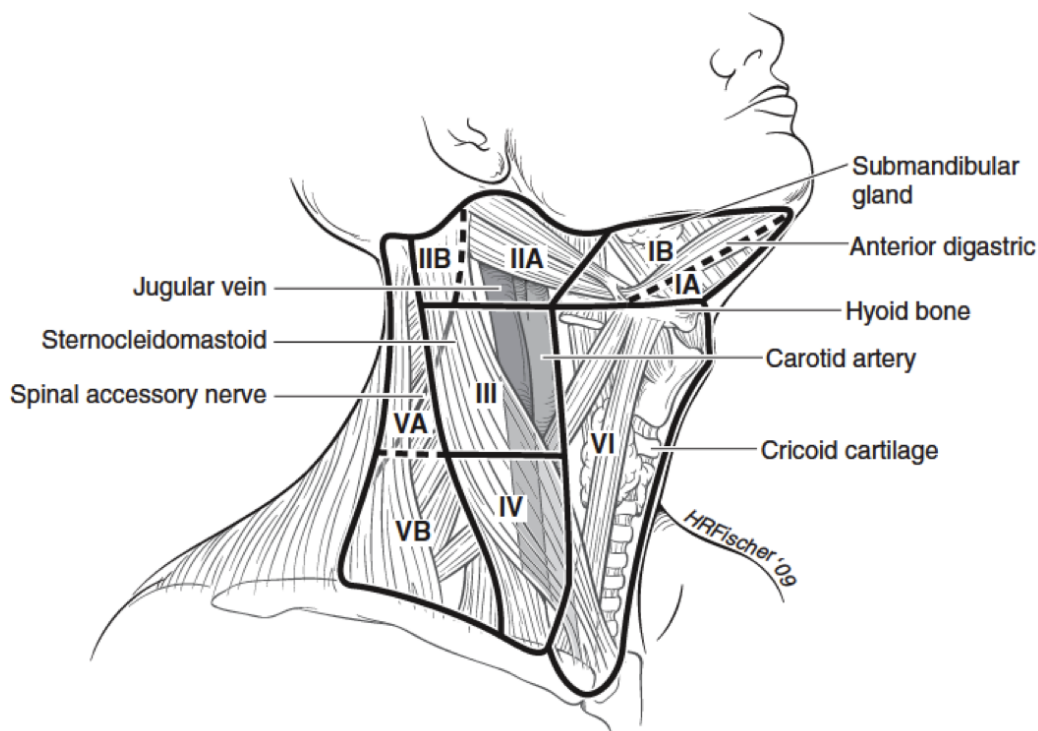


Figura 1.8: Compartimentos ganglionares del cuello [39]

La cirugía de tiroides no está exenta de complicaciones. La parálisis laríngea permanente aparece en menos del 2% de los casos cuando la cirugía la practica un cirujano experimentado, sin embargo la disfunción vocal transitoria es más frecuente. En la mayoría de los casos se resuelve espontáneamente en cuestión de 1 a 6 meses. Sin embargo, a veces los pacientes pueden necesitar terapia vocal o incluso cirugía en el caso de la parálisis laríngea permanente [5]. De hecho se recomienda la valoración preoperatoria de la voz y sus posibles cambios, así como realizar una valoración por otorrinolaringología preoperatoria en aquellos pacientes que presentan alteraciones en la voz previas a la cirugía, historia de cirugía anterior en la zona o evidencia preoperatoria de extensión extratiroidea posterior o metástasis ganglionares centrales [4].

Otra posible complicación es el hipoparatiroidismo después de la tiroidectomía total con o sin trasplante de paratiroides. En un tercio de los casos aparece hipocalcemia, pero sólo persiste más de 3 meses en menos de un 2% de ellos. Por ese motivo, se debe medir el calcio sérico el día posterior a la cirugía y en el seguimiento, así como la hormona paratiroidea (PTH) en los casos límite. Se debe tratar con suplementos de calcio, con o sin derivados de la vitamina D si es necesario [5].

1.3.6. Clasificación postoperatoria del riesgo de recurrencia y mortalidad

Tras la cirugía los pacientes se clasifican de acuerdo a dos criterios: la mortalidad que queda definida por la clasificación TNM de la *International Union Against Cancer/ American Joint Committee on Cancer*; y por otro lado la escala de riesgo de recurrencia. El sistema de estadificación TNM de la UICC/AJCC [40] es el factor más importante para determinar la mortalidad en el cáncer diferenciado de tiroides y por tanto para decidir el tratamiento más adecuado y el protocolo de seguimiento correspondiente. Este sistema de estadificación se basa en el tamaño del tumor, la invasión extratiroidea, la presencia de metástasis ganglionares y de metástasis a distancia. La clasificación puede mejorar si se añaden otros aspectos como la extensión de la afectación linfática, las mutaciones encontradas y el grado de invasión vascular en el CFT, si bien este beneficio no ha sido establecido todavía. Aunque no está recomendado para la estadificación inicial, las mutaciones de BRAF y otros como el TERT pueden tener valor potencial para estimar el riesgo de los pacientes dentro del contexto clínico-patológico. El sistema TNM para el cáncer de tiroides de estirpe folicular queda recogido en la tabla 1.1.

Una vez establecida la clasificación TNM del tumor, el siguiente paso es la estadificación combinando el TNM con la edad del paciente tal como se muestra en la tabla 1.2. De forma que todos los pacientes menores de 45 años quedan clasificados como de bajo riesgo (estadios I y II) y todos los mayores de 45 años que además presenten extensión extratiroidea, afectación de la cápsula, vascular o linfática, adenopatías o metástasis a distancia, quedarán clasificados como de alto riesgo (estadios III y IV) [4].

En los últimos años, Tuttle ha popularizado la estratificación dinámica del riesgo en el carcinoma diferenciado de tiroides, teniendo en cuenta la respuesta al tratamiento para modificar las predicciones de riesgo iniciales. Esta idea de la estratificación dinámica tiene su fundamento en el manejo individualizado del cáncer de tiroides que propone

Tabla 1.1: Clasificación TNM del cáncer diferenciado de tiroides [4]

T: Características del tumor	<p>T0: no evidencia de tumor primario.</p> <p>T1a: tumor ≤ 1 cm en su diámetro mayor, limitado al tiroides.</p> <p>T1b: tumor ≤ 2 cm pero > 1 cm en su diámetro mayor, limitado al tiroides.</p> <p>T2: tumor > 2 cm pero no > 4 cm en su diámetro mayor, limitado al tiroides.</p> <p>T3: tumor > 4 cm en su diámetro mayor, limitado al tiroides o cualquier tumor con mínima extensión extratiroidea.</p> <p>T4a: tumor de cualquier tamaño extendido más allá de la cápsula tiroidea para invadir el tejido subcutáneo, la laringe, la tráquea, el esófago o el nervio laríngeo recurrente.</p> <p>T4b: tumor que invade la fascia prevertebral o encierra la arteria carótida o los vasos mediastínicos. Todos los carcinomas anaplásicos se consideran T4.</p>
N: metástasis ganglionares	<p>Nx: los ganglios regionales no pueden ser evaluados.</p> <p>N0: ausencia de metástasis ganglionares regionales.</p> <p>N1a: metástasis hasta el nivel VI (pretraqueal, paratraqueal y prelaríngeo).</p> <p>N1b: metástasis unilaterales, bilaterales o contralaterales hasta los ganglios cervicales o mediastínicos superiores.</p>
M: Metástasis a distancia	<p>Mx: las metástasis a distancia no pueden ser evaluadas.</p> <p>M0: sin metástasis a distancia.</p> <p>M1: presencia de metástasis a distancia.</p>

Tabla 1.2: Estadiaje del cáncer diferenciado de tiroides [5] [4]

Menores de 45 años	<p>Estadio I: Cualquier T, cualquier N, M0.</p> <p>Estadio II: Cualquier T, cualquier N, M1.</p>
Mayores de 45 años	<p>Estadio I: T1a/T1b, N0, M0.</p> <p>Estadio II: T2, N0, M0.</p> <p>Estadio III: T1a/T1bN1aM0, T2N1a M0, T3N0/N1aM0.</p> <p>Estadio IVA: T1a/T1bN1bM0, T2N1bM0, T3N1bM0, T4aN0/N1a/N1bM0.</p> <p>Estadio IVB: T4b, cualquier N, M0.</p> <p>Estadio IVC: cualquier T, cualquier N, M1.</p>

la última guía de la ATA, en la que se recomienda la estadificación postoperatoria no sólo para establecer el pronóstico, sino también para tomar decisiones sobre la terapia

adyuvante con I^{131} , el grado de supresión de la TSH necesario y la frecuencia y tipo de seguimiento posterior. Además del uso de la clasificación TNM, la ATA también propone un sistema de clasificación basado en características clinicopatológicas que podría ayudar a mejorar la valoración pronóstica ya que informa del riesgo de recurrencia o persistencia de la enfermedad, fundamental para decidir la actitud terapéutica. Estas características se recogen en la tabla 1.3 y en la figura 1.9 [4] [41] [42] [43]. El problema principal de este sistema es que es una representación estática del paciente tras la terapia inicial y no está diseñada para ir modificándose en función del curso clínico de la enfermedad. De hecho, si tenemos en cuenta que la cirugía inicial y la ablación con radioyodo es lo que más impacto tiene en la evolución posterior de la enfermedad, no poder tenerlo en cuenta nos llevará a pronósticos demasiado pesimistas para los pacientes de alto riesgo que quizá tengan una respuesta excelente al tratamiento inicial, o demasiado optimista en pacientes de bajo riesgo que no responden tan bien como se esperaba [44].

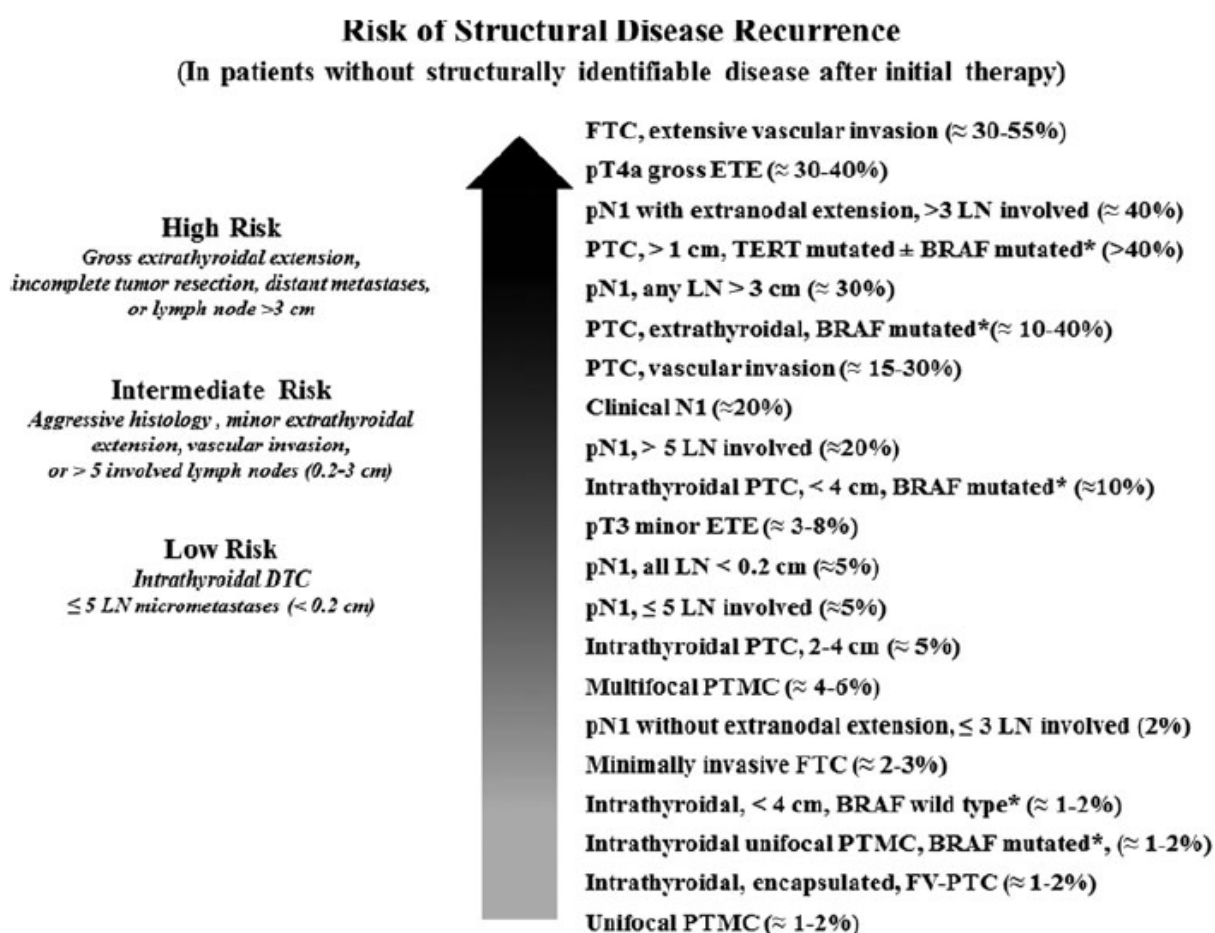


Figura 1.9: Riesgo de recurrencia de enfermedad estructural [4]

Tabla 1.3: Clasificación inicial del riesgo de recurrencia según la ATA. [39] [4]

<p>Bajo riesgo: cumple todos los siguientes</p>	<p>Ausencia de metástasis locales o a distancia. Resección completa del tumor macroscópico. Ausencia de invasión de tejidos adyacentes. El tumor no tiene una histología agresiva: células altas, insular, células columnares, células de Hürthle o carcinoma folicular salvo que sea mínimamente invasivo. Ausencia de invasión vascular o invasión vascular mínima. Menos de 5 adenopatías afectadas con micrometástasis. Ausencia de captación de I^{131} fuera del lecho tiroideo en el rastreo postablación, si se ha realizado. La presencia de una mutación BRAF V600E en tumores papilares unifocales y menores de 1 cm, o multifocales siempre que sean intratiroides.</p>
<p>Riesgo intermedio: cualquiera de los siguientes se cumple</p>	<p>Invasión microscópica de los tejidos blandos peritiroideos. Metástasis ganglionares cervicales o captación de I^{131} fuera del lecho tiroideo postablación. Afectación de más de 5 adenopatías siempre que sean menores de 3 cm. Carcinoma papilar intratiroideo de 1-4 cm con mutación BRAF V600E, con extensión extratiroidea o microcarcinomas multifocales con dicha mutación. Tumor con histología agresiva: células altas, insular, células columnares, células de Hürthle o carcinoma folicular.</p>
<p>Alto riesgo: cualquiera de los siguientes se cumple</p>	<p>Invasión macroscópica. Resección incompleta del tumor con restos groseros. Adenopatías metastásicas mayores de 3 cm. Carcinomas foliculares con invasión vascular extensa. Presencia de metástasis a distancia.</p>

Para intentar solucionar estas limitaciones, Tuttle et al desarrollaron en 2010 un esquema de estratificación del riesgo en el que los datos clínicos obtenidos en los dos primeros años del seguimiento, son utilizados para evaluar la respuesta al tratamiento como excelente, aceptable o incompleta. Elaboraron este sistema basándose en los estudios previos que demostraban que el riesgo de recurrencia o persistencia de la enfermedad se altera por la extensión de la cirugía inicial, los cambios en la Tg sérica o los anticuerpos antiTg en el tiempo, el grado de avidéz de las metástasis pulmonares por el radioyodo, la presencia de una Tg estimulada indetectable combinada con ecografías negativas en pacientes de bajo

riesgo y PET con 18-fluorodesoxiglucosa en pacientes de alto riesgo. Una vez confeccionado este sistema de estratificación del riesgo, procedieron a validarlo mediante una revisión retrospectiva de 588 pacientes con cáncer de tiroides con una media de seguimiento de 7 años en un único centro de referencia de tercer nivel. En sus resultados confirmaron que la escala de riesgo de la ATA es un predictor inicial bueno del riesgo de recurrencia o persistencia de la enfermedad, pero que debe incorporar la valoración de la respuesta al tratamiento en el seguimiento posterior para poder modificar de forma dinámica las estimaciones de riesgo y adaptar tanto el seguimiento como el tratamiento de la enfermedad recurrente en caso necesario como se observa en la figura 1.10 [45]. De hecho, en su última guía, la ATA recomienda la utilización de esta escala dinámica para reevaluación durante el seguimiento, del riesgo de mortalidad según la respuesta al tratamiento con ciertas variaciones respecto a la original de Tuttle:

- Respuesta excelente:
 - Ausencia de evidencia clínica de tumor.
 - Imagen en rastreos no sugestivas de tumor (ausencia de captación fuera del lecho tiroideo tras la ablación inicial o en rastreos posteriores si en el primero hubo captación fuera del lecho).
 - Niveles de tiroglobulina inferiores a 0.2 ng/mL bajo supresión o tiroglobulina estimulada inferior a 1 ng/mL en ausencia de anticuerpos antitiroglobulina.
- Respuesta bioquímica incompleta: Tiroglobulina elevada o incremento de los anticuerpos antitiroglobulina, sin encontrar otra evidencia de enfermedad.
- Respuesta estructural incompleta: enfermedad persistente o metastásica detectada.
- Respuesta indeterminada: sin hallazgos específicos ni bioquímicos ni estructurales que permitan clasificar al paciente (pacientes con niveles de anticuerpos estables o en descenso que no presentan otros datos sugestivos de enfermedad) [4].

	Riesgo de recurrencia según la escala inicial de la ATA		
	Bajo	Intermedio	Alto
Riesgo estimado inicial de enfermedad persistente o recurrente	3%	18%	66%
Riesgo estimado según la respuesta inicial al tratamiento			
Respuesta excelente	2%	2%	14%
Respuesta aceptable	0%	0%	0%
Respuesta incompleta	13%	41%	79%

Figura 1.10: Impacto de la respuesta al tratamiento inicial en la evaluación inicial del riesgo. Adaptado de Tuttle et al [45].

1.3.7. Tratamiento adyuvante

Tratamiento sustitutivo

En cuanto al tratamiento sustitutivo, es importante saber que los pacientes necesitarán tratamiento con hormona tiroidea de por vida, en especial si han sido sometidos a tiroidectomía total. Los niveles recomendados de supresión dependen del grado de riesgo establecido en la clasificación postoperatoria:

- Pacientes con alto riesgo: Inicialmente la TSH debe quedar por debajo de 0.1 mU/L [46] [47].
- Pacientes con un riesgo intermedio: las concentraciones de TSH deben estar entre 0.1 y 0.5 mUI/L.
- Pacientes de bajo riesgo: si han recibido tratamiento ablativo con I^{131} y mantienen tiroglobulinas indetectables, la TSH se debe mantener en rango de normalidad (0.5-2 mU/L) si permanecen libres de recurrencias. En caso de que no hayan recibido tratamiento ablativo el rango es el mismo si los pacientes mantienen la tiroglobulina indetectable. En caso de bajo riesgo pero con tiroglobulinas detectables, se debe considerar el nivel de supresión entre 0.1 y 0.5 mU/L en ausencia de recurrencias e independientemente de si han recibido o no I^{131} . Por último, aquellos pacientes de bajo riesgo que han sido sometidos a lobectomía, deben mantener la TSH en rango

normal (0.5-2 mU/L) y no es necesario añadir levotiroxina si el paciente mantiene la TSH en dicho rango de forma espontánea [4] [48].

Tratamiento adyuvante con radioyodo

Tras la cirugía, la terapia adyuvante con I^{131} podría mejorar la supervivencia y la eliminación de restos microscópicos residuales o metástasis a distancia [49]. De hecho, inicialmente la ablación con radioyodo se puede considerar como un medio para eliminar los restos y facilitar la detección de las recurrencias y el estadiaje inicial, en segundo lugar como una terapia adyuvante que reduce el riesgo de recurrencia y la mortalidad específica por el tumor y finalmente como una terapia para la enfermedad persistente o metastásica. El I^{131} es efectivo porque las células foliculares captan el isótopo y una vez incorporado, éste sufre una degeneración β , que produce una citotoxicidad por radiación altamente localizada en las células tumorales, que acaba destruyéndolas. Además, el I^{131} también emite rayos γ que son detectados por métodos de escáner gammagráfico [39] [4].

Un punto de reciente controversia y que se ha modificado en la última guía de la ATA es la dosis adecuada de radioyodo [50]. Se establece la recomendación de dar una dosis baja de I^{131} (30 mCi) en pacientes sometidos a tiroidectomía total o casi total, clasificados como de riesgo bajo o intermedio [4] [51] [52] [53]. En pacientes con restos tiroideos grandes se recomienda el uso de dosis mayores, así como para enfermedad residual aunque sea microscópica y en ausencia de metástasis a distancia, se recomiendan dosis de 150 mCi, a pesar de que no se conoce si estas dosis pueden reducir el riesgo de recurrencia en T3 o N1. Las indicaciones para el tratamiento con radioyodo según la guía de la ATA de 2015 se resumen en la figura 1.11. Por otra parte, la Tg postquirúrgica puede ayudar a conocer el grado de enfermedad persistente/metastásica y puede influir en la elección del tratamiento. Esta Tg suele alcanzar el nadir a las 3-4 semanas del postoperatorio que es el momento ideal para poder valorarla [4].

Con el objetivo de mejorar la captación de yodo, la hormona estimulante del tiroides (TSH) debe estar por encima de 25-30 mUI/l [49]. Esta cifra se puede alcanzar suspendiendo el tratamiento sustitutivo con levotiroxina o con la administración de TSH recombinante (rTSH) los días previos, evitando así la situación prolongada de hipotiroidismo de 3-4 semanas, aunque en los pacientes de alto riesgo no hay estudios suficientes para recomendar su uso [54] [55] [56]. Debe considerarse en pacientes con cualquier nivel de riesgo que tengan enfermedades médicas o psiquiátricas que puedan descompensarse en situación de

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

Riesgo de recurrencia	Descripción	Ablación
Bajo riesgo.	Tumor ≤ 1 cm (uni o multifocal).	No.
	Tumor $>1-4$ cm.	No rutinaria. Considerar en pacientes con histología agresiva o invasión vascular.
Riesgo bajo a intermedio.	Tumor >4 cm.	Considerar según la presencia de otras características como la edad.
	Invasión extratiroidea microscópica en tumores de cualquier tamaño.	Considerar. En general se considera favorable la ablación pero algunos casos podría evitarse.
	Metástasis linfáticas en compartimento central.	Generalmente se considera favorable la ablación, sobre todo si hay múltiples metástasis, son mayores de 2-3 cm, clínicamente evidentes o hay invasión extranodal. La edad avanzada también favorece la ablación. No existen datos para recomendarla en pacientes con <5 metástasis ganglionares microscópicas en compartimento central en ausencia de otros factores adversos.
	Metástasis linfáticas laterales o mediastínicas.	En general se considera favorable la ablación dado el mayor riesgo de recurrencia o persistencia, sobre todo si hay un mayor número de metástasis macroscópicas o clínicamente evidentes, invasión extranodal o edad avanzada.
Alto riesgo.	Cualquier tamaño con invasión extratiroidea grosera.	Sí.
	Metástasis a distancia.	Sí.

Figura 1.11: Indicaciones de radioyodo según la evidencia de aumento de la supervivencia específica y libre de enfermedad [4]

hipotiroidismo [4]. Si se utiliza TSH recombinante el paciente debe recibir una inyección intramuscular de 0.9 mg en dos días consecutivos y recibir la dosis de radioyodo 24 horas después de la segunda inyección. También es recomendable seguir una dieta baja en yodo las 2 semanas previas a la administración del I^{131} . La tiroglobulina sérica se debe medir antes de la administración del yodo en el caso de retirada del tratamiento o el tercer día tras la segunda inyección en el caso de la administración de rTSH. Posteriormente se realiza un rastreo corporal total, algunos días después, ya que es una prueba con alta sensibilidad para detectar tejido tiroideo remanente así como metástasis [3]. El rastreo previo a la dosis de yodo no se recomienda de forma rutinaria porque reduce la captación del mismo [57]. Sin embargo, puede ser útil en caso de que no podamos conocer la extensión del remanente tiroideo con el informe de la cirugía o con una ecografía o para ayudarnos a decidir la dosis de radioyodo. Debe hacerse con SPECT-TC con 1,5-3 mCi de I 123 o con 1-3 mCi de I 131, siendo el momento óptimo de lectura a las 72 horas [4]. Debe realizarse un rastreo corporal total aproximadamente a la semana de la administración del radioyodo para detectar restos o metástasis y también se recomienda la fusión con imágenes de SPECT-TC [58] [4].

1.3.8. Seguimiento

Tal como dijimos anteriormente, la ATA recomienda estratificar a los pacientes en función de la escala dinámica de riesgo y según esta escala se puede establecer el protocolo de seguimiento más adecuado en cada caso:

- Respuesta excelente: puede reducirse la intensidad y frecuencia del seguimiento y el grado de supresión de TSH.
- Respuesta bioquímica incompleta: se recomienda mantener su seguimiento habitual y nivel de supresión de TSH si los niveles de tiroglobulina permanecen estables o en descenso. En caso de aumento de tiroglobulina o anticuerpos antitiroglobulina, se debe ampliar el estudio con pruebas de imagen para localizar un posible avance de la enfermedad.
- Respuesta indeterminada: se recomienda mantener observación con las pruebas de imagen adecuadas y niveles de tiroglobulina.
- Respuesta estructural incompleta: en este caso, requiere tratamientos adicionales y pruebas para detectar progresión de la enfermedad.

En las figuras 1.12, 1.13, 1.14 y 1.15 se resumen los diferentes protocolos de seguimiento en función del riesgo y la intervención realizada, según la última guía de la ATA [4].

Tradicionalmente se ha recomendado hacer un rastreo corporal total con radioyodo unos 6-12 meses después de la ablación inicial. Después de dos rastreos negativos consecutivos, el valor predictivo para la supervivencia a 10 años es del 95 % [5]. Sin embargo, las últimas recomendaciones de la ATA establecen que en los pacientes de riesgo bajo o intermedio que tras el rastreo postdosis presentan una tiroglobulina negativa bajo tratamiento (con anticuerpos antitiroglobulina negativos) y ecografía negativa, no precisan realizar más rastreos [59]. Y se reserva el rastreo a los 6-12 meses del tratamiento ablativo para los pacientes con riesgo alto de recurrencia o con riesgo intermedio que tengan factores de alto riesgo en la evolución [4].

Otra herramienta muy útil en el seguimiento es la ecografía cervical, que puede servir de ayuda para identificar nódulos en el lecho tiroideo o metástasis ganglionares, así como para distinguir lesiones benignas de malignas según sus características ecográficas. Por

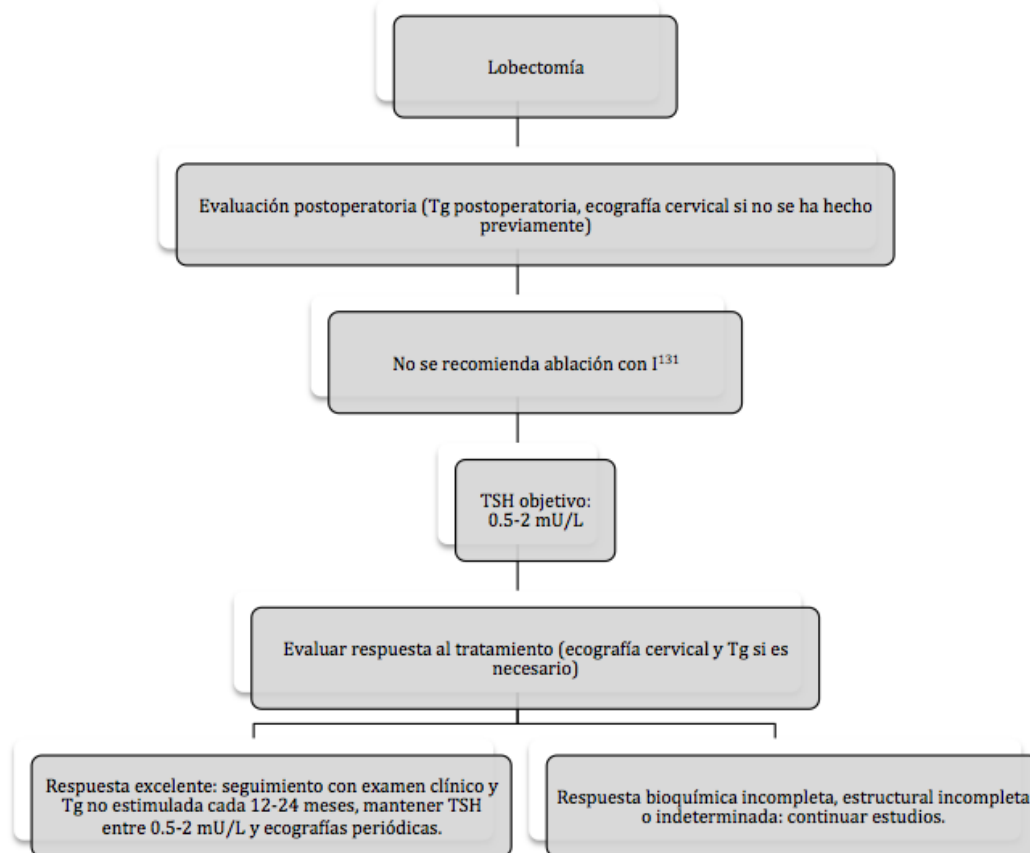


Figura 1.12: Protocolo de seguimiento en pacientes de bajo riesgo sometidos a lobectomía con o sin istmectomía. Adaptado de ATA [4].

estos motivos, la ecografía está recomendada en el seguimiento rutinario, especialmente en aquellos pacientes que han tenido invasión extratiroidea o metástasis ganglionares [3]. En cualquier caso, la ecografía es más sensible que la palpación cervical y puede detectar nódulos milimétricos de hasta 2-3 mm de diámetro. Además, su especificidad puede mejorar con la PAAF ecoguiada, el análisis citológico y la medición de la tiroglobulina en el líquido del aspirado [5] [60] [61]. La ATA recomienda su uso rutinario a los 6-12 meses de la cirugía y posteriormente de forma periódica en función del riesgo de recurrencia del paciente y los niveles de tiroglobulina. Incluso en pacientes con bajo riesgo y respuesta excelente tras la ablación, se puede hacer seguimiento con examen clínico y tiroglobulina bajo tratamiento. En caso de detectar adenopatías sospechosas de más de 8-10 mm de diámetro menor, se debe hacer una biopsia para citología con medición de Tg en el líquido de lavado de la aguja. Adenopatías < 8-10 mm en el menor de sus diámetros deben ser seguidas con ecografía y valorar PAAF o intervención en caso de crecimiento o que el

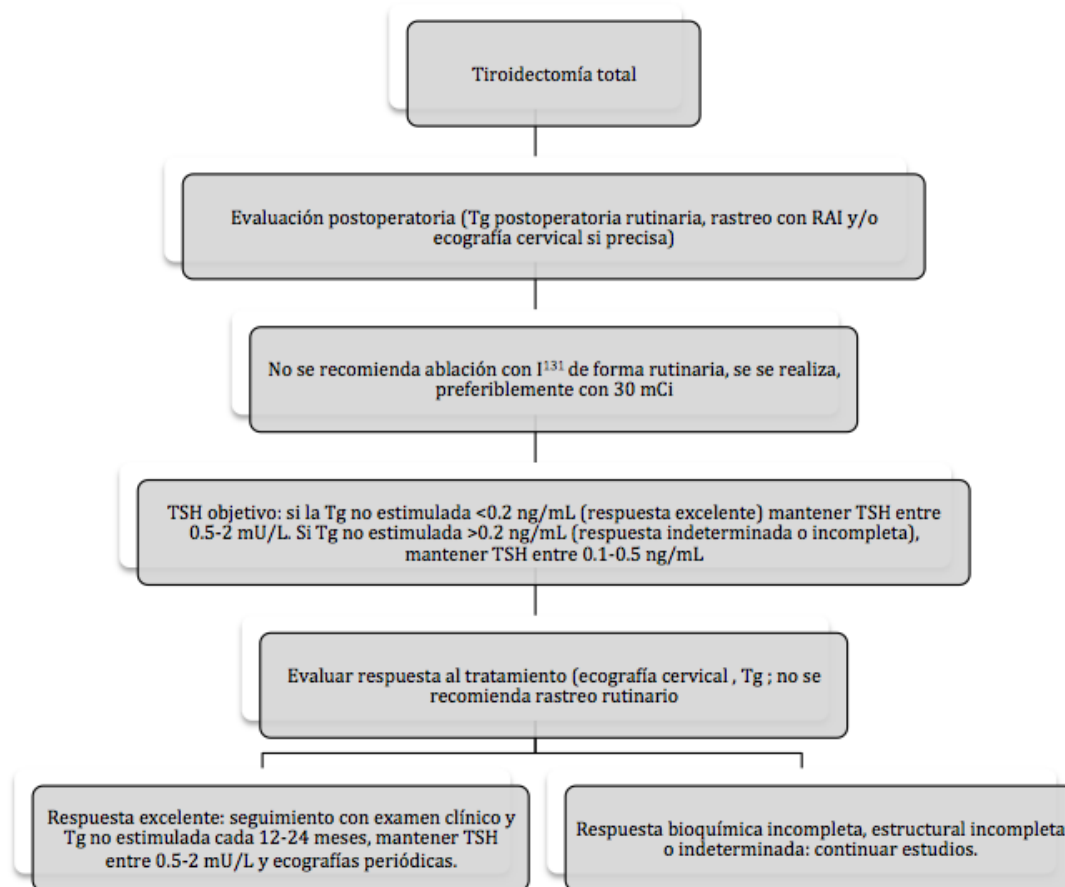


Figura 1.13: Protocolo de seguimiento en pacientes de bajo riesgo sometidos a tiroidectomía total. Adaptado de ATA [4].

nódulo amenace estructuras vitales [4]. Otras técnicas de imagen como el TC, la RM o la tomografía por emisión de positrones (PET) no están indicadas de forma rutinaria, pero sí pueden ser útiles en algunos casos. Por ejemplo, el PET se recomienda en pacientes de alto riesgo con tiroglobulina elevada (>10 ng/mL) con rastreo negativo, como parte del estadiaje inicial del carcinoma pobremente diferenciado o el de células de Hürthle invasivo y como herramienta pronóstica en pacientes con enfermedad metastásica para identificar las lesiones con mayor riesgo de crecimiento rápido [62] [63].

Además de los estudios de imagen, la tiroglobulina sérica se debe determinar cada 6/12 meses durante el seguimiento inicial aumentando la frecuencia en pacientes de alto riesgo [4], ya que es un marcador de células tiroideas que debería ser indetectable tras la tiroidectomía y la ablación con yodo. Además es muy útil su determinación en el segui-

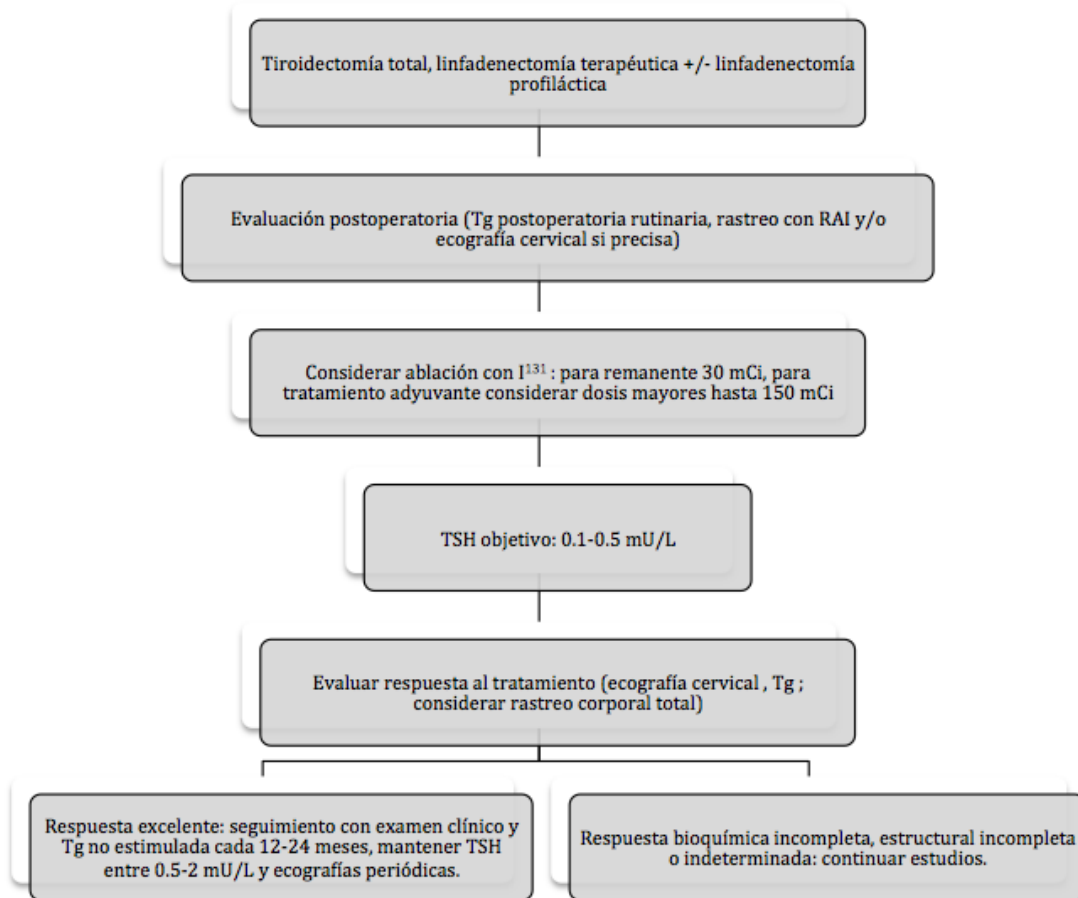


Figura 1.14: Protocolo de seguimiento en pacientes de riesgo intermedio. Adaptado de ATA [4].

miento para detectar enfermedad residual, recurrente o metástasis. De forma similar al rastreo, la sensibilidad de la Tg aumenta con una TSH elevada, bien sea con la retirada del tratamiento o con rTSH. Se debe tener en cuenta que la Tg pierde su sensibilidad en los tumores desdiferenciados. Sin embargo, no es la única situación en la que la Tg no es un marcador válido en el seguimiento del cáncer de tiroides, también en pacientes con autoanticuerpos antitiroglobulina (25 % de los pacientes con cáncer de tiroides y 10 % de la población general) la medida de este marcador no tiene validez. Es más, la persistencia de anticuerpos antitiroglobulina puede considerarse un signo de tejido tiroideo residual y por tanto de mayor riesgo de recurrencia [3] [64] [65]. En los pacientes con alto riesgo de recurrencia, independientemente de cual haya sido su respuesta al tratamiento, así como en aquellos que hayan tenido una respuesta incompleta bioquímica o estructural o bien una respuesta indeterminada, se debe medir la Tg y los anticuerpos antiTg cada 6-12 meses.

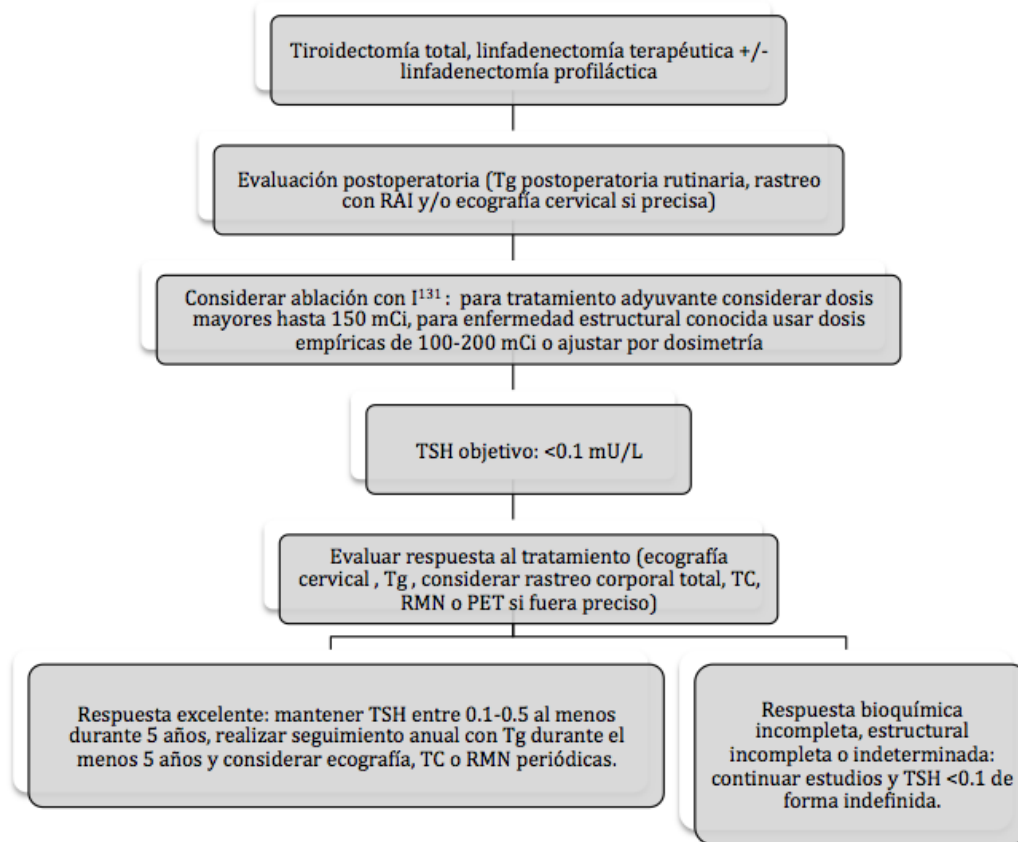


Figura 1.15: Protocolo de seguimiento en pacientes de alto riesgo. Adaptado de ATA [4].

En los pacientes con riesgo bajo o intermedio que han recibido ablación con radioyodo, se debe medir a los 6-18 meses la Tg estimulada o bajo tratamiento para verificar criterios de ausencia de enfermedad. En caso de medir la Tg estimulada en este tipo de pacientes, no se recomienda volver a repetirla si han cumplido criterios de ausencia de enfermedad. La repetición de Tg estimulada se aconseja para pacientes con respuesta indeterminada, respuesta bioquímica incompleta o estructural incompleta, con el fin de detectar una evolución hacia la curación o la necesidad de otras pruebas o tratamientos. En el caso de los pacientes que no han recibido ablación con I^{131} , se recomienda seguimiento sólo con ecografía y Tg sérica de forma periódica [4].

1.3.9. Enfermedad metastásica

La remisión se puede alcanzar en aproximadamente dos tercios de los pacientes con recurrencia cervical y en un tercio de los que tienen metástasis a distancia [5]. Las metástasis

que se descubren durante el seguimiento son probablemente manifestaciones de persistencia de enfermedad que ha sobrevivido al tratamiento inicial. Algunos pacientes tendrán una reducción de la carga tumoral con tratamientos adicionales, que pueden mejorar la supervivencia u ofrecer un beneficio paliativo [66] [67] [68]. Existen varios tratamientos posibles para la enfermedad metastásica, dependiendo de la localización y el tipo de metástasis:

- **Recidiva local:** se recomienda confirmar con PAAF, aunque no es imprescindible, y la mejor opción es la cirugía cuando el diámetro menor es mayor de 8 mm en espacio central o mayor de 10 mm en lateral (aunque se pueden intervenir más pequeñas si están localizadas cerca de estructuras vitales o con riesgo de complicación). En cualquier caso, la decisión debe tomarse en un equipo multidisciplinar y disponiendo de pruebas de imagen precisas. Siempre que se pueda se debe realizar un vaciamiento que es más efectivo que el "berry picking" (asociado a una mayor tasa de recidivas). En caso de no poder intervenir, se puede tratar con I^{131} o realizar ablación con etanol o radiofrecuencia [4].
- **Metástasis cervicales:** si es posible, la resección del nódulo es el mejor procedimiento para aquellos nódulos cervicales mayores de 1 cm. El I^{131} también puede utilizarse en el tratamiento de las metástasis cervicales, alcanzando una respuesta completa en un 80 % de los casos. Sin embargo, el yodo no es la mejor opción en aquellos pacientes con grandes masas cervicales [3]. La radioterapia externa puede estar indicada en caso de que la cirugía no sea posible y el tumor no sea captador de yodo [5]. La ablación con radiofrecuencia también ha demostrado su utilidad en estos casos [69].
- **Metástasis pulmonares:** la supervivencia a largo plazo es mayor en los pacientes con enfermedad pulmonar micronodular detectada mediante rastreo con I^{131} , comparada con aquellos pacientes que tienen metástasis macronodulares detectadas en radiografía de tórax o TC. De hecho, la administración de I^{131} en pacientes con metástasis pulmonares que captan yodo aumenta la supervivencia a 5 años hasta un 60 % comparada con el 30 % que presentan los pacientes en los que la enfermedad no capta yodo, en cuyo caso la administración de radioyodo tiene un escaso beneficio [3]. No existe un límite máximo para la dosis acumulada de I^{131} que un paciente con enfermedad persistente puede recibir, pero la mayoría de las remisiones se obtienen con una dosis acumulada de ≤ 600 mCi [5].

- Metástasis óseas: las metástasis óseas de carcinoma papilar captan I^{131} con la misma frecuencia con que lo hacen las metástasis pulmonares, sin embargo la resolución completa se alcanza sólo en menos del 10 % de los pacientes. La respuesta parcial es más alta, hasta un 35 % de los pacientes (suele ser mayor en pacientes con carcinoma folicular, que suele metastatizar con más avidez en el hueso). Por otra parte, el tratamiento quirúrgico también es útil en el caso de metástasis óseas dolorosas o compresión medular [3]. Los tratamientos locales como los bifosfonatos o la embolización en inyección de cemento también pueden ser útiles [5].
- Metástasis cerebrales: la resección quirúrgica mejora la supervivencia en pacientes con una o más lesiones cerebrales. El otro pilar del tratamiento de las metástasis cerebrales es la radioterapia, sin embargo, para aquellas lesiones cerebrales que capten I^{131} se recomienda utilizarlo con radioterapia adyuvante y corticoterapia [4].

Es importante tener en cuenta que el tratamiento con radioyodo también tiene posibles complicaciones. Las complicaciones agudas pueden incluir tiroiditis radica, edema cervical doloroso, hemorragia o edema tumoral y sialoadenitis. Las complicaciones a largo plazo son raras, como por ejemplo la fibrosis pulmonar tras el tratamiento de las metástasis pulmonares difusas, cuyo riesgo es muy bajo [3]. Finalmente, respecto al I^{131} , las mujeres deben evitar el embarazo al menos 6-12 meses tras el tratamiento. Los varones que hayan acumulado una dosis >400 mCi deben ser informados del riesgo de infertilidad.

Debemos considerar también la existencia de pacientes que son refractarios a la terapia con radioyodo, definidos como aquellos pacientes con enfermedad metastásica o maligna que nunca ha mostrado captación de yodo, tumores que pierden la capacidad de concentrar yodo y que previamente si lo habían concentrado en anteriores tratamientos, pacientes que concentran yodo en algunas lesiones y en otras no y pacientes con enfermedad metastásica que avanza pese a haber concentrado yodo [4].

Otras terapias como la radioterapia externa puede ser útil en metástasis irresecables localmente invasivas en el cuello o como tratamiento paliativo en metástasis óseas dolorosas o con riesgo de fractura. La quimioterapia con doxorrubicina produce respuestas incompletas y transitorias, con toxicidades comunes y severas. De hecho, la quimioterapia no es una buena opción en el cáncer de tiroides [3].

Finalmente, hoy en día las terapias moleculares dirigidas y los agentes antiangiogénicos están siendo estudiadas en ensayos clínicos controlados y pueden convertirse en una buena opción en pacientes con enfermedad progresiva que no responden a tratamientos convencionales [70]. Hasta el momento, tres ensayos clínicos con inhibidores de la tirosin kinasa (TKIs), aleatorizados, doble ciego y comparados con placebo han demostrado beneficios en términos de supervivencia libre de progresión o regresión tumoral con efecto duradero para sorafenib, lenvatinib y vandetanib. De hecho, recientemente sorafenib ha sido aprobado por la Food and Drugs Administration (FDA) y la European Medicines Agency (EMA), ya que es la molécula con mejores resultados en supervivencia libre de progresión frente a placebo. Por tanto, los TKIs deben ser considerados en pacientes refractarios a radioyodo con enfermedad metastásica rápidamente progresiva y sintomática o que amenaza la vida en pacientes en los que no sean posibles otras alternativas terapéuticas. En caso de que fracase una primera línea de TKIs y no haya efectos secundarios graves, se puede iniciar una segunda línea a ser posible dentro de un ensayo clínico [4].

1.3.10. Factores pronósticos en el carcinoma diferenciado de tiroides

Como ya se ha comentado previamente, el CDT es el tumor más frecuente de la glándula tiroides, en especial el carcinoma papilar. La mayoría de las series que tratan de estudiar el pronóstico, que por lo general es excelente en este tipo de tumores, analizan de forma conjunta los diferentes subtipos de tumores tiroideos [71]. Gran parte de los factores etiológicos que tratamos en la sección 1.3.2, tienen implicaciones en el pronóstico de la enfermedad, ya sean factores genéticos o ambientales, así como también tienen importancia las características clínico-patológicas de la enfermedad y que nos ayudan a componer los diferentes sistemas de estratificación del riesgo. De hecho, no se pueden entender los unos sin los otros, pero por el momento los factores clínico-patológicos, han resultado ser mucho más importantes que los factores genéticos tanto en el diagnóstico como en la evaluación pronóstica.

En primer lugar, analizaremos la implicación pronóstica de las distintas alteraciones genéticas y moleculares que se han identificado en el carcinoma diferenciado de tiroides. Muchos de los marcadores genéticos que se han estudiado en el CDT se muestran prometedores en cuanto al valor pronóstico que tienen, ya que por ejemplo, algunos de ellos sólo los encontramos en tumores pobremente diferenciados o anaplásicos, como ocurre con p53 o con CTNNB1. Mientras tanto, otras mutaciones sólo se encuentran en lesiones

metastásicas y no en el tumor primario, como ocurre con algunas mutaciones de AKT1 y por lo tanto, podrían ser marcadores de la agresividad del tumor. Sin embargo, otros marcadores los encontramos en tumores bien diferenciados y coexisten también en lesiones pobremente diferenciadas, como por ejemplo mutaciones de RAS, PTEN o BRAF, sugiriendo que pueden ser eventos tempranos en la carcinogénesis de cierta importancia en la desdiferenciación celular y tener, por tanto, valor como marcadores de peor pronóstico en la evolución de la enfermedad [72]. Recientes publicaciones en este campo han aportado nuevos datos, la más destacable de ellas la caracterización integrada del genoma del carcinoma papilar de tiroides [73].

BRAF

El marcador molecular que se ha estudiado más a fondo es BRAF, que produce una activación constitutiva de la vía de las MAPK, favoreciendo la agresividad en el carcinoma papilar [72]. En un estudio multicéntrico llevado a cabo por Xing et al en 2005, se encontró una fuerte asociación entre la mutación BRAF y la presencia de metástasis ganglionares, la edad avanzada, el sexo masculino, la extensión extratiroidea, los estadios avanzados de la enfermedad III y IV y el riesgo de recurrencia (con una OR=4) [74]. Estos hallazgos se han confirmado en estudios posteriores, y de especial importancia clínica es la asociación con el riesgo de recurrencia de la enfermedad, que ha sido confirmada en múltiples estudios con OR de entre 3-5 y valor predictivo positivo alrededor del 30 % y negativo de entorno al 90 %. Además, esta mutación también se ha asociado con la pérdida de avidéz por el radioyodo en el carcinoma papilar recurrente y se ha comprobado in vitro que la expresión del BRAF mutado puede silenciar la expresión de algunos genes asociados con la captación de yodo (NIS, TSHR, TPO o TG) y que su supresión puede restablecer la expresión de dichos genes.

Por todo lo expuesto anteriormente, BRAF podría tener importancia en el manejo quirúrgico y médico del paciente con carcinoma papilar. Aunque está claro que el tratamiento de elección en el CDT es la cirugía, en los pacientes de bajo riesgo puede optarse por una tiroidectomía subtotal y evitar el vaciamiento del compartimento central si no tenemos evidencia de metástasis ganglionares. En estos casos, un análisis de BRAF podría ayudar a decidir si fuera positivo para la mutación a favor de la tiroidectomía total y el vaciamiento ganglionar, pues parece que se asocia a un mayor riesgo de metástasis ganglionares y de recurrencia de la enfermedad (aparece hasta en un 78-95 % de los carcinomas papilares recurrentes). De hecho, la mutación de BRAF es capaz de predecir de forma indepen-

diente la aparición de metástasis ganglionares en el compartimento central en el análisis preoperatorio mediante PAAF, con un valor predictivo positivo del 47 % y un valor predictivo negativo del 91 % según algunos estudios. Sin embargo, debemos tener en cuenta que BRAF, a día de hoy, es insuficiente por sí solo para decidir una linfadenectomía central profiláctica en un paciente de riesgo bajo y debe ser valorado junto con otros factores de riesgo.

Además, en cuanto al tratamiento médico, también está muy en discusión en los últimos años el beneficio sobre la supervivencia de la ablación con radioyodo en pacientes de bajo riesgo y si debe hacerse con altas o bajas dosis, ya que en diversos estudios no se han encontrado diferencias en la tasa de recurrencias y la mortalidad entre pacientes tratados con radioyodo y los que no recibieron dicho tratamiento. En vista de la fuerte asociación entre BRAF y el riesgo de recurrencia, en pacientes de bajo riesgo podría ser útil tener en cuenta si existe positividad para BRAF y someterlos a una ablación postquirúrgica con una dosis baja (30 mCi) que mejore la validez de la tiroglobulina en el seguimiento. Sin embargo, dado el alto valor predictivo negativo, en aquellos pacientes negativos para BRAF podríamos evitar este tratamiento [72].

Sin embargo, hay otros estudios que no han confirmado esta asociación de BRAF con un peor pronóstico y en cualquier caso la asociación no es nunca independiente de las características clínico-patológicas. Dejando de lado la controversia sobre la utilidad de BRAF en el pronóstico, sí que es extensamente conocida la asociación que tiene con el descenso en la expresión de genes específicos tiroideos y genes relacionados con la captación de yodo, como mencionamos en párrafos anteriores, condicionando una pérdida de avidéz por el yodo. Recientemente se ha demostrado que inhibiendo MEK se puede restablecer la captación de radioyodo, por lo que la inhibición de BRAF o MEK podrían ser dianas terapéuticas muy interesantes.

RAS

Como mencionamos en la sección 1.3.2, RAS es una pequeña proteína GTPasa que actúa como interruptor molecular, propagando señales desde receptores tirosinquinasa a receptores no tirosinquinasa y activando la vía de las MAPK entre otras. Es más prevalente en lesiones de estirpe folicular y también se ha encontrado en tumores pobremente diferenciados (55 %) e indiferenciados (52 %). Existe controversia en torno al valor pronóstico que tiene esta mutación, ya que se ha encontrado en todo el espectro de lesiones tiroideas.

Sin embargo, parece que los pacientes con mutaciones de RAS suelen tener metástasis a distancia con mayor frecuencia y mayor mortalidad, actuando como un predictor independiente de escasa supervivencia. Se ha propuesto también que pueda participar en la dediferenciación tumoral ya que se ha observado su presencia en tumores diferenciados con áreas de dediferenciación y porque está más frecuentemente mutado en tumores pobremente diferenciados e indiferenciados. En cualquier caso, las series son pequeñas y es necesario realizar más estudios.

RET/PTC

Esta mutación consiste en la aparición de un gen quimérico más frecuente en tumores papilares, cuyas formas más frecuentes son RET/PTC1 y RET/PTC3 y no suele aparecer en tumores dediferenciados. RET/PTC1 parece estar asociado con tumores más pequeños, papilares de estirpe clásica con bajo índice proliferativo y de aparición a edades más tempranas. Por el contrario, RET/PTC3 es más prevalente en la variante sólida del CPT que es más frecuente en niños y en los casos asociados al área del accidente de Chernobyl, con un comportamiento más agresivo. Aún así, éstos últimos son tumores que responden bien a radioyodo y no tienen peor supervivencia. Es por ello, que el valor pronóstico de este reordenamiento no está del todo esclarecido.

PAX8/PPAR γ

El reordenamiento PAX8/PPAR γ es más frecuente en lesiones foliculares casi siempre bien diferenciadas, incluso se ha detectado en un 14% de los adenomas foliculares benignos. En algunos estudios se ha asociado a algunas características de peor pronóstico como la multifocalidad o la invasión vascular, pero la evidencia no es suficiente para identificarlo como un factor de mal pronóstico en el CDT.

Promotor TERT

Se ha observado que aproximadamente dos tercios de los carcinomas tiroideos presentan activación de la telomerasa y con mayor frecuencia en tumores dediferenciados (33%). Las mutaciones en la región promotora de la telomerasa o TERT se han identificado recientemente en los tumores de estirpe folicular, sin embargo no se han identificado en tejido normal ni lesiones benignas o carcinomas medulares. Además, tal como se comentó en la sección 1.3.2, las mutaciones de TERT fueron más frecuentes en carcinomas papilares que también presentaban mutaciones de BRAF.

En cuanto a características de mal pronóstico, TERT se ha asociado con edades avanzadas, mayor tamaño tumoral, metástasis a distancia y un mayor estadio tumoral. De todas ellas, la relación con las metástasis a distancia es la más consistente de todas, sugiriendo que existe una relación entre el promotor TERT y el potencial metastásico de los tumores de estirpe folicular. En otros estudios se ha observado que los pacientes con tumores que presentan mutaciones de TERT, tienen una mayor mortalidad específica por el tumor y parece que de forma independiente de la edad y el sexo.

Debido a que BRAF también parece conferir un peor pronóstico de acuerdo a los resultados de algunos estudios, se ha propuesto que la asociación entre ambas mutaciones suponga un empeoramiento del pronóstico. Pero el valor pronóstico de BRAF aún está en discusión, mientras que las mutaciones de TERT se han asociado de forma independiente a características clínico-patológicas de mayor agresividad y una peor evolución en todas las series. De modo que son necesarios más estudios para valorar la importancia pronóstica de dicha asociación.

P53

No se han encontrado mutaciones o expresión de P53 en tejido tiroideo normal o lesiones benignas, pero sí que se han encontrado en un 3.5 % de los carcinomas papilares y un 11 % de los foliculares fundamentalmente de variante oncocítica. De hecho, una pequeña proporción de carcinomas papilares agresivos se han asociado a este tipo de mutaciones, como la variante de células altas, la de células columnares e incluso se han encontrado en carcinomas escamosos de tiroides asociados a la variante de células altas. Existe un microcarcinoma papilar llamado *hobnail* muy agresivo y que presenta una pobre evolución en la mayoría de los casos, en el que es frecuente la invasión linfática y que es frecuentemente positivo para p53. Con todos estos datos, parece que p53 juega un papel importante en la progresión de carcinoma diferenciado a indiferenciado, como un evento final de la carcinogénesis y que confiere una mayor agresividad [12] [73].

Por otra parte y como ya hemos ido mencionando, las características de los pacientes y los rasgos clinicopatológicos también pueden afectar al pronóstico, como por ejemplo el sexo masculino, la edad avanzada, o los hallazgos histológicos (grado de diferenciación, variantes celulares como la de células altas o la de células columnares) [75]. En la mayor parte de los estudios se ha encontrado que los pacientes diagnosticados de carcinoma folicular tienen peor pronóstico que los diagnosticados de carcinoma papilar, como con-

firman Lundgren et al con un riesgo de muerte por el cáncer casi 4.4 veces mayor que en el papilar. Pero además, el carcinoma folicular suele estar menos diferenciado y determinar estadios más altos en las clasificaciones TNM. Además, los tumores con infiltración linfoide se asocian a un mejor pronóstico, al igual que la mayor diferenciación celular. La cirugía incompleta y las metástasis al diagnóstico, ya sean locales o a distancia, suelen conferir un peor pronóstico. Lo mismo ocurre con el sexo masculino, la edad por encima de los 45 años y un tamaño tumoral por encima de los 4 cm [76]. Como dijimos anteriormente, estos datos suelen corresponder a estudios realizados para el CDT en general, sin distinguir los diferentes subtipos histológicos. Recientemente, Ríos et al han analizado los factores pronósticos para el carcinoma folicular, en pacientes con diagnóstico histológico compatible, sin enfermedad diseminada al diagnóstico, sometidos a cirugía potencialmente curativa y con un seguimiento mínimo de 5 años (n=66). En sus resultados encuentran que los principales factores predictivos de recidiva en el carcinoma folicular son la edad por encima de 45 años, el sexo masculino, la clínica local al diagnóstico que se suele relacionar con tumores de mayor tamaño o con afectación de estructuras adyacentes, la propia infiltración de estructuras vecinas, el tipo histológico de carcinoma folicular, el tamaño, la invasión capsular o vascular y la presencia de adenopatías. De todos ellos los únicos que persisten como factores independientes en el análisis multivariante son la clínica local y la invasión de estructuras vecinas. Son datos a tener en cuenta, sin olvidar que es un estudio con una pequeña muestra de pacientes y de carácter retrospectivo [71].

1.4. MicroRNA, su desregulación y el cáncer

De acuerdo con los datos expuestos en la sección 1.3.2, parece haber una predisposición genética en el cáncer diferenciado de tiroides y, en el caso del carcinoma papilar, parece deberse a una variedad de mutaciones genéticas que pueden ser comunes y de baja penetrancia o raras y con una alta penetrancia. También parece que los factores ambientales juegan un importante papel. Otra idea importante es que los genes codificantes de proteínas no explican por completo el proceso oncogénico de muchos tumores, por lo que cada vez está cobrando más importancia el estudio del papel de genes no codificantes recientemente identificados, como pueden ser los microRNA (miR) [6].

Los microRNA son moléculas de RNA endógenas, pequeñas, evolutivamente conservadas y no codificantes, compuestas por entre 18 y 25 nucleótidos [77] que actúan como reguladores postranscripcionales de la expresión génica mediante uniones selectivas a la región 3' no traducida complementaria de RNAs mensajeros (mRNAs) por apareamiento de bases

(aunque la unión a regiones codificantes o la región 5' no traducida también puede ocurrir). De hecho, los microRNA están considerados como uno de los más importantes reguladores de la expresión genética a nivel postranscripcional, tomando parte en la expresión de un tercio del genoma humano [78]. Están conservados evolutivamente entre las distintas especies, son codificados en el genoma y transcritos por una RNA polimerasa II [79]. Fueron descritos por primera vez en 1993 en el nematodo *Caenorhabditis elegans* como reguladores del desarrollo [77]. Se estima que hay más de 1300 microRNA maduros [80] en humanos y parece que tienen un papel muy importante en diferentes procesos biológicos como reguladores del desarrollo celular, la diferenciación, la proliferación o la apoptosis. Estudios recientes indican que los microRNA podrían actuar como oncogenes o genes supresores tumorales [79]. Se cree también que un sólo microRNA puede unirse a docenas de mRNA codificantes de proteínas con funciones relacionadas [81]. Existe una base de datos pública de microRNA (miRbase) donde se recogen todos los nuevos microRNA que se van describiendo [82]. Recientes estudios han demostrado que un único gen de microRNA puede dar lugar a varios isomiRs, que son moléculas maduras de microRNA con diferente longitud. Este hecho tiene una importancia crucial en la función de los microRNAs, ya que la adición o delección de nucleótidos en el extremo 5' del isomiR da lugar a un cambio en la región "semilla" y consecuentemente lleva a la regulación de un grupo de genes distinto comparado con su isomiR homólogo. Al igual que sus correspondientes homólogos, estos isomiR son específicos de tejido [83].

El primer grupo de microRNA regulado de forma negativa en el cáncer se describió en la leucemia linfocítica crónica en 2002, sugiriendo en aquel momento que esos genes no codificantes contribuían al desarrollo del cáncer. A partir de entonces, se observó que los microRNA se expresaban de forma diferencial en las células tumorales, dando lugar a patrones únicos de expresión. Esto lleva a la idea de que el perfil de expresión de microRNA quizá podría ser útil en el diagnóstico del cáncer o en el establecimiento de su pronóstico, así como en el estudio y la comprensión de los mecanismos de carcinogénesis y en el desarrollo de nuevas terapias [77]. En la última década, se ha estudiado la expresión de microRNA en gran cantidad de tumores como el cáncer colorrectal, el linfoma de células B, el cáncer de pulmón, el cáncer de mama, el cáncer de próstata o el glioblastoma [78]. La mayoría de los estudios han mostrado que los genes de los microRNA suelen estar localizados en pequeñas alteraciones cromosómicas en los tumores (amplificaciones, deleciones, regiones de pérdida de la heterocigosidad) o en regiones comunes de interrupción cromosómica que se asocian al desarrollo del cáncer [77].

La desregulación de los microRNA se puede deber a una sobreexpresión o infraexpresión, debido a deleciones, amplificaciones, metilaciones aberrantes o mutaciones puntuales. En definitiva, cualquier evento genético o epigenético puede dar lugar a una desregulación de los microRNA [79]. Por ejemplo, se ha identificado una regulación positiva de algunos de ellos como el miR-155 o el miR-21 que se consideran prooncogénicos. Pero también se ha identificado una regulación negativa menos frecuente, de otros microRNAs como el miR-15a y el miR-16 que se consideran supresores tumorales [6]. Algunos estudios sugieren que existen menores niveles de microRNA en los tumores comparados al tejido normal y que los tumores pobremente diferenciados suelen tener niveles globales menores de expresión de estos genes comparados con los tumores bien diferenciados. De hecho, parece que una mayor expresión está relacionada con la diferenciación celular, por tanto una reducción global de sus niveles podría llevar a la dediferenciación celular, que es uno de los hitos del cáncer [78]. Sin embargo, otros estudios no han confirmado este punto y más bien apuestan por una especificidad de tejidos y por una desregulación que puede llevar a niveles mayores o menores de microRNA según el tipo de tumor [84].

Una de las implicaciones más importantes del descubrimiento del papel de los microRNA en el cáncer es su utilidad diagnóstica, gracias a algunas características especiales: son relativamente resistentes a la degradación por la actividad ribonucleasa y pueden ser fácilmente extraídos de pequeñas muestras tisulares, muestras congeladas e incluso fijadas con formalina o parafina [77]. Pueden ser usados para detectar un mayor riesgo de cáncer estudiando las variaciones asociadas a la enfermedad de sus secuencias; para diferenciar tejido tumoral de tejido normal en muestras histológicas mediante el estudio de sus perfiles de expresión [6]; para diagnosticar el cáncer en estadios precoces detectándolos en sangre periférica como se ha estudiado en el cáncer de próstata [85]; y finalmente para predecir la evolución clínica de la enfermedad como se ha hecho en la leucemia [86].

1.4.1. Mecanismos de acción

Se han propuesto dos mecanismos de acción fundamentales como causa de la regulación negativa de los microRNAs sobre la expresión génica en las células tumorales: uno de ellos implica una represión transcripcional a través de factores oncogénicos de transcripción y el otro se basa en cambios en la biogénesis del microRNA en cuestión y en el hecho de que las células tumorales suelen mostrar unos niveles reducidos o alterados de actividad de algunos factores implicados en dicha biogénesis. En cualquier caso, está claro que las células tumorales presentan una desregulación global de la función de los microRNA que

suele ser una regulación negativa, con pérdida de microRNAs supresores tumorales y acumulación específica de microRNAs oncogénicos, favoreciendo el desarrollo del cáncer.

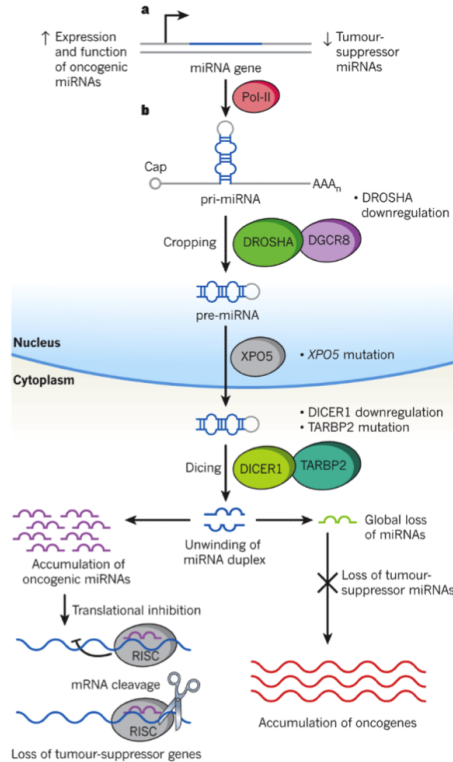


Figura 1.16: Biogénesis de los microRNA [77]

En resumen, los microRNAs se transcriben por la acción de la RNA polimerasa II a transcritos primarios que llamamos pri-microRNAs y que contienen una caperuza 5', pero también una región en la que la complementariedad de las secuencias no es perfecta y que se conoce como horquilla. Esta región de horquilla es reconocida en el núcleo por la ribonucleasa Droscha y su compañero DGCR8, dando lugar a un precursor del microRNA llamado pre-microRNA. El pre-microRNA se exporta al citoplasma a través de XPO5¹¹ y es escindido más adelante por la ribonucleasa Dicer1 a un microRNA de doble hebra. Después de esto, el microRNA maduro se une a las proteínas *Argonauta* generando el complejo *RNA-induced silencing complex (RISC)*, donde la hebra pasajera es habitualmente degradada (Fig.1.16) [77]. A partir de aquí, la molécula de microRNA puede regular de forma negativa la expresión de genes mediante dos mecanismos postranscripcionales distintos, la escisión del mRNA o la represión de la traducción, dependiendo de su RNA mensajero objetivo y del grado de complementariedad entre ambos. Si el mRNA objetivo es lo bastante complementario al microRNA, se inducirá una escisión y en caso contrario,

¹¹Exportina 5.

el microRNA reprimirá la traducción. En el caso de la escisión, el microRNA actúa como una interferencia y escinde al mensajero por apareamiento de bases en las posiciones 10 y 11 del miR. Después de este proceso, el microRNA permanece intacto para una nueva escisión. Por otra parte, en la represión de la traducción, debido a la baja complementariedad, se producen una serie de desajustes y grumos en la región central del completo microRNA-mRNA que evitan la escisión. Lo que ocurre es que producen una interferencia en la subunidad 40s del ribosoma o en el ensamblaje de la subunidad 60s para formar el complejo ribosómico 80s, de modo que el mensajero no puede ser traducido tal y como se muestra en la Fig.1.17 [78].

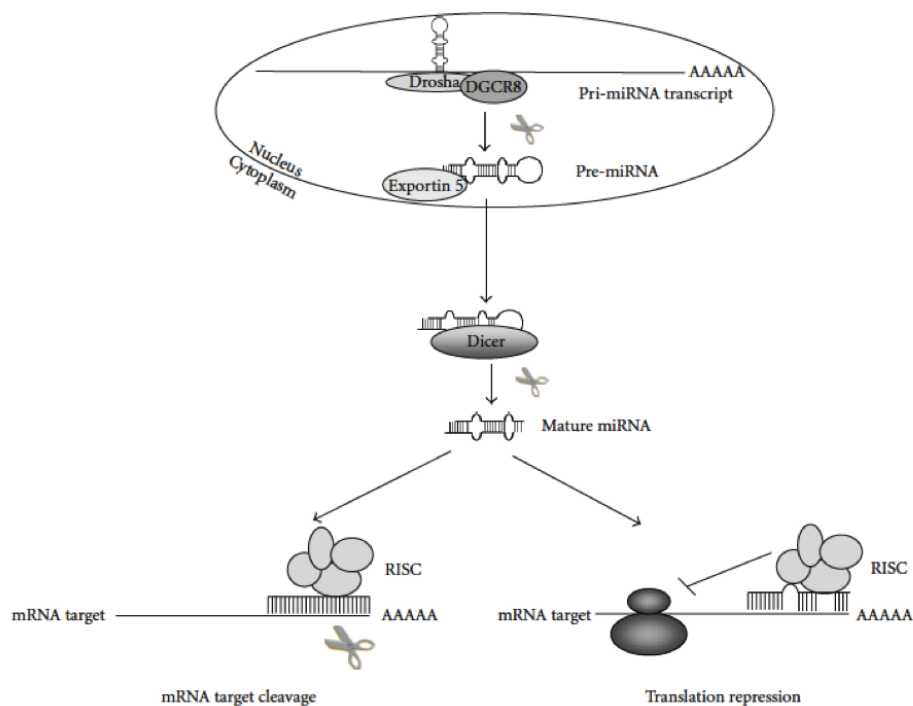


Figura 1.17: Mecanismo de regulación negativa [78]

Además, estudios recientes han propuesto un papel de regulación positiva de los microRNAs sobre la expresión génica. Vasudevan et al demostraron que el miR-369-3 podía unirse a una región rica en elementos AU (AREs) del mRNA del *TNF α* para regular positivamente su traducción. El proceso podría tener lugar por apareamiento de bases entre regiones germen del miR-369-3 y regiones ARE complementarias en el mRNA del *TNF α* cuando se dan condiciones de detención del ciclo celular. De acuerdo a sus datos, concluyeron que los microRNA podrían virar entre la represión de la traducción o su activación dependiendo de la fase del ciclo celular. En células proliferantes, los microRNAs podrían promover la represión mientras que en células detenidas podrían activar la

traducción [87]. En otro estudio, Ochrom et al demostraron que el miR-10a interactúa con la región 5' no traducida (5'UTR) del RNA mensajero de proteínas ribosomales. Esta interacción podría dar lugar a la promoción de la traducción de dichas proteínas ribosomales. Además, el miR-10a podría también reprimir la traducción uniéndose a regiones 3' no traducidas (3'UTR). De acuerdo con estos datos, sugirieron que el mismo microRNA podría tener diferentes efectos en la traducción dependiendo del sitio en el que interactúe con el objetivo [88].

1.4.2. Papel de los microRNAs en las vías oncogénicas

Los microRNAs están implicados en gran cantidad de vías oncogénicas como por ejemplo K-RAS o MYC, pero una de las más relevantes es sin duda la regulación de la proteína p53. Esta proteína es un gen supresor tumoral muy conocido, que actúa como un factor de unión a secuencias específicas de DNA, de modo que puede activar o reprimir su transcripción. La mayoría de las acciones de p53 se pueden explicar mediante su habilidad para controlar genes codificantes de proteínas canónicas como CDKN1A¹² o PUMA¹³, pero también puede activar gran cantidad de microRNAs. Entre los mejor estudiados podemos destacar la familia de miR-34, que puede promover la proliferación o la apoptosis, pero también miR-192, miR-194, miR-215, miR-605 o miR-107 están implicados en algunos procesos controlados por la vía de p53 como la angiogénesis o la transición de epitelial a mesenquimal. De la misma manera, algunos microRNAs pueden reprimir a p53 promoviendo la carcinogénesis. Por tanto, con ejemplos como el de p53, está claro que los microRNAs pueden interactuar en vías relevantes en la carcinogénesis a diferentes niveles [77].

1.5. Desregulación de los microRNAs en el cáncer de tiroides

Se han hecho gran cantidad de estudios sobre el papel de los microRNAs en el cáncer de tiroides y se ha observado que en el 32 % de los tumores tiroideos existe una regulación positiva de los microRNAs y en el 38 % una regulación negativa, con diferencias significativas comparando con el tejido normal. Los perfiles de expresión de los microRNAs dependen del tipo de tumor [78] ya que la mayoría de ellos se expresan de forma tejido-específica y

¹²Cyclin-dependent kinase inhibitor 1A.

¹³p53 up-regulated modulator of apoptosis.

además su expresión es distinta entre el tejido normal y el neoplásico [84]. Es más, existen también diferencias entre tumores originados a partir del mismo tipo celular. Hoy en día, aún no se conoce con exactitud el papel biológico de los microRNAs en la carcinogénesis tiroidea, pero existen razones para suponer que los diferentes perfiles de expresión comparados con el tejido normal pueden ser útiles en el diagnóstico, la clasificación, el pronóstico y el tratamiento [78].

1.5.1. Carcinoma papilar y microRNAs

Se conocen múltiples mutaciones carcinogénicas en el cáncer de tiroides. Por ejemplo, en el carcinoma papilar que es la neoplasia tiroidea maligna más frecuente, la activación de la vía de señalización de MAPK tiene un papel central tal como se explicó en la sección 1.3.2. Esta activación puede ser secundaria a mutaciones puntuales de BRAF o RAS o a reordenamientos de RET/PTC. Estas dos mutaciones excluyentes se encuentran en el 70 % de los carcinomas papilares y su relación con la desregulación de los microRNAs permanece aún por explicar.

En un estudio reciente, Nikiforova et al demostraron que los diferentes tipos histopatológicos de tumores tiroideos derivados del mismo tipo celular, tenían diferentes perfiles de expresión de microRNAs, incluso el mismo tipo celular puede presentar diferentes patrones en relación a mutaciones oncogénicas específicas. Identificaron un grupo de siete microRNAs que estaban constantemente sobreexpresados en todos los tumores derivados del epitelio folicular: miR-187, miR-221, miR-222, miR-181b, miR-146b, miR-155 y miR-224. De este grupo, los más frecuentemente desregulados parecían ser el miR-221, el miR-222 y el miR-146b, pero sus niveles de expresión variaban de un tumor a otro y se vio que estaban más frecuentemente sobreexpresados en aquellos tumores portadores de mutaciones de BRAF [84]. Estos datos son consistentes con los aportados por Marini et al, según los cuáles hay un grupo de unos tres microRNAs claramente sobreexpresados en el carcinoma papilar comprado con el tejido normal adyacente, con unos niveles de entre 11 y 19 veces más. Son precisamente el miR-146, el miR-221 y el miR-222. El objetivo de estos microRNAs parece ser c-KIT, que es un receptor tirosinquinasa relacionado con los genes MAPK y RAS, implicado en el crecimiento celular y la diferenciación. En el tejido de carcinoma papilar donde estos microRNAs se sobreexpresan se ha visto que hay una regulación negativa de un transcrito y una proteína de c-KIT. La ausencia de c-KIT es una característica del carcinoma papilar, pero su significado biológico todavía no se conoce con exactitud [78].

Por otra parte, estudios recientes han sugerido que los niveles de expresión de estos tres microRNAs podrían estar relacionados con la invasión extratiroidea, especialmente miR-146 [89]. Un factor de riesgo muy importante en el carcinoma papilar son las mutaciones del proto-oncogén RET, de modo que algunos estudios han tratado de identificar el perfil de microRNAs de estos tumores. Uno de esos estudios demostró que 21 microRNAs estaban significativamente sobreexpresados en las líneas celulares con mutaciones de RET, entre ellos el miR-146 [90]. De hecho, el miR-146a tiene un papel muy importante en el estudio de la desregulación de los microRNAs en el cáncer porque un polimorfismo G/C común de esta molécula en cuestión se ha encontrado en pacientes con carcinoma papilar por secuenciación de DNA. Este fue uno de los primeros polimorfismos de un microRNA descrito con implicaciones en la predisposición al cáncer. Se observó que el pre-miR y el miR maduro estaban dos veces menos expresados en el alelo C que en el alelo G. Por tanto, se observó que el cambio en un sólo nucleótido, lo que se conoce como polimorfismo de un sólo nucleótido (*SNP: single nucleotide polymorphism*), produce un cambio significativo en la cantidad de microRNA expresada y esta situación lleva a una inhibición menos efectiva de los genes objetivo y por tanto a la carcinogénesis [6]. Otros muchos microRNAs se han relacionado con mutaciones oncogénicas, por ejemplo el miR-187 parece ser el mayor regulador positivo en tumores con reordenamientos RET/PTC y mutaciones RAS, pero está menos expresado en tumores con mutaciones BRAF. Por otra parte, el miR-224 está sobreexpresado en todos los carcinomas papilares.

En conclusión, sabemos que las mutaciones oncogénicas del carcinoma papilar se asocian con diferentes perfiles de expresión de genes codificantes, características fenotípicas específicas y propiedades biológicas diferentes. Pero también parece que existe una alta correlación entre las mutaciones presentes y el perfil de expresión de los microRNAs, de modo que estos perfiles pueden estar relacionados con algunas características del tumor que determinan de algún modo la evolución de la enfermedad. Todos estos datos sugieren que el análisis de los microRNAs en pacientes con carcinoma papilar de tiroides puede ser útil en el diagnóstico y el manejo del cáncer de tiroides [84].

1.5.2. Carcinoma folicular y microRNAs

Existen pocos estudios sobre la desregulación de los microRNAs en el carcinoma folicular y la mayoría comparados con los adenomas foliculares. Se han identificado cuatro microRNAs que están sobreexpresados en el carcinoma comparado con el adenoma: miR-192, miR-197, miR-328 and miR-346. Todos ellos parecen específicos del fenotipo celular del

1.5. DESREGULACIÓN DE LOS MICRORNAS EN EL CÁNCER DE TIROIDES

carcinoma folicular. El objetivo del miR-197 parece ser el receptor tipo 1 de la activina A, una proteína inhibidora del crecimiento celular. Para el miR-346 el objetivo parece ser, sin embargo, la fibulina 4, una proteína implicada en la estabilización y organización de las estructuras de la matriz extracelular implicadas en el proceso de supresión tumoral [78].

Sabemos que uno de los mayores retos en el diagnóstico de un nódulo tiroideo mediante PAAF es la diferenciación de las muestras con proliferación folicular, ya que no permiten diferenciar claramente entre carcinomas e hiperplasias foliculares, a fin de evitar cirugías innecesarias. Nikiforova et al identificaron un grupo de siete microRNAs útiles en esta diferenciación entre carcinoma y adenoma folicular con una exactitud elevada, entre los que se encontraban el miR-221 y el miR-222. De acuerdo con sus resultados, cuando al menos uno de esos microRNA está sobreexpresado más de dos veces, la sensibilidad para la detección del tumor es del 100 % y la especificidad del 94 %. Cuando tres o más microRNAs están sobreexpresados, la sensibilidad para la detección del tumor es del 88 % pero la especificidad del 100 % [84].

1.5.3. Carcinoma anaplásico y microRNAs

Se han identificado multitud de microRNAs con bajos niveles de expresión en el carcinoma anaplásico, pero sólo unos pocos sobreexpresados, lo que sugiere que los microRNAs infraexpresados pueden tener un papel de genes supresores tumorales o de diferenciación. Algunos microRNAs con bajos niveles de expresión en este tipo de tumor son los miR-25, miR-26a, miR-30a, miR-30d y miR-125b. Uno de los pocos que se han encontrado sobreexpresados es el miR-21 [80].

1.5.4. Papel de los microRNAs en las vías de señalización molecular en el cáncer de tiroides

La vía de señalización de la fosfatidilinositol 3-quinasa (*phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)*) es una vía muy importante en la oncogénesis tiroidea, especialmente en el carcinoma folicular, como ya se mencionó en la sección 1.3.2. En esta vía, la molécula de señalización más importante es la proteína quinasa B (AKT), cuya actividad aumentada potencia la actividad de PI3K o bien reduce la actividad del homólogo de la fosfatasa y la tensina PTEN, ambos eventos relacionados con el tamaño del tumor y la invasión en los tumores derivados del epitelio folicular. La actividad aumentada de AKT se relaciona con mutaciones de RET o RAS, pero no con mutaciones de BRAF [6].

miR-221 y miR-222

Esta familia está codificada en el cromosoma X. Se encuentran sobreexpresados en diferentes tumores además del carcinoma papilar, entre los que destacan el cáncer de colon, el cáncer de pulmón no microcítico, el cáncer de ovario, el cáncer de mama, el carcinoma oral de células escamosas, el carcinoma hepatocelular, el cáncer de próstata, el cáncer renal de células claras, los gliomas, el mieloma múltiple o algunas leucemias. En general su sobreexpresión se ha asociado con una peor evolución en estas neoplasias. Se han postulado como objetivos numerosos genes implicados en el crecimiento celular, la regulación del ciclo celular, la apoptosis, factores de transcripción, proto-oncogenes y supresores tumorales [80]. Por ejemplo, la proteína p27 es un importante regulador del ciclo celular que controla la progresión a la fase G1 y su inhibición depende de la activación de la vía AKT. Un estudio reciente mostró que esta proteína puede ser inhibida por miR-221 y miR-222 [91]. Un importante gen supresor tumoral relacionado con estos microRNAs es PTEN, así como el cluster c-KIT cuyos niveles aumentan en relación con esta familia de microRNA y eso podría jugar un papel oncogénico que no es del todo conocido [80].

miR-146

El miR-146 está codificado en dos loci diferentes, el 5q33 y el 10q24, que codifican respectivamente el miR-146a y el miR-146b. Ambos se encuentran sobreexpresados en el carcinoma papilar, también en la variante folicular y en otros tumores no papilares aunque con mucha menor frecuencia. Su mayor expresión se relaciona con una mayor agresividad del tumor. Uno de sus objetivos más importante es el NF- κ B¹⁴, cuya activación está relacionada con las neoplasias tiroideas [80].

miR-21

La proteína activadora 1 (*activator protein-1* o AP-1) es uno de los represores más importantes de la expresión de PTEN, así como un destacado regulador de algunos eventos fundamentales en el cáncer como la proliferación celular, la apoptosis, la invasión tumoral o la angiogénesis. Parece que miR-21, un microRNA asociado con casi todos los tumores estudiados incluido el carcinoma papilar, es inducido por AP-1. Como se dijo anteriormente una actividad descendida de PTEN está relacionada con el cáncer de tiroides, de modo que si miR-21 está sobreexpresado, PTEN y sus genes relacionados se reprimirán

¹⁴Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas.

llevando a fenómenos oncogénicos [92].

miR-486

En otro interesante estudio se observó que miR-486 podía reprimir a PTEN aumentando la actividad de las vías AKT y PI3K. Parece que este microRNA es un regulador negativo en el carcinoma papilar, de modo que podría tener un efecto dual sobre la vía AKT: podría regular positiva o negativamente algunos reguladores positivos de esta vía como por ejemplo el factor de crecimiento insulínico 1 o IGF-1 [6].

1.5.5. Receptor de hormona tiroidea β y microRNA

Los receptores de hormona tiroidea (THR) han demostrado jugar un papel importante en la carcinogénesis. Estos receptores son factores de transcripción ligando-dependientes que regulan algunos procesos celulares como la proliferación, la diferenciación y la apoptosis. Existen dos genes, el receptor de hormona tiroidea α (THR α) y el receptor de hormona tiroidea β (THR β), que codifican cinco subtipos diferentes de receptores. Junto a las hormonas tiroideas, básicamente junto a T_3 , hay elementos del receptor de hormona tiroidea (TRE) que se localizan habitualmente en las regiones promotoras de los genes diana de T_3 y que tienen una influencia en los mecanismos reguladores ejercidos por el THR. En el proceso están implicados múltiples correpresores y coactivadores [93].

El papel del THR β en la carcinogénesis tiroidea se ha estudiado en ratones mutantes *knock-in* para un THR β truncado que se conocen como TR β^{PV} [94]. Se ha visto que los ratones TR $\beta^{PV/PV}$ desarrollan espontáneamente hiperplasia papilar con la edad y que ésta puede evolucionar dando lugar a invasión capsular, invasión vascular, anaplasia y metástasis a distancia (también con patrón anaplásico y folicular) [95]. Parece que puede haber una relación entre este fenómeno y una actividad incrementada de AKT en estos ratones, y también parece que las hormonas tiroideas podrían activar la señalización PI3K/AKT creando un vínculo entre esta vía y el THR β . En cualquier caso, estos ratones tienen una importante alteración del eje hipófisis-tiroides con niveles elevados de TSH asociados a niveles elevados de T_3 [93].

De acuerdo con estos datos, podríamos aceptar que una mutación de un alelo del THR β en ausencia del alelo salvaje, es suficiente para inducir el cáncer de tiroides como se ha demostrado en los ratones TR $\beta^{PV/-}$. La disminución de función del THR β podría

ser debida a mutaciones somáticas o hipermetilaciones, pero también podría deberse a la regulación positiva por parte de algunos microRNAs. La región 3'UTR del $THR\beta$ aloja catorce sitios de unión para los microRNAs reguladores positivos más importantes implicados en el carcinoma papilar [6]. Jazdzewski et al testaron cuatro de ellos (miR-221, miR-146a, miR-21 and miR-181a) y demostraron que esos microRNAs inhibían el mRNA y las proteínas del $THR\beta$, inhibiendo por tanto los genes dependientes de la unión T_3 - $THR\beta$ [93]. Otros estudios también han demostrados que los microRNAs reguladores negativos también pueden inhibir al $THR\beta$, sugiriendo una compleja regulación T_3 - $THR\beta$ -microRNA en el carcinoma papilar [6].

1.5.6. MicroRNAs como factores pronósticos en el cáncer de tiroides

Anteriormente se mencionó en la sección 1.5.1 que estudios recientes habían mostrado que había un aumento en la expresión aberrante de microRNAs en el carcinoma papilar comparado con el tejido normal, especialmente de los miR-221, miR-222 and miR-146b. Por tanto, estos datos apoyan la idea de que la desregulación de los microRNAs está asociada con la transformación de las células tiroideas. Además, se ha visto que el miR-146b está relacionado no sólo con la carcinogénesis tiroidea, sino también con la invasión extratiroidea, los estados avanzados del carcinoma papilar y las mutaciones BRAF. Estos resultados destacan la importancia del miR-146b como determinante de la agresividad del carcinoma papilar y en la identificación de genes objetivo potencialmente relacionados con la agresividad del tumor [89]. Algunos estudios recientes han demostrado el papel del miR-146b en otros tipos de tumores sólidos como el cáncer de mama, el carcinoma oral de células escamosas o el carcinoma escamoso de pulmón. En este último, miR-146b parece ser uno de los factores más fuertes para determinar el pronóstico.

En un estudio muy reciente, Chou et al evaluaron la eficacia pronóstica de este microRNA determinando los mecanismos por los cuáles el miR-146b influía en la agresividad del carcinoma papilar en las líneas celulares que albergaban mutaciones de BRAF. Evaluaron muestras de tejido obtenidas de una cohorte de 71 pacientes sometidos a tiroidectomía entre 1997 y 2005. Los pacientes fueron clasificados en dos grupos: libres de enfermedad (n=41) o con enfermedad activa (n=30) basándose en los informes médicos al final del seguimiento; y también fueron clasificados como de bajo o alto riesgo de acuerdo al sistema de estadificación TNM de la UICC/AJCC. Sus resultados mostraban que estadios avanzados del tumor, la presencia de metástasis ganglionares cervicales y la expresión de

1.5. DESREGULACIÓN DE LOS MICRORNAS EN EL CÁNCER DE TIROIDES

miR-146b eran factores de riesgo independientes para un mal pronóstico en el carcinoma papilar en un estudio univariante. Como se puede observar en las curvas de Kaplan-Meier (Fig.1.18), demostraron la relación entre los niveles de miR-146b, el estadio del tumor, la presencia de metástasis ganglionares cervicales y las mutaciones BRAF con las tasas de supervivencia libre de enfermedad. De modo que pacientes con niveles de expresión elevados de miR-146b en el tumor primario tenían una menor tasa de supervivencia libre de enfermedad que aquellos con bajos niveles de expresión de miR-146b (Fig.1.7A) con una $p < 0.05$. Respecto al estadio avanzado y la presencia de metástasis cervicales, también encontraron menor tasa de supervivencia libre de enfermedad en comparación con los pacientes con estadios más precoces y sin metástasis ganglionares con una $p < 0.05$ (Fig. 1.7B, C). En cuanto a las mutaciones BRAF, no encontraron diferencias significativas en la supervivencia libre de enfermedad comparado con los pacientes sin mutaciones. Obtuvieron los mismos resultados con los modelos de riesgos proporcionales de las curvas Cox.

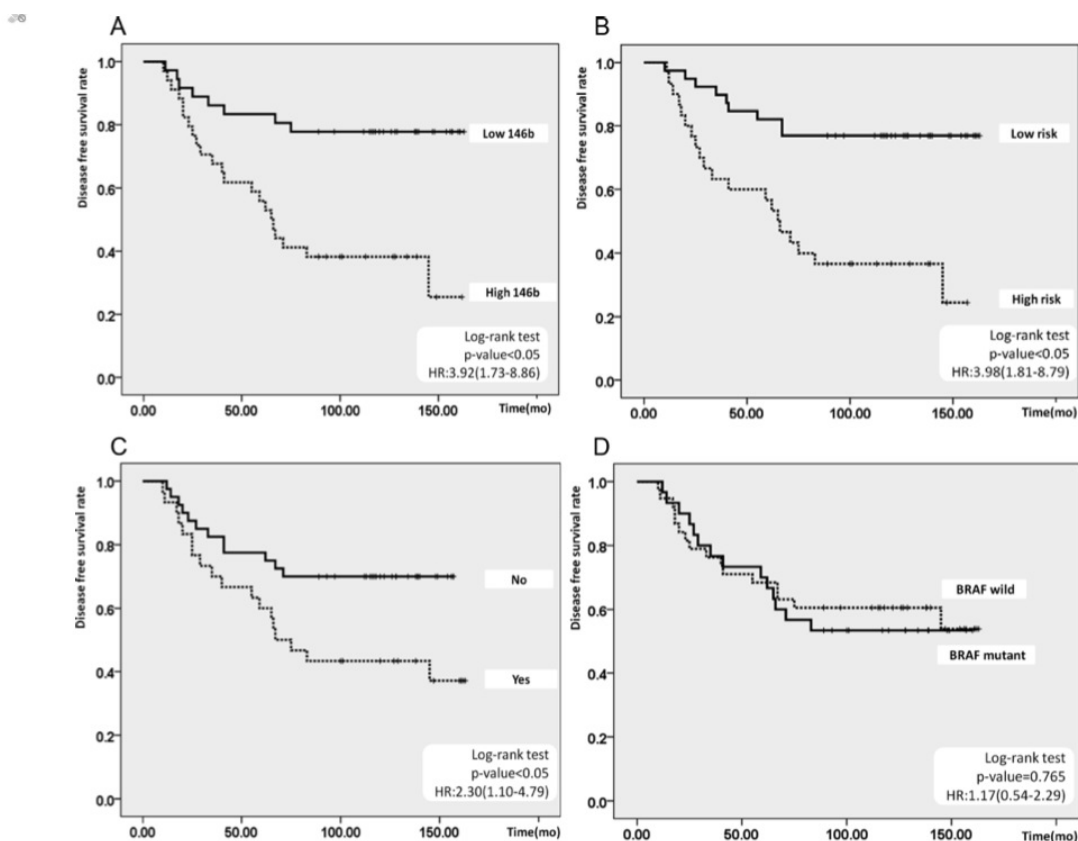


Figura 1.18: Asociación entre la expresión de miR-146b y la tasa de supervivencia libre de enfermedad [96]

Por otra parte, estudiaron el potencial oncogénico de miR-146b en estudios in vitro. Obser-

varon que las células que sobreexpresaban este microRNA eran significativamente menos sensibles a la inhibición del crecimiento celular por contacto célula-célula que aquellas que habían sido transfectadas con un control negativo. Del mismo modo, las células que sobreexpresaban el miR-146b eran menos sensibles a la apoptosis inducida por ciclofosfamida. Finalmente, estudiaron la influencia en la agresividad del tumor, demostrando que la sobreexpresión de miR-146b promueve la migración celular y la invasión *in vitro*, con diferencias estadísticamente significativas con el control, pero independientemente de las mutaciones BRAF.

En conclusión, en este estudio se demostró que los niveles de expresión de miR-146b en el tejido tumoral tienen un valor pronóstico en pacientes con carcinoma papilar y que pueden ser utilizados como un factor predictivo significativo de la evolución de la enfermedad asociado al estadio del tumor y la invasión extratiroidea en el momento de la cirugía. Además, en sus estudios *in vitro* los datos sugieren que su sobreexpresión está relacionada con la agresividad del tumor y su capacidad invasiva [96]. Similares resultados se han encontrado en otros estudios para las familias miR-221 y miR-222 más elevados en tumores con características de peor pronóstico como un mayor tamaño tumoral, invasión capsular, vascular o linfática o presencia de metástasis [83]. En el Cancer Genome Atlas [73] las familias de miR-221 y miR-222 se asociaron a tumores menos diferenciados.

1.5.7. MicroRNAs circulantes

En conclusión de lo anteriormente expuesto, los perfiles de expresión de los microRNAs podrían convertirse en nuevos biomarcadores para el diagnóstico y la caracterización de los tumores tiroideos, pero además podrían tener implicaciones pronósticas o ser posibles objetivos para nuevas terapias moleculares. La mayoría de los estudios que se han llevado a cabo en este campo se han realizado comparando tejido tiroideo normal con muestras de cáncer de tiroides procedentes de la cirugía. Sin embargo, en los últimos años se ha extendido de forma general en oncología la necesidad de encontrar nuevos biomarcadores fáciles de estudiar y en este sentido la sangre puede ser la muestra ideal ya que puede recogerse de forma mínimamente invasiva [97]. De modo que quizá la aplicación más atractiva de los microRNAs como herramienta diagnóstica en el cáncer sea la presencia de microRNAs circulantes en sangre periférica [77]. Todo apunta a que los microRNAs circulantes podrían ser ese nuevo biomarcador, ya que son moléculas muy estables con una resistencia relativa a la actividad RNA-asa, están claramente desregulados en el cáncer (posiblemente con una influencia en su comportamiento biológico y su fenotipo clínico),

1.5. DESREGULACIÓN DE LOS MICRORNAS EN EL CÁNCER DE TIROIDES

sus patrones de expresión son tejido-específicos y pueden ser fácilmente dosificados por técnicas no invasivas [78].

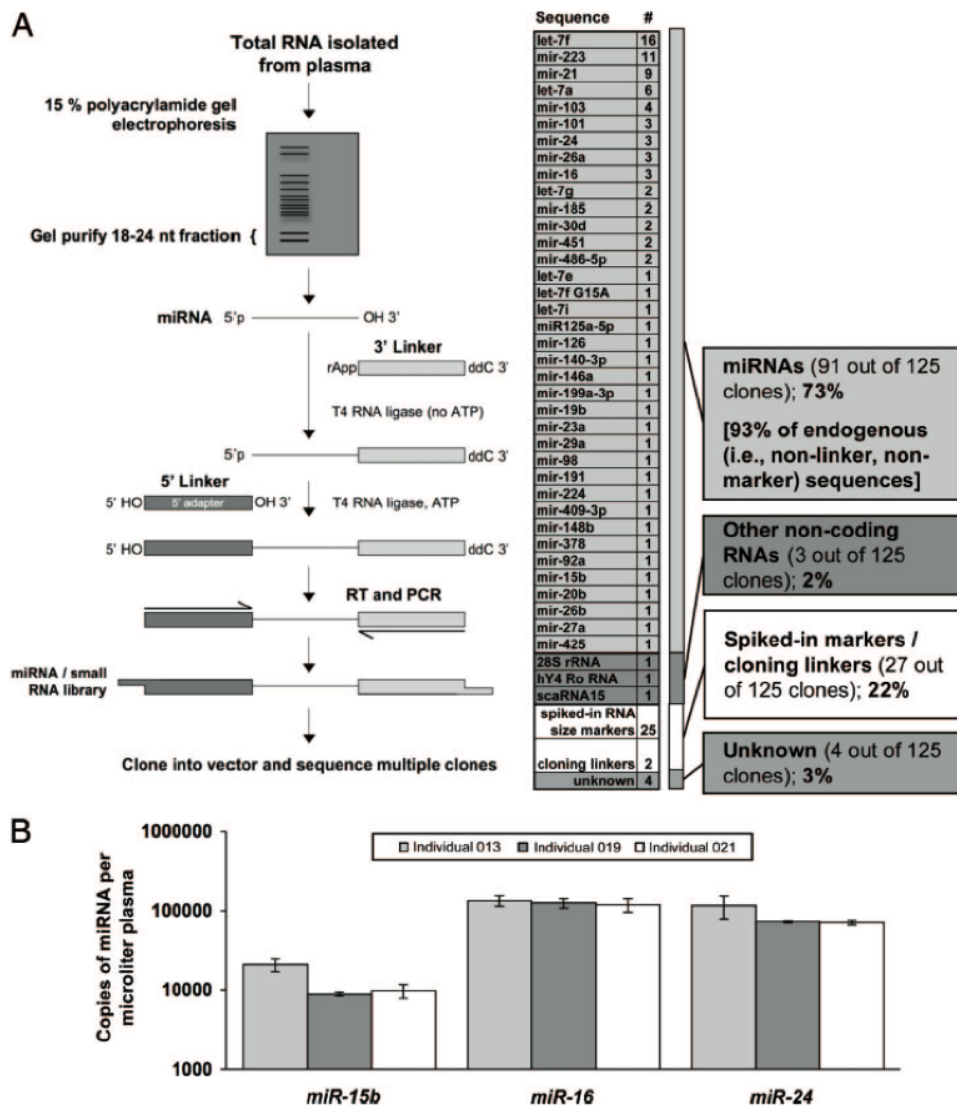


Figura 1.19: Identificación de microRNAs en plasma humano [85]

En un estudio reciente, Mitchell et al demostraron que el miR-141 podía ser un biomarcador sanguíneo para el cáncer de próstata, ya que permitía diferenciar controles sanos de pacientes con cáncer de próstata metastásico. Lo primero que hicieron fue confirmar que derivados de la sangre como el plasma o el suero contenía moléculas pequeñas de RNA de un tamaño concordante con el de los microRNAs (Fig.1.19). Después de esta confirmación llevaron a cabo estudios para demostrar que la mayoría de esas moléculas de un tamaño entre 18 y 24 nucleótidos, eran realmente microRNAs. En este estudio también quedó pro-

bado que los microRNAs son moléculas muy estables en plasma y suero. La resistencia a la actividad RNA-asa podría ser una característica intrínseca o debido a factores extrínsecos, por ejemplo podría estar asociada a proteínas plasmáticas o incluidas en exosomas. Otra idea importante que se expone en este estudio es que existen microRNAs derivados del tumor y que parecen llegar a la circulación en un nivel suficiente como para ser medidos. Una vez confirmados estos datos en modelos animales y humanos, compararon muestras de plasma de pacientes con cáncer de próstata metastásico y controles sanos, eligiendo un grupo de microRNAs en principio específicos para el cáncer de próstata y que no debían estar en los individuos sanos. Encontraron diferencias significativas en los niveles plasmáticos de esos microRNAs entre los casos y los controles. La mayor diferencia se encontró para el miR-141 que estaba 46 veces sobreexpresado en los casos comparados con los controles, con una sensibilidad del 60 % y una especificidad del 100 %. Además, parece haber una moderada correlación con los niveles de PSA y este microRNA parece ser específico de células epiteliales. Por tanto, podría ser útil en la detección del cáncer o de las recurrencias en otros tumores como el cáncer de pulmón o el de mama. Por el contrario, los niveles plasmáticos de otros microRNAs no relacionados con el tumor no mostraron diferencias significativas entre los casos y los controles [85].

Existen otros ejemplos de microRNAs circulantes, algunos no relacionados con el cáncer. Chim et al detectaron un microRNA de posible origen placentario en el plasma de mujeres embarazadas [98] y Lawrie et al detectaron elevaciones de los niveles séricos de microRNAs en pacientes con linfoma [99].

MircoRNAs circulantes y cáncer de tiroides

Existen pocos datos sobre los microRNAs circulantes como herramienta diagnóstica en el cáncer de tiroides, pero en un estudio reciente de Yu et al se compararon los perfiles de microRNAs séricos de pacientes con carcinoma papilar o nódulos tiroideos benignos con controles sanos, así como los perfiles de microRNAs séricos con los perfiles tisulares de pacientes con diferentes características clínico-patológicos de carcinoma papilar. Seleccionaron a 106 pacientes con carcinoma papilar, 95 pacientes con nódulos benignos y 44 controles sanos. Identificaron microRNAs útiles en base a los siguientes criterios: al menos 30 copias en los tres grupos, cambios de al menos 5 veces en la expresión en el grupo de carcinoma papilar comparado con los otros dos y sobreexpresión en dicho grupo.

Sus resultados sugieren que el uso combinado de let-7e, miR-151-5p y miR-222 puede ser

1.5. DESREGULACIÓN DE LOS MICRORNAS EN EL CÁNCER DE TIROIDES

un biomarcador sérico potencial para el diagnóstico preoperatorio del carcinoma papilar con una sensibilidad y especificidad relativamente altas. Además, demostraron una sobreexpresión consistente de miR-151-5p y miR-222 en los pacientes con carcinoma papilar comparados con los casos de nódulos benignos, pero no para let-7e, que podría originarse en las células normales debido a condiciones carcinogénicas. Respecto a las características clínico-patológicas, encontraron que el miR-222 estaba asociado con las metástasis ganglionares y los estadios TNM avanzados en pacientes con carcinoma papilar, mientras el miR-151-5p estaba asociado con las metástasis ganglionares y el mayor tamaño del tumor. Sabemos de estudios previos que el miR-222 tiene como objetivos a p27, p57 y PUMA¹⁵, jugando probablemente un papel importante en la carcinogénesis tiroidea. Por otra parte, miR-151-5p reside en el gen que codifica la proteína quinasa de adhesión focal (FAK), una tirosin-quinasa implicada en la invasión celular y las metástasis. También analizaron la asociación entre los microRNAs séricos y los niveles de Tg, sin encontrar correlación alguna, lo mismo que ocurrió con las mutaciones BRAF. Finalmente, analizaron los cambios en los niveles de microRNAs tras la cirugía, y se observó un descenso significativo en sangre de los niveles de miR-151-5p y miR-222 tras la resección quirúrgica del carcinoma papilar primario, sugiriendo su posible aplicación como biomarcador para monitorizar la recurrencia tumoral y predecir el pronóstico [100].

En otro estudio muy reciente, Lee et al hicieron un análisis parecido para identificar en tejido tiroideo microRNAs que pudieran servir de biomarcadores en el cáncer de tiroides y para establecer si esos mismos microRNAs se podían detectar en sangre periférica. Para ello establecieron cuatro grupos de estudio: dos de ellos retrospectivos, de pacientes con carcinoma papilar con y sin recurrencia del tumor, para comparar la expresión de los microRNA tisulares; los otros dos grupos fueron reclutados de forma prospectiva para medir los niveles de microRNA en sangre periférica y estaban formados por pacientes diagnosticados de cáncer de tiroides sin metástasis ganglionares ni a distancia que iban a ser sometidos a tiroidectomía y por pacientes con bocio multinodular que también iban a ser intervenidos. Finalmente utilizaron tejido tiroideo normal obtenido de pacientes sometidos a laringuectomía y sangre periférica de pacientes sin cáncer como controles sanos. Observaron que los miR-222 y miR-146b estaban claramente sobreexpresados en los pacientes con carcinoma papilar recurrente en comparación con los que no habían tenido recurrencia y a pesar de que en la comparación de la mutación BRAF no encontraron diferencias significativas, los niveles tisulares de miR-221, miR-222 y miR-146b estaban fuertemente relacionados con la presencia de este oncogén. Esto sugiere que la presencia

¹⁵P53 upregulated modulator of apoptosis.

de estos microRNAs está asociada con una mayor agresividad, incluso con más claridad que BRAF. Estos datos son concordantes con estudios anteriores que relacionan estos microRNAs con la agresividad del tumor, con las implicaciones que eso podría tener en el diagnóstico, la planificación del tratamiento y el pronóstico de la enfermedad. Además en el estudio confirman que estos microRNAs se pueden medir en plasma y que sobre todo el miR-222 y el miR-146b están sobreexpresados en plasma de pacientes con carcinoma papilar comparados con pacientes sanos. También confirman, como ya se ha sugerido en otros estudios previos, que los niveles de microRNAs descienden en los pacientes tras la tiroidectomía y el vaciamiento del compartimento central. Sin embargo, observaron que los niveles de esos mismos microRNAs también estaban elevados en pacientes con bocio multinodular, por lo que quizá no sean útiles en el diagnóstico inicial del cáncer de tiroides al igual que ocurre con la tiroglobulina. Concluyen por tanto, que estos tres microRNAs podrían ser útiles en el seguimiento de los pacientes con carcinoma papilar de tiroides, especialmente cuándo la tiroglobulina no sirve como marcador [101].

En definitiva, los microRNAs circulantes son una aproximación prometedora a esos nuevos biomarcadores sanguíneos en cáncer y por tanto también en cáncer de tiroides. Como se ha expuesto anteriormente, parece haber mayores niveles de ciertos microRNAs en la sangre de pacientes con carcinoma papilar comparados con sujetos sanos o con tumores benignos. Por otra parte, algunos microRNAs como el miR-146b han mostrado su utilidad como factor pronóstico. Por tanto, su determinación podría orientar sobre el tratamiento más adecuado en cada paciente [80].

1.5.8. MicroRNA como diana terapéutica en el cáncer de tiroides

Finalmente, otro punto realmente interesante y prometedor de los microRNAs es la posibilidad de que se conviertan en nuevas dianas terapéuticas, ya que a diferencia de los cambios genéticos, las alteraciones en la regulación de los microRNAs puede ser modulada. La sobreexpresión puede ser abolida mediante inhibidores específicos o antimiRs, que son moléculas sintéticas que impiden la unión de un microRNA con su objetivo. Del mismo modo los niveles bajos se pueden revertir mediante la liberación de microRNAs maduros sintéticos que emulen a los endógenos (siRNA) o bien mediante la utilización de precursores de los microRNAs producidos en plásmidos [83].

Se ha descrito en diversos estudios que la inhibición de la expresión de miR-146b incre-

1.5. DESREGULACIÓN DE LOS MICRORNAS EN EL CÁNCER DE TIROIDES

menta la sensibilidad al yodo radiactivo en tumores pobremente diferenciados regulando la expresión del cotransportador sodio-yodo (NIS) [102]. Riesco-Eizaguirre et al demostraron que miR-146b se une a la región 3'-no traducida de PAX8 y NIS, reprimiendo la traducción de la proteína yodada y esto conduce a una insensibilidad al tratamiento con yodo radiactivo [103].

De momento, sólo se han llevado a cabo estudios en animales y aún quedan muchas cuestiones por resolver antes de que se puedan iniciar ensayos clínicos en humanos [83].

Capítulo 2

Hipótesis y objetivos

2.1. Hipótesis

La desregulación de los microRNA juega un importante papel en la carcinogénesis tiroidea. Algunos de ellos, como los miR-146, miR-221 y miR-222 se han identificado claramente sobreexpresados en tejido tumoral tiroideo comparado con tejido normal, incluso algunos se han encontrado sobreexpresados en sangre periférica. Aunque aún hay muy pocos datos respecto a los microRNA circulantes en el carcinoma diferenciado de tiroides. Nuestra hipótesis es que los microRNA circulantes en sangre periférica pueden tener una relación importante con la evolución de la enfermedad.

2.2. Objetivos

2.2.1. Objetivo principal

El objetivo principal de este proyecto es definir el perfil de expresión de microRNAs de una muestra de pacientes con carcinoma diferenciado de tiroides (carcinoma papilar y carcinoma folicular) y su relación con el pronóstico y la evolución de la enfermedad.

Objetivos específicos

- Objetivo 1: Identificar factores comunes entre las características clinicopatológicas, de buen pronóstico y mal pronóstico en nuestra población con carcinoma diferenciado de tiroides.
- Objetivo 2: Determinar las diferencias en la expresión de un grupo de microRNAs en sangre periférica, relacionados con la oncogénesis, entre diferentes poblaciones de pacientes con carcinoma diferenciado de tiroides atendiendo a dos clasificaciones: la primera establece tres grupos que son pacientes curados, pacientes no curados pero con enfermedad estable y pacientes con enfermedad activa o en progresión; la segunda se basa en la estratificación dinámica del riesgo de recurrencia y establece cuatro grupos que son respuesta excelente, respuesta bioquímica incompleta, respuesta estructural incompleta y respuesta indeterminada.
- Objetivo 3: Determinar si existe relación entre los niveles de expresión de los diferentes microRNAs analizados y los niveles de Tg en el momento de la extracción de la muestra.

CAPÍTULO 2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

- Objetivo 4: Establecer, según los resultados de estas comparaciones, si los niveles de microRNAs en sangre periférica tienen validez como marcador pronóstico en la evolución de la enfermedad, bien sea como factor complementario o como factor sustitutivo de otros marcadores como la Tg.



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Capítulo 3

Diseño y metodología

3.1. Diseño

Este estudio es un estudio longitudinal y analítico, retrospectivo, de casos y controles, que incluye determinación de marcadores moleculares experimentales.

3.2. Pacientes y métodos

3.2.1. Población de estudio

La población de estudio pertenece al área de cobertura del Hospital Universitario Virgen de la Victoria de Málaga. Se trata de un hospital de tercer nivel con un Centro Periférico de Especialidades asociado. Es centro de referencia del área de la provincia de Málaga y asiste a una población aproximada de 750000 habitantes. Nuestros grupos de estudio se seleccionaron de la consulta específica de cáncer de tiroides. De la muestra general de pacientes con carcinoma diferenciado de tiroides, se seleccionó a los tres grupos de estudio con los siguientes criterios de inclusión:

- Edad >18 años.
- Al menos 12 meses de seguimiento en la consulta específica desde el diagnóstico inicial.
- Diagnóstico histológico de carcinoma diferenciado de tiroides de origen folicular (carcinoma papilar y carcinoma folicular y sus distintas variantes histológicas).
- Aceptación de participar en el estudio y firma del consentimiento informado por escrito. (Apéndice ??).

Como criterios de exclusión se tuvieron en cuenta los siguientes:

- Seguimiento inferior a 12 meses en la consulta específica desde el diagnóstico inicial.
- Diagnóstico histológico de carcinoma medular, pobremente diferenciado o anaplásico.
- No aceptación por parte del paciente de la participación en el estudio.

La muestra (n=60) quedó dividida en tres grupos de estudio:

- Grupo control: (n=24) pacientes con carcinoma diferenciado de tiroides que cumplen criterios de curación al primer año de seguimiento, según criterios de tiroglobulina y técnicas de imagen (ecografía cervical y/o rastreo corporal total). Durante el seguimiento posterior estos pacientes mantuvieron criterios de curación.
- Grupo de estudio 1: (n=17) pacientes que no cumplen criterios de curación, pero que mantienen su enfermedad estable, bien por criterios de tiroglobulina o técnicas de imagen (ecografía cervical, rastreo corporal total, TC o PET).
- Grupo de estudio 2: (n=19) pacientes con enfermedad activa o en progresión, según criterios de tiroglobulina o técnicas de imagen (ecografía cervical, rastreo corporal total, TC o PET).

Posteriormente y de cara al análisis de los resultados, la muestra se reclasificó según la escala de estratificación dinámica de Tuttle [45], teniendo en cuenta la última prueba de imagen realizada y la tiroglobulina y anticuerpos antitiroglobulina del momento de la extracción de la muestra de estudio:

- Respuesta excelente: (n=24) pacientes con ausencia de evidencia clínica de tumor, imagen en rastreos con ausencia de captación y niveles de tiroglobulina inferiores a 0.2 ng/mL bajo supresión o inferiores a 1 ng/mL estimulada, en ausencia de anticuerpos antitiroglobulina.
- Respuesta bioquímica incompleta: (n=16) pacientes con tiroglobulina elevada o incremento de los anticuerpos antitiroglobulina sin otra evidencia de enfermedad. Consideramos incremento significativo a partir del 25 % respecto a la última determinación.
- Respuesta estructural incompleta: (n=20) pacientes con enfermedad persistente o metastásica detectada.

No hubo ningún paciente con respuesta indeterminada.

3.2.2. Metodología

Todos los pacientes en nuestro estudio fueron sometidos a una extracción de sangre periférica mediante una única punción en la flexura del codo, que se realizó en el Hospital de Día de Diabetes de nuestro centro. Además, fueron tallados y pesados y se les midió la presión arterial en sedestación. De esta muestra se obtuvieron dos fracciones: plasma y células periféricas, para realizar dos análisis diferentes. En primer lugar, un análisis rutinario en el laboratorio general de nuestro centro para determinar una serie de parámetros bioquímicos generales y específicos de la función tiroidea. El segundo análisis de la muestra se ha llevado a cabo en el laboratorio de investigación para la determinación de un grupo de microRNAs en sangre periférica.

Variables de estudio

En todos los pacientes de la muestra se recogieron una serie de variables clínico-demográficas y otras variables analíticas:

- Variables clínico-demográficas
 - Edad.
 - Peso.
 - Talla.
 - Tensión arterial sistólica y diastólica.
 - Antecedentes personales y tratamientos concomitantes.
 - Antecedentes familiares de patología tiroidea.
 - Antecedentes personales de patología tiroidea y tipo.
 - Antecedentes de radiación cervical.
 - Edad al diagnóstico.
 - Sexo del individuo.

- Tiempo transcurrido desde el diagnóstico.
 - Afectación adenopática prequirúrgica.
 - Tipo de intervención.
 - Histología de la PAAF y de la pieza quirúrgica.
 - Invasión linfática, vascular o de tejidos adyacentes en la cirugía.
 - Ablación con radioyodo y dosis en mCi.
 - Rastreo tras la ablación.
 - Número de dosis de radioyodo recibidas.
 - Número de rastreos realizados.
 - Metástasis al diagnóstico y durante el seguimiento.
 - Ecografía al primer año.
 - Tiroglobulina estimulada al primer año (al tercer y quinto día).
 - Líneas de tratamiento recibidas, tipo y causas de la necesidad de nuevos tratamientos.
- Variables analíticas
- Bioquímicas: glucosa, urea, creatinina, sodio, potasio, cloro, GOT¹, GPT², GGT³, TSH, T4L, tiroglobulina y anticuerpos antitiroglobulina.
 - MicroRNAs: miR-221, miR-222 y miR-146.

¹transaminasa glutámico oxalacética o aspartato aminotransferasa

²transaminasa glutámico-pirúvica o alanina aminotransferasa

³gamma-glutamyl-transpeptidasa

Protocolo miRNeasy Mini Kit (Qiagen). Preparación de fracciones enriquecidas en miRNA (separación de RNAs de mayor longitud >200 nucleótidos).

Este protocolo permite la purificación de una fracción separada enriquecida en miRNAs y otras pequeñas especies de RNA. La eliminación de los RNAs de mayor longitud tales como mRNA o rRNA puede reducir el background en determinadas aplicaciones posteriores. Para obtener esta fracción enriquecida en miRNAs se precisan unas columnas adicionales específicas: RNeasy MinElute Cleanup Kit (cat. N^o. 74204) y la extracción debe realizarse siempre en frío (para evitar la degradación del RNA). El procedimiento es el siguiente:

- Tomar la muestra de sangre total, suero o plasma: 200/250 uL.
- Adición de 700 uL de QIAzol Lysis Reagent para proceder a su disrupción y homogeneización.
 - a. Pipetear la muestra con el QIAzol para su mezcla.
 - b. Vortear 1 minuto.
 - c. Pasar la muestra por jeringa con aguja de 0.5mm varias veces.
 - d. Utilizar el polytron si se considerase necesario.
- Dejar reposar los tubos con el homogeneizado durante 5 min a RT (este paso promueve la disociación de los complejos nucleoprotéicos).
- Añadir 140 uL de cloroformo al tubo que contiene el homogeneizado y taparlo de manera segura. Agitar de forma vigorosa con las manos durante 15 segundos (una meticulosa mezcla es importante para el proceso de separación de fases).
- Dejar reposar los tubos con el homogeneizado durante 2-3 min a RT.
- Centrifugar 15 minutos a 12000 xg a 4°C. Dejar subir la temperatura de la centrifuga tras la centrifugación hasta alcanzar la RT (15-25°C).
- Tras la centrifugación, las muestras se separan en 3 fases, una fase superior incolora que es la fase acuosa que contiene el RNA, una interfase blanca que contiene el DNA, y una fase inferior rojiza que es la fase orgánica. El volumen aproximado de

la fase acuosa debe ser de unos 350 uL.

- Transferir la fase acuosa superior a un tubo de reacción nuevo. Añadir un volumen de etanol al 70 % (unos 350 uL) y mezclar cuidadosamente utilizando un vórtex, no centrifugar. Proceder inmediatamente al siguiente paso.
- Pipetear la muestra (aproximadamente 700 uL), incluyendo algún precipitado que se haya podido formar, a las RNeasy Mini spin column situadas en tubos de colección de 2 mL. Cerrar la tapa suavemente y centrifugar a > 8000 xg (>10000 rpm) durante 15 segundos a RT.
- Pipetear el eluido (que contiene los miRNA) en un tubo de reacción de 2 mL. En las comunas RNeasy Mini spin se quedan “atrapados” los RNAs de >200 nucleótidos. Si se desea purificar esta fracción, almacenar las columnas a 4°C o a RT, pero no durante mucho tiempo (lo ideal es acabar de purificar los miRNA y continuar con la purificación de los RNAs de mayor longitud).

Purificación de la fracción enriquecida en microRNA (utilizando RNeasy MinElute Cleanup Kit).

- Añadir 450 uL de etanol al 100 % (0.65 volumen) al eluido del paso anterior y mezclar cuidadosamente mediante uso de un vórtex, no centrifugar. Proceder inmediatamente al siguiente paso.
- Pipetear 700 uL de la muestra en una RNeasy MinElute spin column situada en un tubo de colección de 2mL. Cerrar la tapa suavemente y centrifugar a > 8000 xg (>10000 rpm) durante 15 segundos a RT. Desechar el eluido. Repetir este paso hasta que el total de la muestra haya sido pipeteado dentro de las columnas. Desechar los eluidos cada vez.
- OPCIONAL: Añadir 700 uL de Buffer RWT a las RNeasy MinElute spin column. Cerrar la tapa suavemente y centrifugar a > 8000 xg (>10000 rpm) durante 15 segundos a RT para limpiar las columnas. Desechar el eluido. No realizar este paso si se está purificando ambas fracciones de RNAs, ya que la mayoría de las impurezas se eliminan en el primer paso con la RNeasy Mini spin column.
- Pipetear 500 uL de Buffer RPE a las RNeasy MinElute spin column. Cerrar la tapa

suavemente y centrifugar a > 8000 xg (>10000 rpm) durante 15 segundos a RT. Desechar el eluido.

- Añadir 500 uL de etanol al 80 % a las RNeasy MinElute spin column. Cerrar la tapa suavemente y centrifugar a > 8000 xg (>10000 rpm) durante 2 minutos a RT para secar la membrana de las columnas. Desechar el eluido y el tubo de colección. Tras la centrifugación, quitar la RNeasy MinElute spin column del tubo de colección cuidadosamente para que la columna no entre en contacto con el eluido.
- Poner la RNeasy MinElute spin column en un nuevo tubo de colección de 2mL. Abrir la tapa y centrifugar durante 5 minutos a > 8000 xg (>10000 rpm).
- Poner la RNeasy MinElute spin column en un tubo de colección de 1.5 mL y pipetear 14 uL de RNase free water en la membrana de las columnas. Cerrar la tapa suavemente y centrifugar a > 8000 xg (>10000 rpm) durante 1 minuto a RT para eluir la fracción enriquecida en miRNA.

Purificación del RNA total (utilizando RNeasy Mini spin column).

- Pipetear 700 uL de Buffer RWT en la RNeasy Mini spin column del paso 10. Cerrar la tapa suavemente y centrifugar a > 8000 xg (> 10000 rpm) durante 15 segundos a RT para limpiar las membranas de las columnas. Desechar el eluido.
- OPCIONAL: DNase digestión.
- Añadir 500 uL de Buffer RPE a las RNeasy Mini spin column. Cerrar la tapa suavemente y centrifugar a > 8000 xg (>10000 rpm) durante 15 segundos a RT para limpiar las membranas de las columnas. Desechar el eluido.
- Añadir otros 500 uL de Buffer RPE a las RNeasy Mini spin column. Cerrar la tapa suavemente y centrifugar a > 8000 xg (>10000 rpm) durante 15 segundos a RT para limpiar las membranas de las columnas. Desechar el eluido y el tubo de colección.
- Poner las RNeasy Mini spin column en un nuevo tubo de colección de 2 mL. Abrir las tapas y centrifugar a máxima velocidad durante 1 minuto
- Poner las RNeasy Mini spin column en un nuevo tubo de colección de 1.5 mL. Pipetear 30-50 uL de RNase-free water directamente en la membrana de la columna.

Cerrar la tapa cuidadosamente y centrifugar durante 1 minuto a > 8000 xg (>10000 rpm) a RT para eluir el RNA total.

- Si el rendimiento de RNA es mayor de 30 ug, repetir el paso anterior con un segundo volumen de 30-50 uL de RNase-free water. Eluir en el mismo tubo de colección.

3.2.3. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos se realizó empleando el programa SPSS (versión 15.0, para Windows; SPSS Ibérica, España).

Para variables continuas se evaluó si seguían una distribución normal mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. Se emplearon medidas de tendencia central (media) y dispersión (desviación estándar, rango) para variables continuas y distribución de frecuencias absolutas y relativas para variables categóricas.

Las diferencias para las variables de interés entre grupos de comparación se realizaron mediante el test de la t de Student para dos muestras independientes y el test de la U de Mann-Whitney en el caso de variables continuas. Para variables que no cumplieran distribución normal, se utilizó el test de Kruskal-Wallis. Para variables categóricas se utilizó el test de la Chi Cuadrado de Pearson y el test exacto de Fisher. Para las diferencias entre las variables de interés entre múltiples grupos se utilizó el análisis de la varianza con un factor (ANOVA) y para la comparación de medias se empleó la prueba de rango múltiple de Duncan. La relación entre las variables cuantitativas se analizó usando el test de correlaciones bivariadas de Pearson o de Spearman. Posteriormente se realizaron pruebas de regresión lineal y logística. Para todos los cálculos será considerada significativa una probabilidad p menor de 0.05 para dos colas.



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Capítulo 4

Resultados

4.1. Características basales de los grupos de estudio

En las dos secciones siguientes se muestran las características basales de cada grupo de estudio y sus diferencias, atendiendo a las dos clasificaciones utilizadas en el análisis de datos, tal como explicamos en la sección 3.2.1.

4.1.1. Variables cuantitativas

En el análisis y comparación de las variables cuantitativas, siguiendo la clasificación según la escala dinámica de riesgo, se encontraron diferencias significativas entre los diferentes grupos de estudio en la edad al diagnóstico que fue unos 10 años mayor en los pacientes con peor respuesta al tratamiento que en los que tuvieron respuesta excelente, la Tg estimulada del primer año al quinto día que fue más alta en los pacientes con mala respuesta, la tiroxina en el momento de la extracción y la Tg de la extracción. Los niveles del miR-222 fueron el doble en pacientes con respuesta estructural incompleta con diferencias casi significativas. El nivel de miR-146 es también cercano a la significación estadística.

Si realizamos el análisis según nuestra clasificación inicial en tres grupos según criterios de curación, se pierden las diferencias significativas de los niveles de microRNA 222.

Tabla 4.1: Características basales. Variables cuantitativas. Clasificación según escala dinámica del riesgo de recurrencia.

Variable	Respuesta excelente	Respuesta bioquímica incompleta	Respuesta estructural incompleta	p
	Media (DS)	Media (DS)	Media (DS)	
Edad (años)	51.3 (\pm 13.9)	42.75 (\pm 13.2)	54.75 (\pm 15.8)	0.48
Peso (kg)	70.8 (\pm 12.2)	85.9 (\pm 27.9)	73.3 (\pm 15.4)	0.062
Talla (cm)	162.1 (\pm 6.2)	165.02 (\pm 9.1)	164.7 (\pm 6.9)	0.421
Edad al diagnóstico (años)	40.7 (\pm 14.9)	31.25 (\pm 12.3)	50.5 (\pm 16.33)	0.001
Nº dosis de RAI	0.91 (\pm 0.48)	3.06 (\pm 1.8)	2.2 (\pm 1.36)	0.000
Nº rastreos	2 (\pm 0.84)	5.73 (\pm 3.1)	3.35 (\pm 2.1)	0.000

CAPÍTULO 4. RESULTADOS

Variable	Respuesta ex- celente	Respuesta bioquímica incompleta	Respuesta estructural incompleta	p
Tg ablación (ng/mL)	1.41 (± 2.13)	19.27 (± 23.6)	2553 (± 9688) ¹	0.377
Ac antiTg abla- ción (UI/mL)	23.9 (± 25)	54.65 (± 87.2)	19.8 (± 4.99)	0.153
Dosis 1 ^a abla- ción (mCi)	102.4 (± 19.2)	108.9 (± 30.9)	117.53 (± 49.88)	0.408
Tg estimulada 1 ^o año día 3 (ng/mL)	0.54 (± 0.87)	9.2 (± 11.2)	21.1 (± 26.9)	0.196
Ac antiTg 1 ^o año día 3 (UI/mL)	27.65 (± 13.8)	10.9 (± 10.2)	12.7 (± 7.9)	0.114
Tg estimulada 1 ^o año día 5 (ng/mL)	0.2 (± 0.07)	20.84 (± 38.5)	29.1 (± 30.12)	0.003
Ac antiTg 1 ^o año día 5 (UI/mL)	24.76 (± 16.27)	27.9 (± 8.64)	18.01 (± 22.38)	0.182
Glucemia basal (mg/dl)	107 (± 32.9)	97.6 (± 12.6)	104.1 (± 30.5)	0.529
Creatinina (mg/dl)	0.79 (± 0.2)	0.73 (± 0.24)	0.83 (± 0.27)	0.397
TSH extracción (μ UI/mL)	3.11 (± 5.74)	0.38 (± 0.84)	1.16 (± 4.28)	0.137
T4L extracción (ng/dL)	1.3 (± 0.24)	1.57 (± 0.34)	1.58 (± 0.24)	0.002
Tg extracción (ng/mL)	0.2 (± 0.02)	4.09 (± 7.19)	48.05 (± 104.4)	0.025
Ac antiTg extracción (UI/mL)	9.26 (± 14.6)	35.4 (± 68.9)	11.85 (± 24.03)	0.099
Niveles miR-146 (copias/ μ L)	0.045 (± 0.03)	0.033 (± 0.014)	0.005 (± 0.043)	0.122

¹Desviación por un valor extremo

4.1. CARACTERÍSTICAS BASALES DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO

Variable	Respuesta ex- celente	Respuesta bioquímica incompleta	Respuesta estructural incompleta	p
Niveles miR-221 (copias/ μ L)	0.1 (\pm 0.07)	0.09 (\pm 0.05)	0.13 (\pm 0.12)	0.387
Niveles miR-222 (copias/ μ L)	0.0278 (\pm 0.02)	0.0273 (\pm 0.011)	0.042 (\pm 0.034)	0.076

Tabla 4.2: Características basales. Variables cuantitativas. Clasificación según criterios de curación.

Variable	Pacientes cu- rados	Pacientes con enfermedad estable	Pacientes con enfermedad activa o en progresión	p
Edad (años)	Media (DS) 51.3 (\pm 13.9)	Media (DS) 43.05 (\pm 13.64)	Media (DS) 55.1 (\pm 15.6)	0.46
Peso (kg)	70.8 (\pm 12.2)	82.4 (\pm 25.7)	75.9 (\pm 19.3)	0.189
Talla (cm)	162.1 (\pm 6.2)	164.5 (\pm 8.9)	165.3 (\pm 6.6)	0.409
Edad al diagnóstico (años)	40.7 (\pm 14.9)	33.1 (\pm 12.9)	49.9 (\pm 17.4)	0.007
Nº dosis de RAI	0.91 (\pm 0.48)	2.8 (\pm 1.8)	2.3 (\pm 1.37)	0.000
Nº rastreos	2 (\pm 0.84)	5 (\pm 3.01)	3.84 (\pm 2.6)	0.000
Tg ablación (ng/mL)	1.41 (\pm 2.13)	19.9 (\pm 19.98)	3185.9 (\pm 10829.18) ²	0.3258
Ac antiTg abla- ción (UI/mL)	23.9 (\pm 25)	44.4 (\pm 77.9)	22.27 (\pm 21.08)	0.407
Dosis 1ª abla- ción (mCi)	102.4 (\pm 19.2)	112.35 (\pm 32.64)	114.78(\pm 50.12)	0.515
Tg estimulada 1º año día 3	0.54 (\pm 0.87)	10.29 (\pm 10.29)	18.57 (\pm 28.17)	0.246

²Desviación por un valor extremo

CAPÍTULO 4. RESULTADOS

Variable	Pacientes cu- rados	Pacientes con enfermedad estable	Pacientes con enfermedad activa o en progresión	p
Ac antiTg 1º año día 3 (UI/mL)	27.65 (\pm 13.8)	15.12 (\pm 10.49)	7.2 (\pm 1.7)	0.076
Tg estimulada 1º año día 5 (ng/mL)	0.2 (\pm 0.07)	22.06 (\pm 35.63)	28.9 (\pm 32.5)	0.003
Ac antiTg 1º año día 5 (UI/mL)	24.76 (\pm 16.27)	24.7 (\pm 8.9)	17.4 (\pm 23.8)	0.245
Glucemia basal (mg/dl)	107 (\pm 32.9)	95.6 (\pm 10.7)	106.5 (\pm 31.4)	0.353
Creatinina (mg/dl)	0.79 (\pm 0.2)	0.74 (\pm 0.23)	0.83 (\pm 0.28)	0.553
TSH extracción (μ UI/mL)	3.11 (\pm 5.74)	0.38 (\pm 0.82)	1.21 (\pm 4.39)	0.134
T4L extracción (ng/dL)	1.3 (\pm 0.24)	1.55 (\pm 0.29)	1.6 (\pm 0.29)	0.001
Tg extracción (ng/mL)	0.2 (\pm 0.02)	22.3 (\pm 77.01)	33.9 (\pm 84.7)	0.206
Ac antiTg extracción (UI/mL)	9.26 (\pm 14.6)	33.5 (\pm 67.12)	12.26 (\pm 24.62)	0.131
Niveles miR-146 (copias/ μ L)	0.045 (\pm 0.03)	0.046 (\pm 0.995)	0.045 (\pm 0.036)	0.122
Niveles miR-221 (copias/ μ L)	0.1 (\pm 0.07)	0.13 (\pm 0.1)	0.09 (\pm 0.077)	0.347
Niveles miR-222 (copias/ μ L)	0.0278 (\pm 0.02)	0.036 (\pm 0.02)	0.035 (\pm 0.01)	0.464

4.1.2. Variables cualitativas

A continuación, se presentan las diferencias intergrupos de las variables cualitativas, de las que sólo el sexo, la afectación de adenopatías, la invasión linfática, vascular y de tejidos adyacentes y las metástasis tanto al diagnóstico como al seguimiento presentan diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 4.3: Variables cualitativas. Antecedentes familiares de tiroidopatía. Clasificación según escala dinámica del riesgo.

Tipo de tiroidopatía	Respuesta excelente	Respuesta bioquímica incompleta	Respuesta estructural incompleta	total	p
Desconocido	21	14	18	53	
Bocio multinodular	2	0	0	2	
Cáncer de tiroides	0	0	1	1	
Hipotiroidismo	1	1	1	3	
Hipotiroidismo y bocio multinodular	0	1	0	1	
Total	24	16	20	60	
					0.265

Tabla 4.4: Variables cualitativas. Antecedentes personales de tiroidopatía. Clasificación según escala dinámica del riesgo.

Tipo de tiroidopatía	Respuesta excelente	Respuesta bioquímica incompleta	Respuesta estructural incompleta	total	p
Desconocido	11	9	9	29	
Bocio multinodular	7	4	7	21	

CAPÍTULO 4. RESULTADOS

Tipo de tiroidopatía	Respuesta excelente	Respuesta bioquímica incompleta	Respuesta estructural incompleta	total	p
Tiroiditis crónica	5	1	2	9	
Hipotiroidismo	0	0	1	1	
Hipotiroidismo y tiroiditis crónica	1	2	1	4	
Total	24	16	20	60	
					0.454

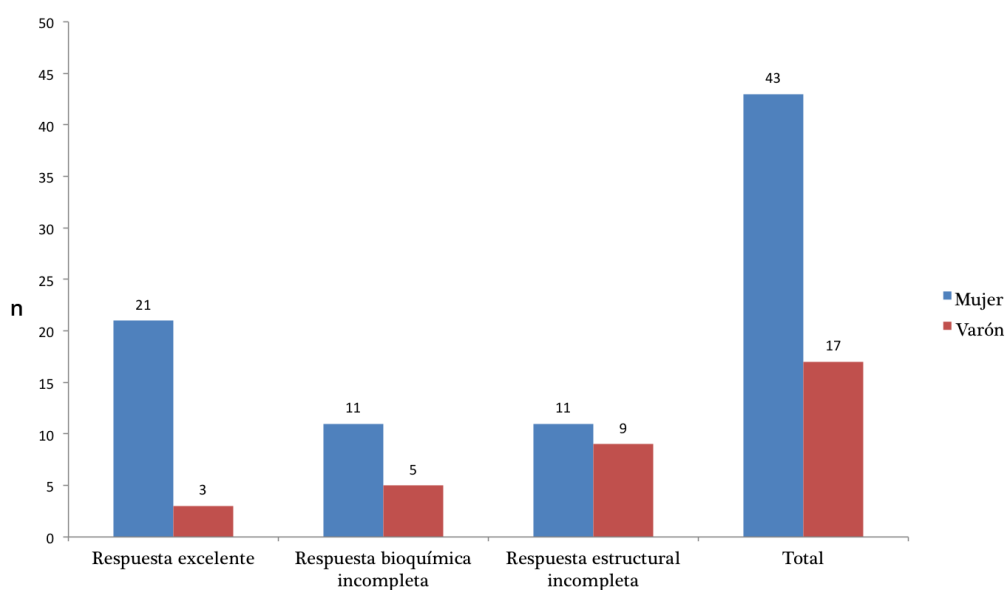


Figura 4.1: Variables cualitativas. Sexo. Clasificación dinámica del riesgo. $p=0.056$

Como puede observarse en la figura 4.1, nuestra muestra estaba compuesta por una mayoría de mujeres que en general tuvieron mejor respuesta al tratamiento inicial, presentando los hombres una mayor tasa de respuesta bioquímica incompleta y respuesta estructural incompleta que de respuesta excelente. Las diferencias fueron estadísticamente casi significativas ($p=0.056$).

4.1. CARACTERÍSTICAS BASALES DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO

Tabla 4.5: Variables cualitativas. Histología de la PAAF. Clasificación según escala dinámica del riesgo.

Resultados PAAF	Respuesta excelente	Respuesta bioquímica incompleta	Respuesta estructural incompleta	total	p
Carcinoma papilar	9	8	11	28	
Proliferación folicular	9	3	3	15	
Carcinoma folicular con Células de Hürthle	0	1	1	2	
Benigna	2	1	1	4	
No PAAF previa	4	3	4	11	
Total	24	16	20	60	
					0.763

Tabla 4.6: Variables cualitativas. Histología de la pieza quirúrgica. Clasificación según escala dinámica del riesgo.

Histología	Respuesta excelente	Respuesta bioquímica incompleta	Respuesta estructural incompleta	total	p
Carcinoma papilar	17	12	12	41	
Carcinoma papilar patrón folicular	1	2	2	5	
Carcinoma folicular	3	1	1	5	

CAPÍTULO 4. RESULTADOS

Histología	Respuesta excelente	Respuesta bioquímica incompleta	Respuesta estructural incompleta	total	p
Carcinoma de Células de Hürthle	3	0	2	5	
Carcinoma papilar + folicular	0	1	1	2	
Carcinoma papilar de células altas	0	0	2	2	
Total	24	16	20	60	
					0.499

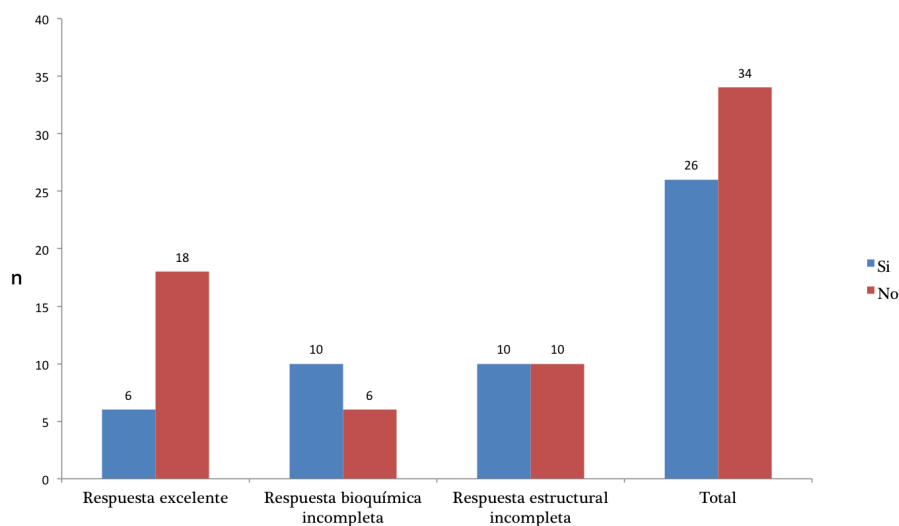


Figura 4.2: Variables cualitativas. Afectación ganglionar. Clasificación dinámica del riesgo. $p=0.049$

En la figura 4.2 se muestran las diferencias en la afectación ganglionar entre los distintos grupos, con predominio en los pacientes con respuesta bioquímica incompleta y estructural

4.1. CARACTERÍSTICAS BASALES DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO

incompleta. Las diferencias son estadísticamente significativas (p 0.049).

En la figura 4.3 quedan reflejadas las diferencias entre los grupos respecto a los datos de invasión linfática en la pieza quirúrgica, que fue más frecuente en los grupos de respuesta incompleta, tanto bioquímica como estructural, con diferencias estadísticamente significativas (p 0.005).

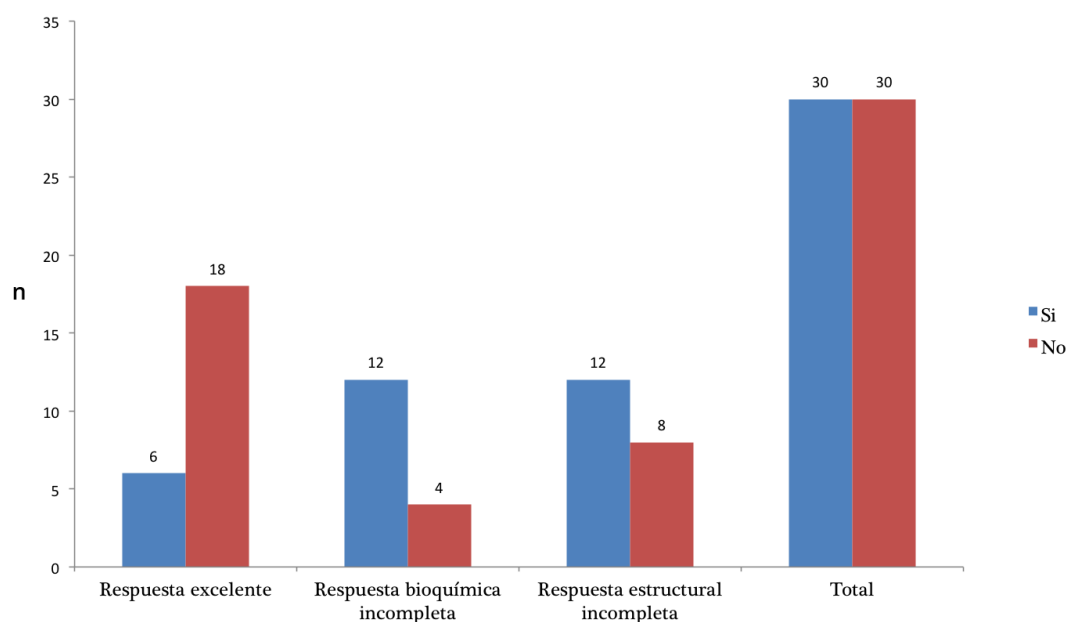


Figura 4.3: Variables cualitativas. Datos de invasión linfática en la pieza quirúrgica. Clasificación dinámica del riesgo. p 0.005

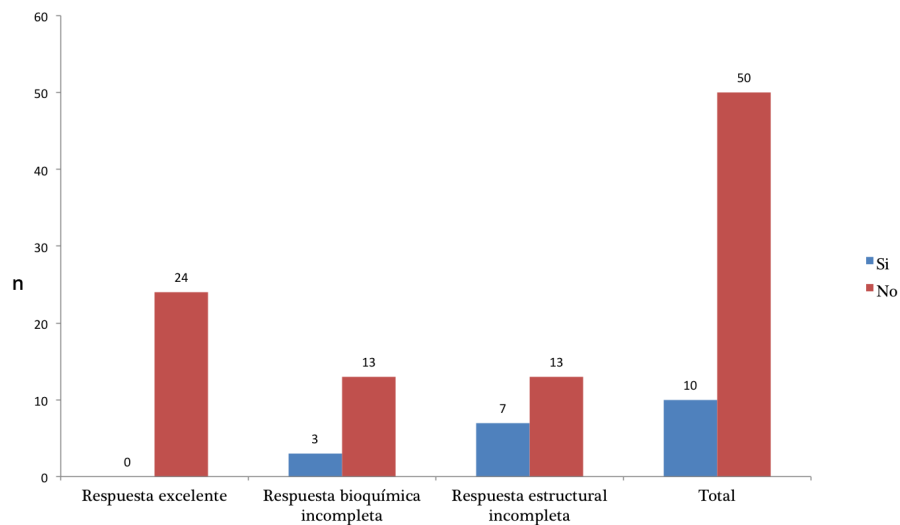


Figura 4.4: Variables cualitativas. Datos de invasión vascular en la pieza quirúrgica. Clasificación dinámica del riesgo. $p < 0.002$

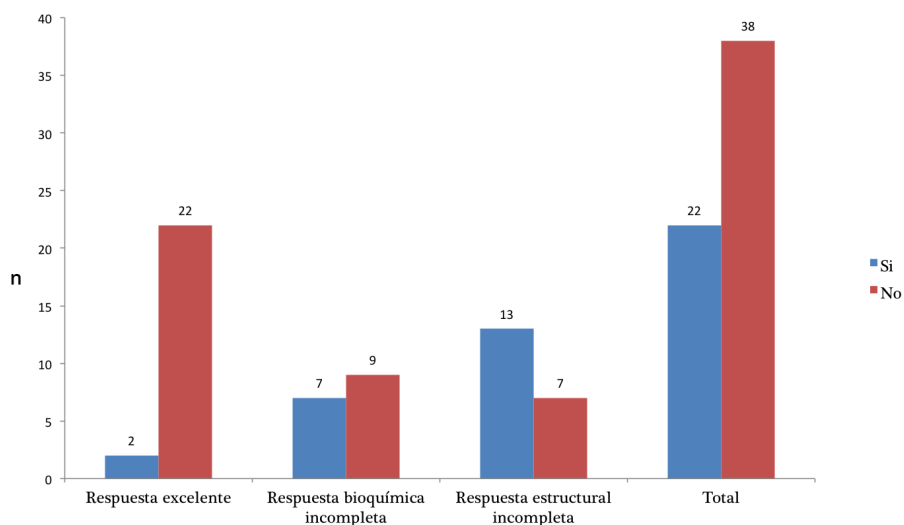


Figura 4.5: Variables cualitativas. Invasión de tejidos adyacentes. Clasificación dinámica del riesgo. $p < 0.000$

En la figura 4.4 están representadas las diferencias en cuanto a los datos de invasión vascular en el análisis histológico, que aparecen sólo en los pacientes con respuesta incompleta sobre todo estructural, con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.002$). En la siguiente figura, la 4.5, mostramos las diferencias en invasión de tejidos adyacentes,

4.1. CARACTERÍSTICAS BASALES DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO

decantada de forma significativa hacia los pacientes con respuesta estructural incompleta ($p < 0.000$).

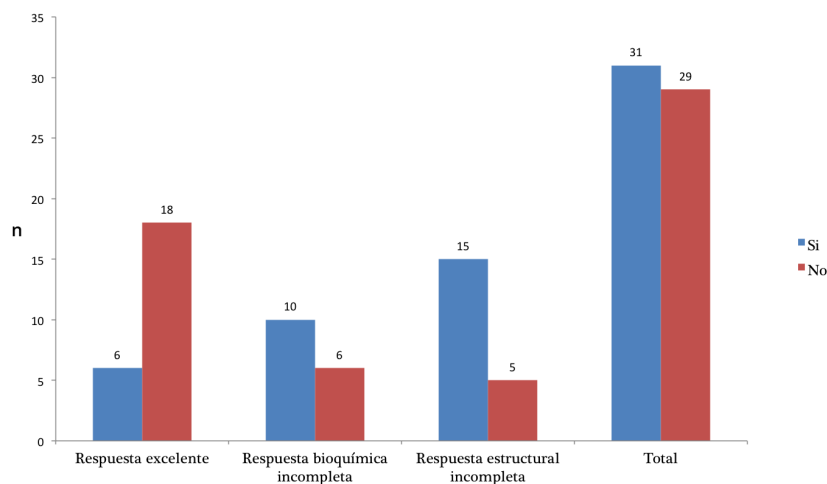


Figura 4.6: Variables cualitativas. Metástasis al diagnóstico. Clasificación dinámica del riesgo. $p < 0.002$

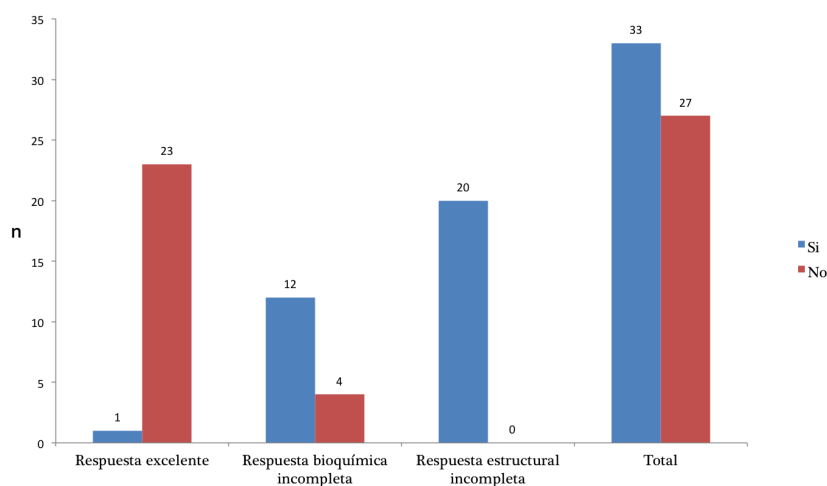


Figura 4.7: Variables cualitativas. Metástasis en el seguimiento. Clasificación dinámica del riesgo. $p < 0.000$

En cuanto a las metástasis al diagnóstico y al seguimiento, fueron más frecuentes en los grupos de respuesta incompleta, especialmente aquellos pacientes que tuvieron una

CAPÍTULO 4. RESULTADOS

respuesta estructural incompleta, con diferencias estadísticamente significativas (p 0.002 y 0.000 respectivamente).

En las siguientes tablas presentamos las variables cualitativas y las diferencias entre grupos según la clasificación inicial por criterios de curación. Encontramos diferencias significativas en las mismas variables que la clasificación anterior, si bien en el caso de la diferencia de sexo entre los grupos el valor de la p queda >0.05 .

Tabla 4.7: Variables cualitativas. Antecedentes personales de tiroidopatía. Clasificación según criterios de curación.

Tipo de tiroidopatía	Pacientes curados	Pacientes con enfermedad estable	Pacientes con enfermedad activa o en progresión	total	p
Desconocido	7	10	8	25	
Bocio multinodular	10	3	8	21	
Tiroiditis crónica	6	2	1	9	
Hipotiroidismo	0	0	1	1	
Hipotiroidismo y tiroiditis crónica	1	2	1	4	
Total	24	17	19	60	
					0.326

4.1. CARACTERÍSTICAS BASALES DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO

Tabla 4.8: Variables cualitativas. Histología de la PAAF. Clasificación según criterios de curación.

Resultados PAAF	Pacientes curados	Pacientes con enfermedad estable	Pacientes con enfermedad activa o en progresión	total	p
Carcinoma papilar	9	10	9	28	
Proliferación folicular	9	4	2	15	
Ca folicular con Células de Hürthle	0	1	1	2	
Benigna	2	1	1	4	
No PAAF previa	4	1	6	11	
Total	24	17	19	60	
					0.352

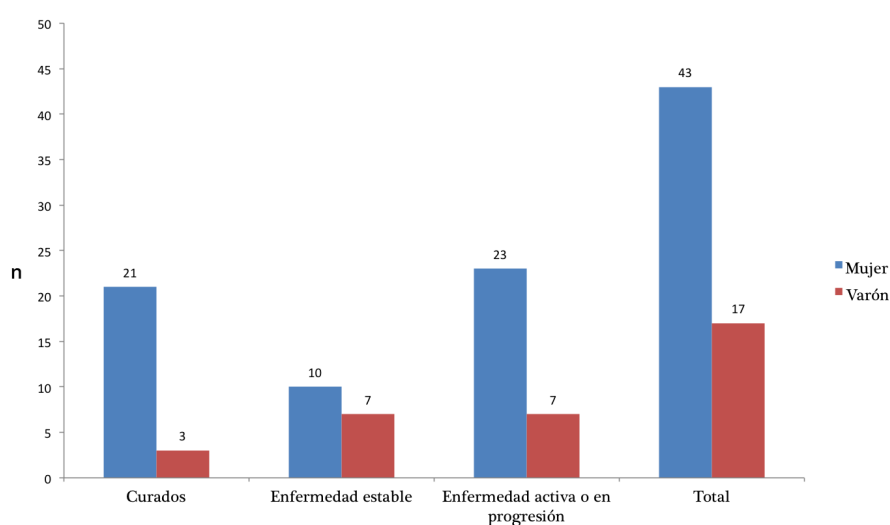


Figura 4.8: Variables cualitativas. Sexo. Clasificación según criterios de curación. p0.081

CAPÍTULO 4. RESULTADOS

Como dijimos anteriormente, según nuestra clasificación inicial por criterios de curación, se pierde la significación estadística, aunque como se muestra en la figura 4.8 sigue habiendo un predominio de varones en los grupos con enfermedad persistente, ya sea estable o en progresión.

Tabla 4.9: Variables cualitativas. Histología de la pieza quirúrgica. Clasificación según criterios de curación.

Histología	Pacientes curados	Pacientes con enfermedad estable	Pacientes con enfermedad activa o en progresión	total	p
Carcinoma papilar	17	13	11	41	
Carcinoma papilar patrón folicular	1	1	3	5	
Carcinoma folicular	3	1	1	5	
Carcinoma de Células de Hürthle	3	1	1	5	
Carcinoma papilar + folicular	0	1	1	2	
Carcinoma papilar de células altas	0	0	2	2	
Total	24	17	19	60	
					0.466

4.1. CARACTERÍSTICAS BASALES DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO

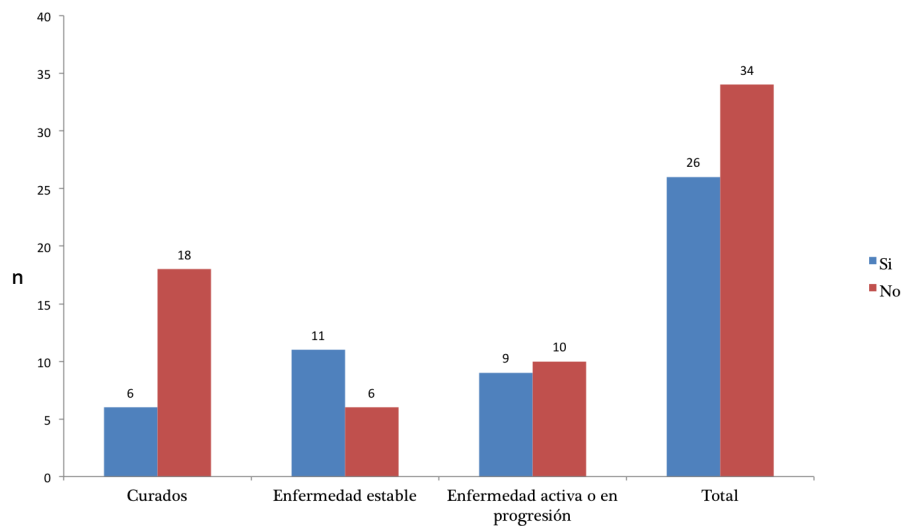


Figura 4.9: Variables cualitativas. Afectación ganglionar. Clasificación según criterios de curación. $p0.037$

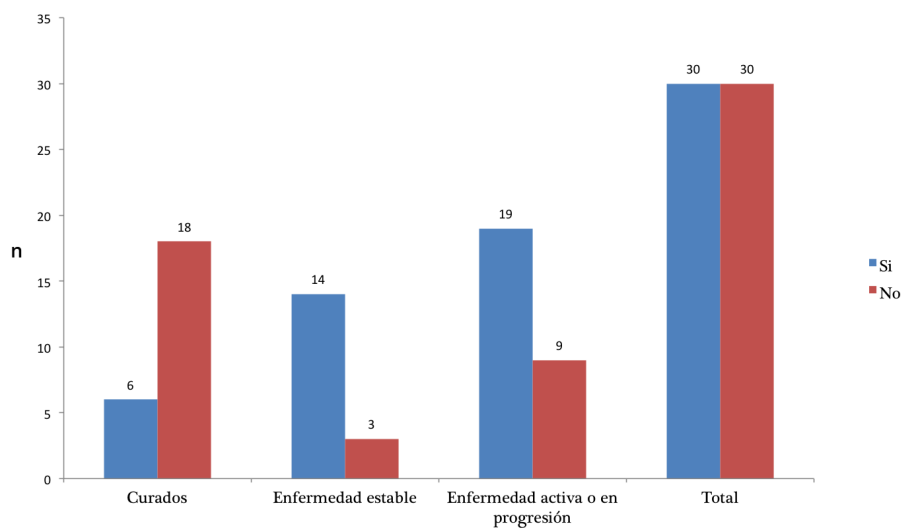


Figura 4.10: Variables cualitativas. Datos de invasión linfática en la pieza quirúrgica. Clasificación según criterios de curación. $p0.001$

CAPÍTULO 4. RESULTADOS

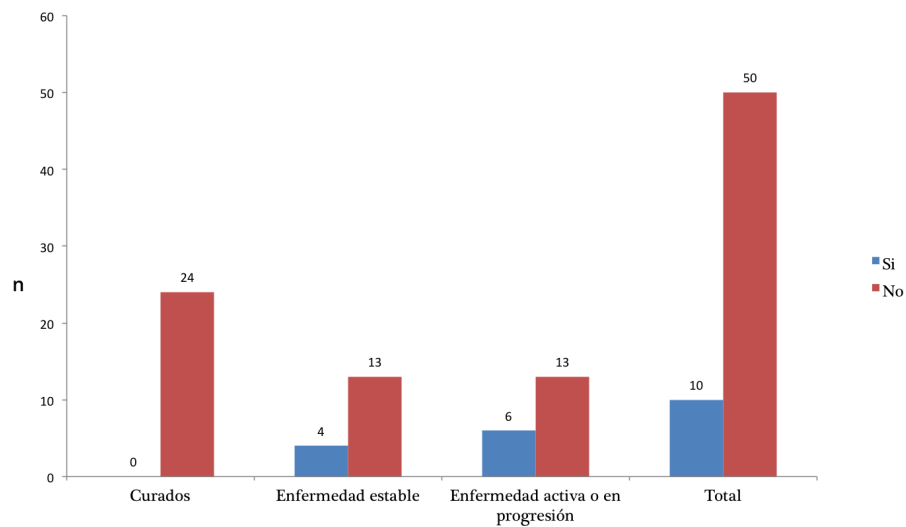


Figura 4.11: Variables cualitativas. Datos de invasión vascular en la pieza quirúrgica. Clasificación según criterios de curación. $p < 0.015$

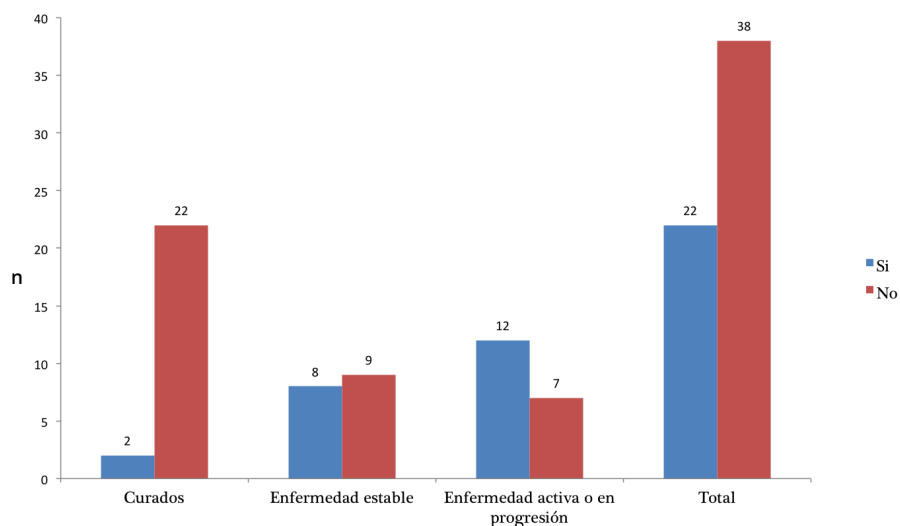


Figura 4.12: Variables cualitativas. Invasión de tejidos adyacentes. Clasificación según criterios de curación. $p < 0.001$

4.2. VARIABLES CUANTITATIVAS POR SUBGRUPOS: HISTOLOGÍA DEL TUMOR

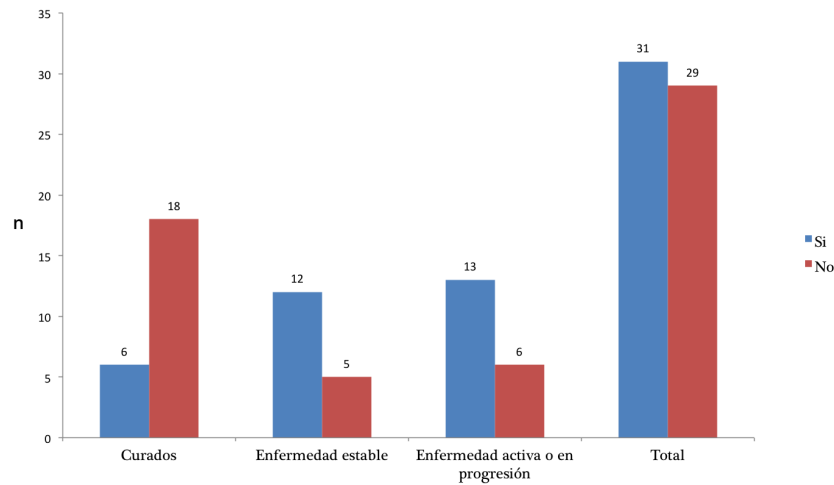


Figura 4.13: Variables cualitativas. Metástasis al diagnóstico. Clasificación según criterios de curación. $p=0.003$

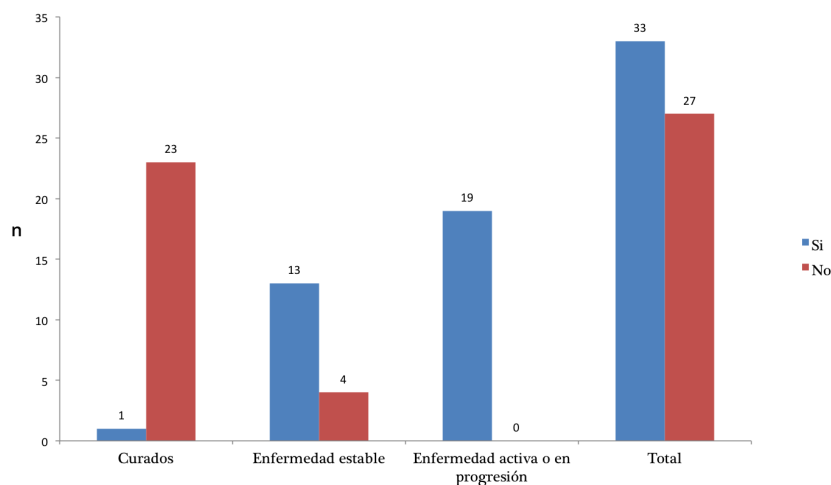


Figura 4.14: Variables cualitativas. Metástasis en el seguimiento. Clasificación según criterios de curación. $p=0.000$

4.2. Variables cuantitativas por subgrupos: histología del tumor

En las tablas siguientes mostramos las diferencias de las variables cuantitativas por subgrupos en función de la histología de la pieza quirúrgica y los resultados de la comparación

CAPÍTULO 4. RESULTADOS

múltiple de Duncan. Entre las variables de mayor interés sólo se alcanzan diferencias estadísticamente significativas en la edad en el momento del diagnóstico, la glucemia del momento de la extracción, la tiroglobulina de la extracción y los niveles de miR-222. Son casi significativas las diferencias en la tiroglobulina de la primera ablación con yodo radiactivo y la dosis de dicha ablación.

Tabla 4.10: Comparación por subgrupos. Edad (años). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar	41	46.95	15.41	
Carcinoma papilar patrón folicular	5	51.0	13.05	
Carcinoma folicular	5	54.8	11.97	
Carcinoma de células de Hürthle	5	63.2	10.13	
Carcinoma papilar + folicular	2	52.5	0.7	
Carcinoma papilar de células altas	2	68.0	2.82	

Tabla 4.11: Comparación por subgrupos. Peso (kg). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar	37	77.26	21.32	
Carcinoma papilar patrón folicular	3	65.96	3.45	
Carcinoma folicular	5	71.68	8.01	
Carcinoma de células de Hürthle	4	71.15	9.91	

4.2. VARIABLES CUANTITATIVAS POR SUBGRUPOS: HISTOLOGÍA DEL TUMOR

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar + folicular	0	.	.	
Carcinoma papilar de células altas	0	.	.	
				0.701

Tabla 4.12: Comparación por subgrupos. Talla (cm). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar	36	164.2	7.96	
Carcinoma papilar patrón folicular	3	163.3	4.96	
Carcinoma folicular	5	162.5	3.22	
Carcinoma de células de Hürthle	4	158.95	4.05	
Carcinoma papilar + folicular	0	.	.	
Carcinoma papilar de células altas	0	.	.	
				0.584

Si comparamos la edad al diagnóstico según la histología del tumor, podemos observar que a peor pronóstico de la histología, mayor es la edad de los pacientes, con una media de 68 años en el carcinoma de células altas y de 63.2 años en el de células de Hürthle, frente a los 46.95 años de media para el carcinoma papilar. Las diferencias son estadísticamente significativas, como se puede observar en la tabla.

CAPÍTULO 4. RESULTADOS

Tabla 4.13: Comparación por subgrupos. Edad al diagnóstico (años). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar	41	37.5	15.59	
Carcinoma papilar patrón folicular	5	43.8	12.94	
Carcinoma folicular	5	42.4	11.95	
Carcinoma de células de Hürthle	5	57.8	9.6	
Carcinoma papilar + folicular	2	50.0	2.82	
Carcinoma papilar de células altas	2	65.5	3.53	

Tabla 4.14: Comparación por subgrupos. Número de dosis de radioyodo. Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar	41	2.05	1.73	
Carcinoma papilar patrón folicular	5	2.2	1.095	
Carcinoma folicular	5	1.2	0.45	
Carcinoma de células de Hürthle	5	1.4	0.55	
Carcinoma papilar + folicular	2	2	1.41	
Carcinoma papilar de células altas	2	1.5	0.7	

4.2. VARIABLES CUANTITATIVAS POR SUBGRUPOS: HISTOLOGÍA DEL TUMOR

Tabla 4.15: Comparación por subgrupos. Número de rastreos realizados. Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar	41	3.61	2.71	
Carcinoma papilar patrón folicular	5	4.6	3.13	
Carcinoma folicular	5	2.2	0.83	
Carcinoma de células de Hürthle	5	2.6	0.89	
Carcinoma papilar + folicular	1	2		
Carcinoma papilar de células altas	2	2	0	

Tabla 4.16: Comparación por subgrupos. Tiroglobulina 1ª ablación (ng/mL). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar	29	28.01	64.93	
Carcinoma papilar patrón folicular	4	15.57	19.12	
Carcinoma folicular ³	4	9393.17	18785	
Carcinoma de células de Hürthle	4	3.86	5.39	
Carcinoma papilar + folicular	1	0.7		

³Desviado por valor extremo

CAPÍTULO 4. RESULTADOS

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar de células altas	2	27.45	30.47	
				0.065

En la tiroglobulina durante la primera ablación, se observan mayores niveles en los tumores de estirpe papilar, sobre todo la variante clásica y la de células altas, con diferencias cercanas a la significación estadística como puede observarse en la tabla anterior. En el caso de el carcinoma folicular, la media está muy desviada por un valor extremo por lo que resulta difícil de interpretar.

Tabla 4.17: Comparación por subgrupos. Anticuerpos antiTg 1ª ablación (UI/mL). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar	28	33.45	48.54	
Carcinoma papilar patrón folicular	4	10.62	7.68	
Carcinoma folicular	4	51.45	86.78	
Carcinoma de células de Hürthle	4	18.15	6.83	
Carcinoma papilar + folicular	1	5.46		
Carcinoma papilar de células altas	2	6.09	5.12	
				0.766

4.2. VARIABLES CUANTITATIVAS POR SUBGRUPOS: HISTOLOGÍA DEL TUMOR

Tabla 4.18: Comparación por subgrupos. Dosis de la 1ª ablación (mCi). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar	37	107.35	33.63	
Carcinoma papilar patrón folicular	5	111.2	21.85	
Carcinoma folicular	4	128.8	41.44	
Carcinoma de células de Hürthle	5	110.8	21.98	
Carcinoma papilar + folicular	2	50	70.71	
Carcinoma papilar de células altas	2	150	0	

En la tabla 4.17 puede observarse como las dosis de yodo durante la primera ablación fueron mayores en los pacientes con histologías de peor pronóstico como el carcinoma papilar de células altas y el carcinoma folicular, con diferencias cercanas a la significación estadística.

Tabla 4.19: Comparación por subgrupos. Tg estimulada el primer año al tercer día (ng/mL). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar	9	4.9	8.15	
Carcinoma papilar patrón folicular	2	26.5	36.04	
Carcinoma folicular	0	.	.	
Carcinoma de células de Hürthle	1	4.46		

CAPÍTULO 4. RESULTADOS

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar + folicular	0	.	.	
Carcinoma papilar de células altas	0	.	.	
				0.204

Tabla 4.20: Comparación por subgrupos. Anticuerpos antiTg el primer año al tercer día (UI/mL). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar	9	20.63	14.13	
Carcinoma papilar patrón folicular	2	6.4	1.44	
Carcinoma folicular	0	.	.	
Carcinoma de células de Hürthle	1	21.9		
Carcinoma papilar + folicular	0	.	.	
Carcinoma papilar de células altas	0	.	.	
				0.416

Tabla 4.21: Comparación por subgrupos. Tg estimulada el primer año al quinto día (ng/mL). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar	36	17.93	33.08	

4.2. VARIABLES CUANTITATIVAS POR SUBGRUPOS: HISTOLOGÍA DEL TUMOR

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar patrón folicular	5	24.49	25.9	
Carcinoma folicular	4	0.2	0	
Carcinoma de células de Hürthle	5	3.53	4.79	
Carcinoma papilar + folicular	2	3.78	0.45	
Carcinoma papilar de células altas	2	13.1	0.14	

Tabla 4.22: Comparación por subgrupos. Anticuerpos antiTg el primer año al tercer día (UI/mL). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar	36	119.9	542.43	
Carcinoma papilar patrón folicular	5	25.87	18.86	
Carcinoma folicular	4	48.82	58.83	
Carcinoma de células de Hürthle	5	17.7	9.1	
Carcinoma papilar + folicular	2	14	4.24	
Carcinoma papilar de células altas	1	8.36	0	

CAPÍTULO 4. RESULTADOS

Tabla 4.23: Comparación por subgrupos. Glucemia basal (mg/dl). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar	40	98.35	15.44	
Carcinoma papilar patrón folicular	4	105.25	18.89	
Carcinoma folicular	5	117.2	46.03	
Carcinoma de células de Hürthle	5	140.8	55.68	
Carcinoma papilar + folicular	1	105	0	
Carcinoma papilar de células altas	2	84	46.69	

En la tabla 4.23 queda reflejado el valor medio de glucemia basal en los diferentes subgrupos según la histología del tumor, observándose un nivel mayor en el carcinoma de células de Hürthle y el folicular, con diferencias estadísticamente significativas (p 0.02).

Tabla 4.24: Comparación por subgrupos. Creatinina (mg/dl). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar	40	0.81	0.25	
Carcinoma papilar patrón folicular	4	0.69	0.14	
Carcinoma folicular	5	0.79	0.21	
Carcinoma de células de Hürthle	5	0.74	0.06	

4.2. VARIABLES CUANTITATIVAS POR SUBGRUPOS: HISTOLOGÍA DEL TUMOR

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar + folicular	1	0.64	0	
Carcinoma papilar de células altas	2	0.84	0.06	
				0.873

Tabla 4.25: Comparación por subgrupos. TSH en la extracción ($\mu\text{UI/ml}$). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar	41	1.88	4.62	
Carcinoma papilar patrón folicular	5	0.56	0.68	
Carcinoma folicular	5	0.36	0.69	
Carcinoma de células de Hürthle	5	0.45	0.69	
Carcinoma papilar + folicular	2	9.65	13.64	
Carcinoma papilar de células altas	2	0.45	0.38	
				0.178

CAPÍTULO 4. RESULTADOS

Tabla 4.26: Comparación por subgrupos. T4L en la extracción (ng/dl). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar	41	1.43	0.32	
Carcinoma papilar patrón folicular	4	1.63	0.4	
Carcinoma folicular	5	1.45	0.17	
Carcinoma de células de Hürthle	5	1.5	0.08	
Carcinoma papilar + folicular	2	1.83	0.2	
Carcinoma papilar de células altas	2	1.64	0.27	

Tabla 4.27: Comparación por subgrupos. Tg en la extracción (ng/ml). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar	41	2.89	6.16	
Carcinoma papilar patrón folicular	5	3.47	3.18	
Carcinoma folicular	5	60.16	134.07	
Carcinoma de células de Hürthle	5	64.16	143.02	
Carcinoma papilar + folicular	2	14.09	14.45	
Carcinoma papilar de células altas	2	122.99	171.13	

4.2. VARIABLES CUANTITATIVAS POR SUBGRUPOS: HISTOLOGÍA DEL TUMOR

La tiroglobulina en el momento de la extracción fue significativamente mayor en las histologías más agresivas, como el carcinoma folicular, el de células de Hürthle y el carcinoma papilar de células altas (p 0.017), tal como se observa en la tabla 4.27.

Tabla 4.28: Comparación por subgrupos. Anticuerpos antiTg en la extracción (UI/ml). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar	41	20.62	47.45	
Carcinoma papilar patrón folicular	5	8.63	7.04	
Carcinoma folicular	5	18.91	21.81	
Carcinoma de células de Hürthle	5	4.98	1.09	
Carcinoma papilar + folicular	2	3.79	1.77	
Carcinoma papilar de células altas	2	4.71	0.74	

Tabla 4.29: Comparación por subgrupos. Niveles de miR-146 (copias/ μ L). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar	41	0.043	0.024	
Carcinoma papilar patrón folicular	5	0.047	0.044	
Carcinoma folicular	5	0.028	0.023	
Carcinoma de células de Hürthle	5	0.067	0.067	

CAPÍTULO 4. RESULTADOS

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar + folicular	2	0.032	0.015	
Carcinoma papilar de células altas	2	0.085	0.061	
				0.171

Tabla 4.30: Comparación por subgrupos. Niveles de miR-221 (copias/ μ L). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar	41	0.11	0.0.075	
Carcinoma papilar patrón folicular	5	0.10	0.085	
Carcinoma folicular	5	0.068	0.042	
Carcinoma de células de Hürthle	5	0.154	0.171	
Carcinoma papilar + folicular	2	0.038	0.008	
Carcinoma papilar de células altas	2	0.153	0.127	
				0.483

Tabla 4.31: Comparación por subgrupos. Niveles de miR-222 (copias/ μ L). Clasificación según histología de la pieza quirúrgica.

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar	41	0.031	0.0018	

4.2. VARIABLES CUANTITATIVAS POR SUBGRUPOS: HISTOLOGÍA DEL TUMOR

Histología	N	Media	Desviación estándar	p
Carcinoma papilar patrón folicular	5	0.036	0.029	0.038
Carcinoma folicular	5	0.022	0.011	
Carcinoma de células de Hürthle	5	0.035	0.032	
Carcinoma papilar + folicular	2	0.018	0.004	
Carcinoma papilar de células altas	2	0.084	0.08	

Cuando comparamos los niveles de microRNAs según la histología de la pieza quirúrgica, el miR-146 presenta niveles algo mayores en el carcinoma de células de Hürthle y el papilar de células altas, pero las diferencias no son significativas (p 0.171). En cuanto al miR-221 no existen diferencias significativas entre los diferentes grupos, aunque parece que los niveles son algo menores en los foliculares y los de células de Hürthle. Sin embargo, el miR-222 tiene unos niveles claramente mayores, entre 2 y 3 veces más, en los carcinomas papilares de células altas, con diferencias estadísticamente significativas (p 0.038).

Análisis de comparaciones múltiples

A continuación se presentan los resultados de la aplicación del test de Duncan para el análisis de comparaciones múltiples, en el que se confirman algunas de las diferencias previamente expuestas si segmentamos la muestra por histología del tumor.

En primer lugar, respecto a la edad, se observan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre el carcinoma papilar de células altas con una media de edad al diagnóstico de 65.5 años frente al carcinoma papilar clásico que presenta una media de edad al diagnóstico de 37.51 años. Respecto a la tiroglobulina de la extracción se observan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre el carcinoma papilar de células altas con una Tg media de 122.99 ng/mL respecto al papilar variante clásica con una Tg media de 2.88 ng/mL

CAPÍTULO 4. RESULTADOS

y el papilar patrón folicular con una Tg media de 3.47 ng/mL. Finalmente, respecto al análisis de los microRNAs, se observan diferencias significativas ($p < 0.05$) para el miR-146 entre el carcinoma papilar de células altas y el carcinoma papilar y el papilar con patrón folicular. Para el miR-222 se observan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre el papilar de células altas y el resto de histologías, tal como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 4.32: Análisis de comparaciones múltiples. Test de Duncan. miR-222 (copias/ μ L)

Histología	N	1	2	p
Carcinoma papilar	41	0.031		
Carcinoma papilar patrón folicular	5	0.036		
Carcinoma folicular	5	0.022		
Carcinoma de células de Hürthle	5	0.035		
Carcinoma papilar + folicular	2	0.0183		
Carcinoma papilar de células altas	2		0.084	
				< 0,05

Tabla 4.33: Análisis de comparaciones múltiples. Test de Duncan. miR-146 (copias/ μ L)

Histología	N	1	2	p
Carcinoma papilar	41	0.043	0.043	
Carcinoma papilar patrón folicular	5	0.047	0.047	
Carcinoma folicular	5	0.028		
Carcinoma de células de Hürthle	5	0.0699	0.0699	
Carcinoma papilar + folicular	2	0.032		
Carcinoma papilar de células altas	2		0.085	
				< 0,05

4.3. Correlaciones

A continuación se presentan las correlaciones encontradas entre diferentes variables de estudio. Destacamos, en primer lugar, las correlaciones entre los niveles de Tg en el momento de la extracción y los tres microRNAs que hemos analizado. De ellos, el miR-146 presenta una correlación positiva con la Tg en el momento de la extracción ($r=0.310$, $p=0.016$) que es estadísticamente significativa. Lo mismo ocurre en el caso de miR-221 ($r=0.252$, $p=0.052$). En el caso de miR-222 la correlación no es estadísticamente significativa, pero también se aprecia una relación positiva ($r=0.171$; $p=0.19$).

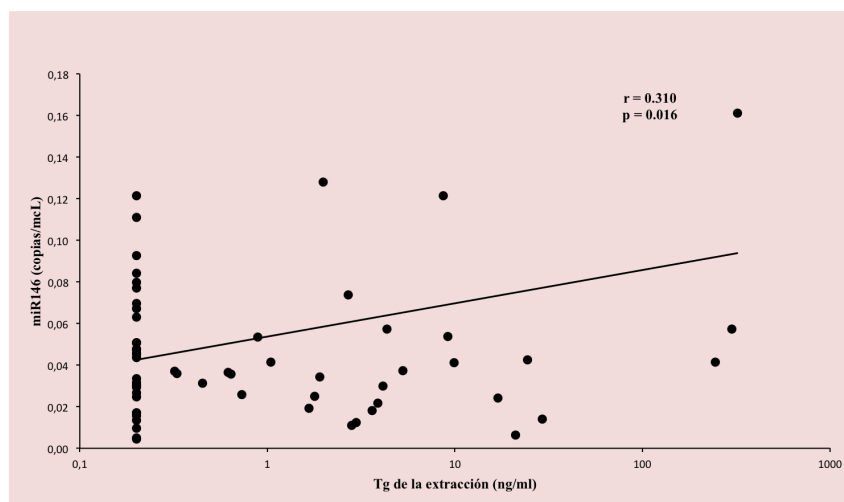


Figura 4.15: Correlación entre los niveles de Tg en la extracción y los niveles de miR-146.

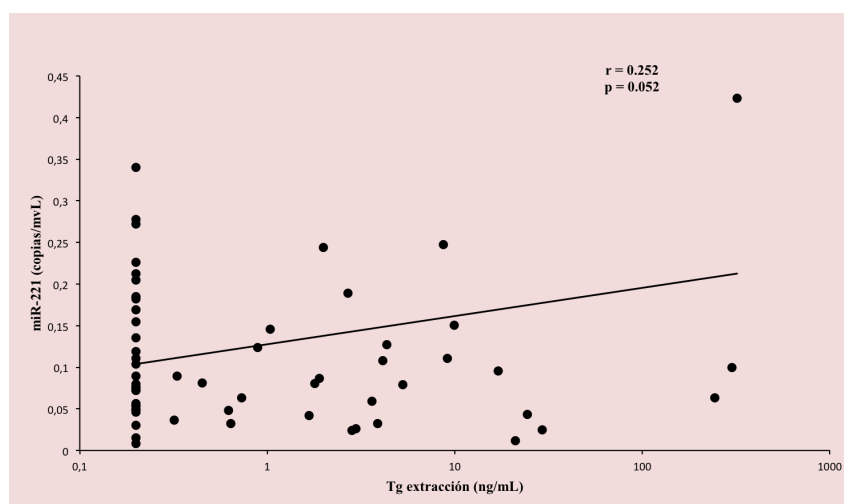


Figura 4.16: Correlación entre los niveles de Tg en la extracción y los niveles de miR-221.

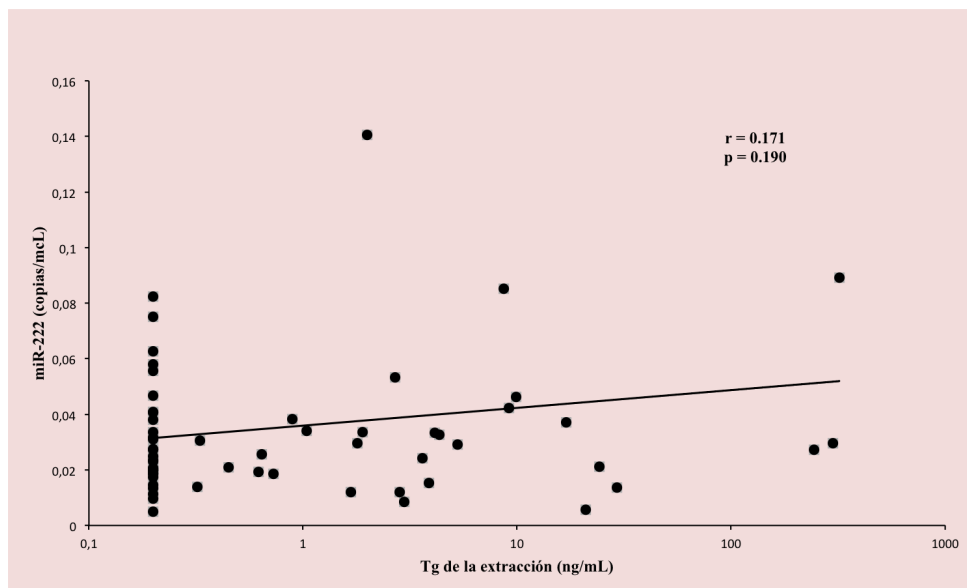


Figura 4.17: Correlación entre los niveles de Tg en la extracción y los niveles de miR-222.

Por otra parte, también hemos encontrado una fuerte correlación positiva entre los niveles de Tg de la primera ablación con I-131 y los niveles de Tg en la extracción de la muestra de estudio, tal como se muestra en la siguiente gráfica ($r=0.583$, $p=0.000$).

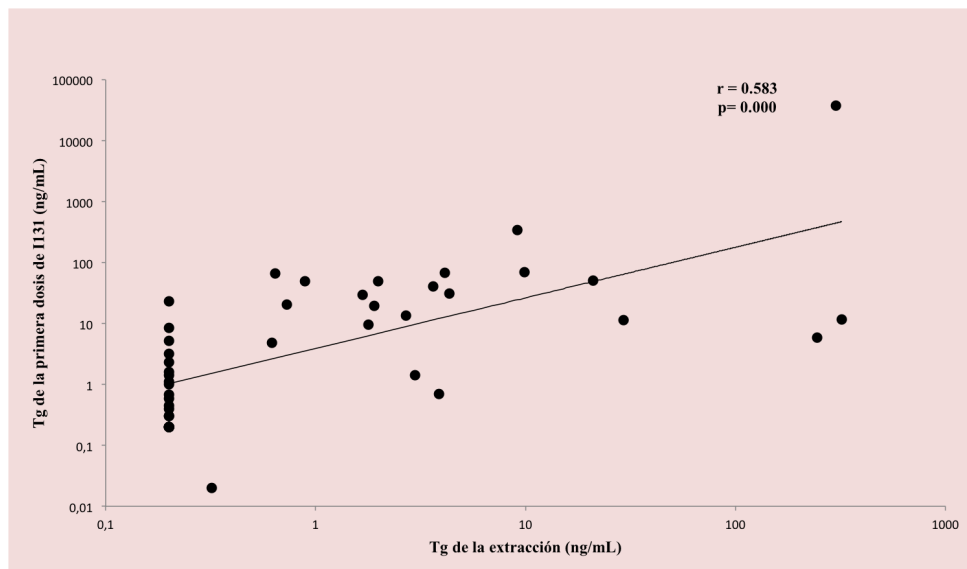


Figura 4.18: Correlación entre los niveles de Tg en la extracción y Tg en la primera ablación con I131.

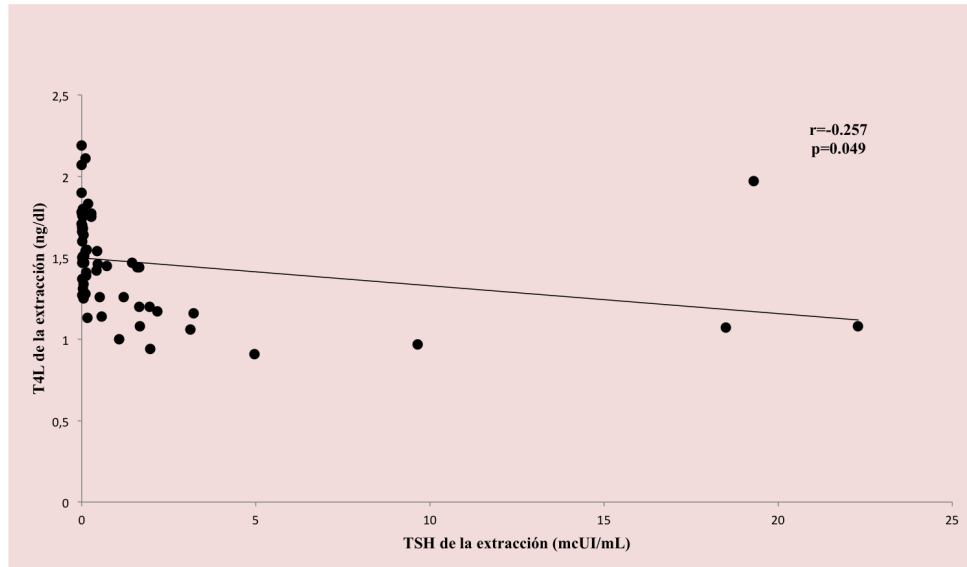


Figura 4.19: Correlación entre los niveles de TSH de la extracción y los niveles de T4L de la extracción.

En la figura 4.19 se muestra la correlación negativa entre los niveles de TSH y de T4L en el momento de la extracción de la muestra, como era esperable, ya que los pacientes con dosis mayores de tiroxina consiguen niveles mayores de T4L y mayor supresión de la TSH ($r=-0.257$, $p=0.049$).

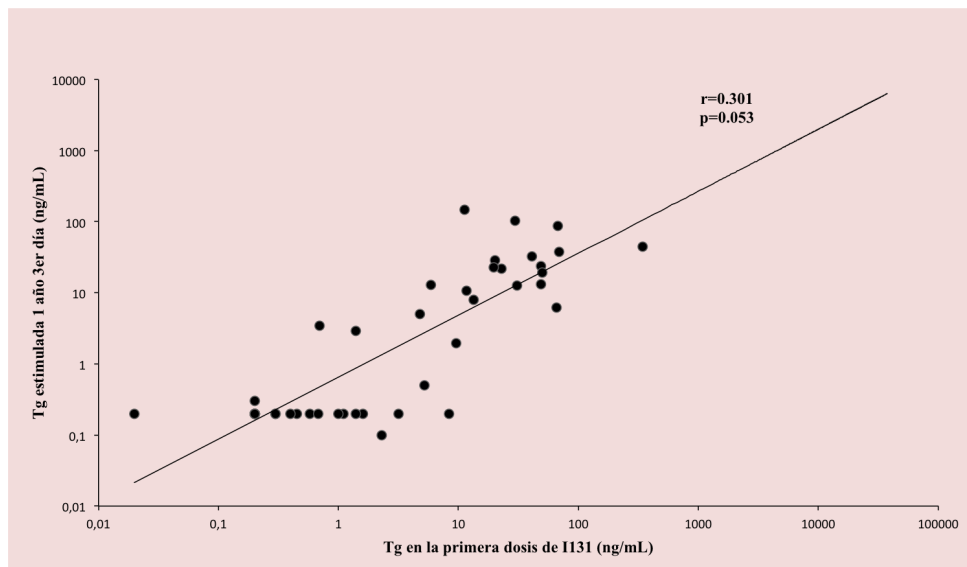


Figura 4.20: Correlación entre los niveles de Tg durante la primera dosis de I131 y la Tg estimulada el primer año al quinto día.

CAPÍTULO 4. RESULTADOS

También encontramos una correlación positiva entre los niveles de Tg durante la primera ablación con I131 y la Tg estimulada al primer año el quinto día desde la estimulación ($r=0.301$, $p=0.053$), como se muestra en la gráfica 4.20.

Finalmente, en las tres siguientes gráficas, quedan representadas las fuertes correlaciones positivas entre los niveles de los distintos microRNAs analizados: miR-221 y miR 222 con una $r=0.865$ ($p=0.000$), miR 222 y miR-146 con una $r=0.841$ ($p=0.000$) y miR146 y miR-221 con una $r=0.896$ ($p=0.000$).

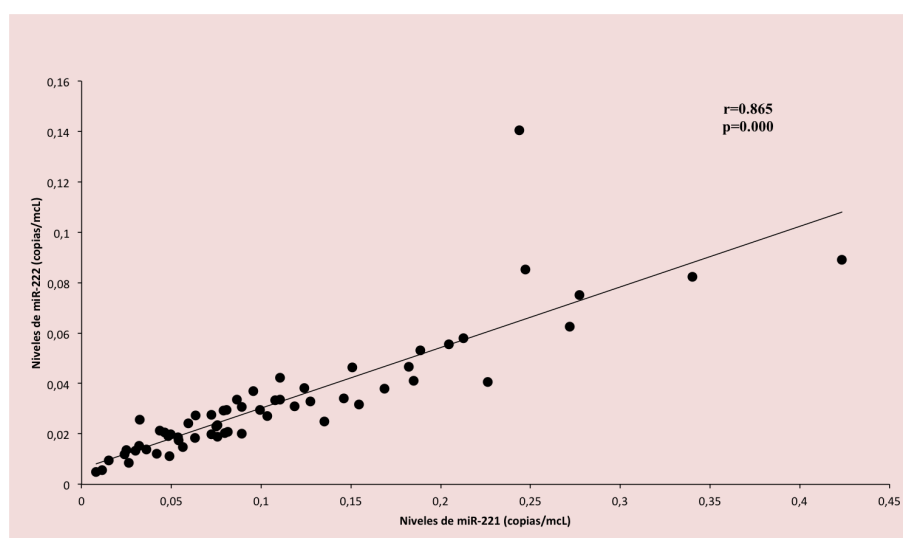


Figura 4.21: Correlación entre los niveles de miR-221 y miR-222.

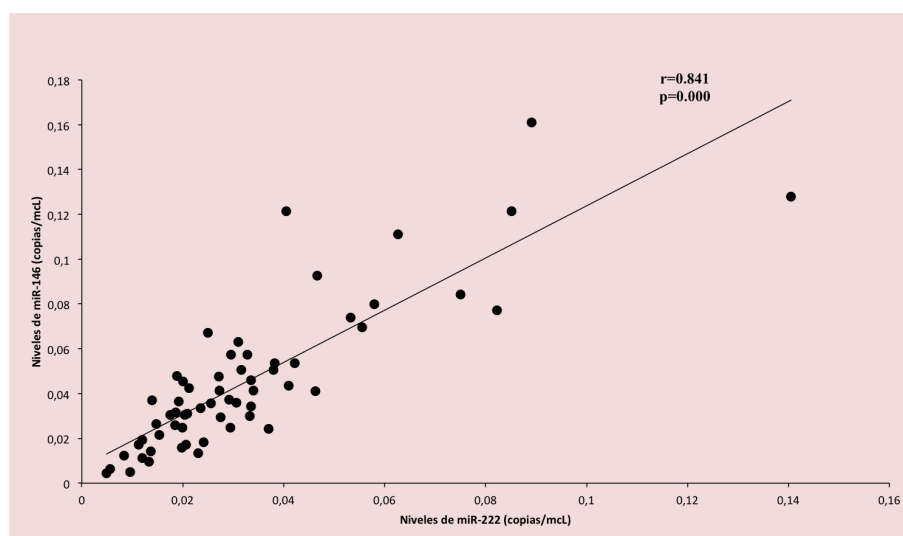


Figura 4.22: Correlación entre los niveles de miR-222 y miR-146.

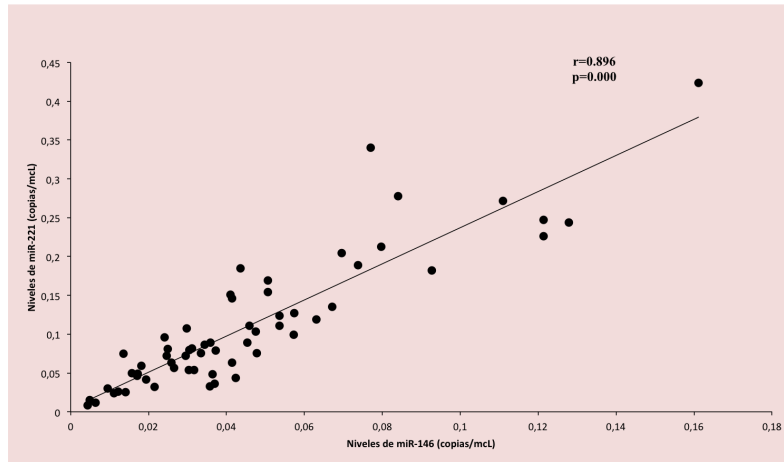


Figura 4.23: Correlación entre los niveles de miR-146 y miR-221.

Correlaciones segmentadas por histología

A continuación presentamos las correlaciones más significativas encontradas al segmentar por histología de la pieza quirúrgica. En primer lugar, cabe destacar la correlación negativa entre el miR-146 y la Tg de la extracción en los pacientes con carcinoma papilar, en general con mejor evolución ($r = -0.325$, $p = 0.038$). El mismo tipo de relación se ha encontrado para el miR-146 y la Tg estimulada el primer año al quinto día de la estimulación ($r = -0.338$, $p = 0.044$).

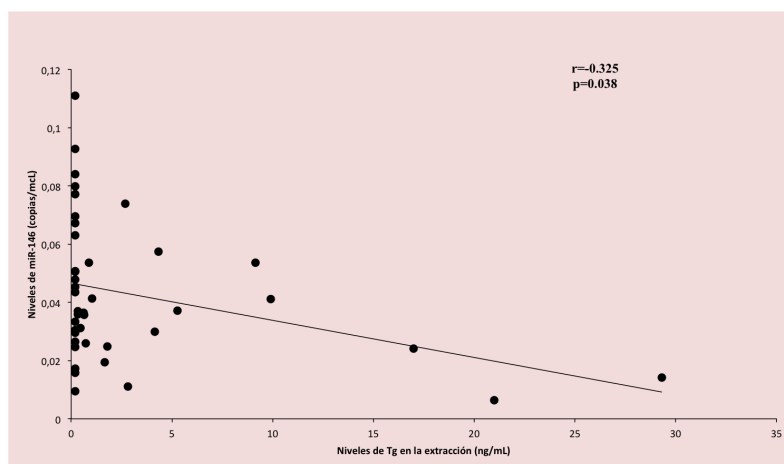


Figura 4.24: Correlación entre los niveles de miR-146 y la Tg de la extracción en pacientes con carcinoma papilar.

CAPÍTULO 4. RESULTADOS

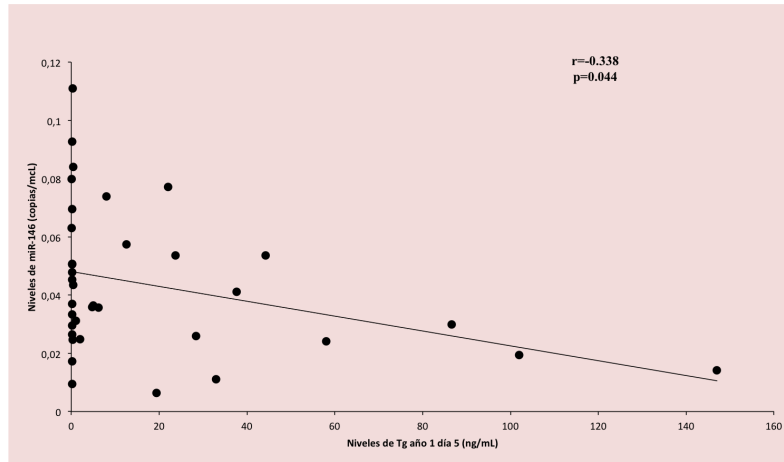


Figura 4.25: Correlación entre los niveles de miR-146 y la Tg estimulada al primer año el día 5 en pacientes con carcinoma papilar.

Sin embargo, en los tumores con peor histología la correlación encontrada ha sido diferente. En el caso del papilar con patrón folicular, existe una correlación positiva cercana a la significación estadística entre miR-222 y la Tg de la extracción ($r=0.810$, $p=0.097$) y estadísticamente significativa para miR-222 y la Tg estimulada el primer año al quinto día de la estimulación ($r=0.880$, $p=0.049$). En este tipo de tumores también encontramos una fuerte correlación positiva entre los tres microRNAs y los anticuerpos antiTg en el momento de la extracción: miR-146 con $r=0.920$ y $p=0.027$, miR-221 con $r=0.929$, $p=0.022$ y miR-222 con $r=0.971$ y $p=0.006$.

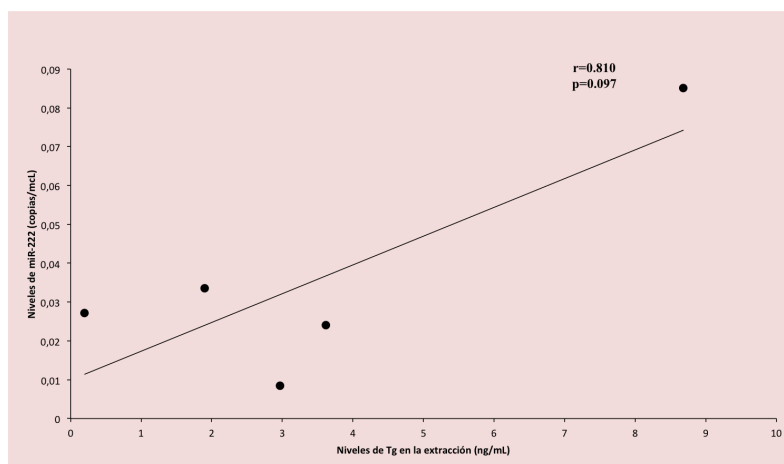


Figura 4.26: Correlación entre los niveles de miR-222 y la Tg de la extracción en pacientes con carcinoma papilar con patrón folicular.

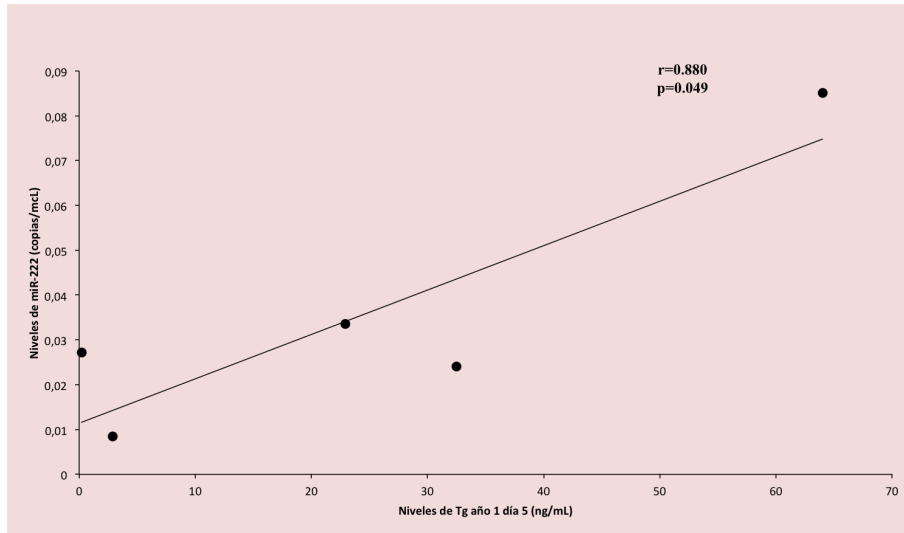


Figura 4.27: Correlación entre los niveles de miR-222 y la Tg estimulada al primer año el día 5 en pacientes con carcinoma papilar patrón folicular.

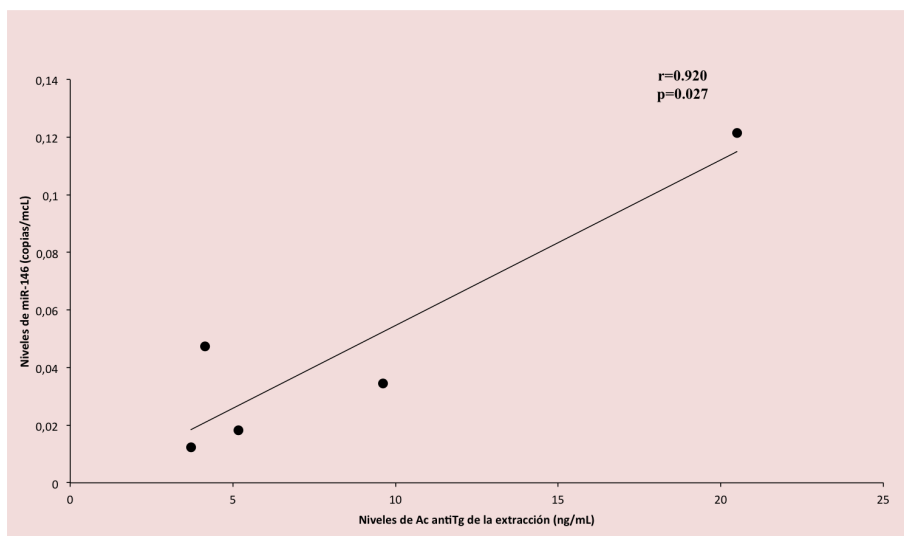


Figura 4.28: Correlación entre los niveles de miR-146 y los anticuerpos antiTg de la extracción en pacientes con carcinoma papilar patrón folicular.

CAPÍTULO 4. RESULTADOS

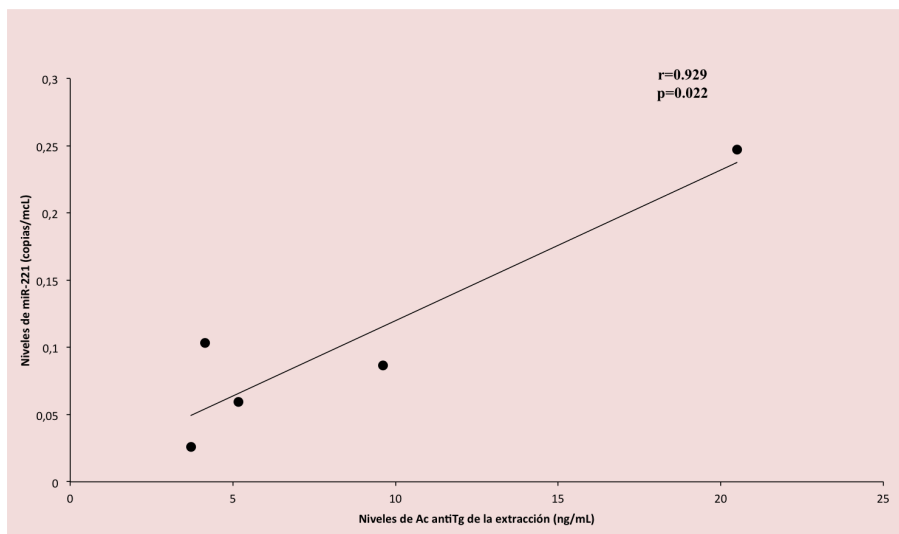


Figura 4.29: Correlación entre los niveles de miR-221 y los anticuerpos antiTg de la extracción en pacientes con carcinoma papilar patrón folicular.

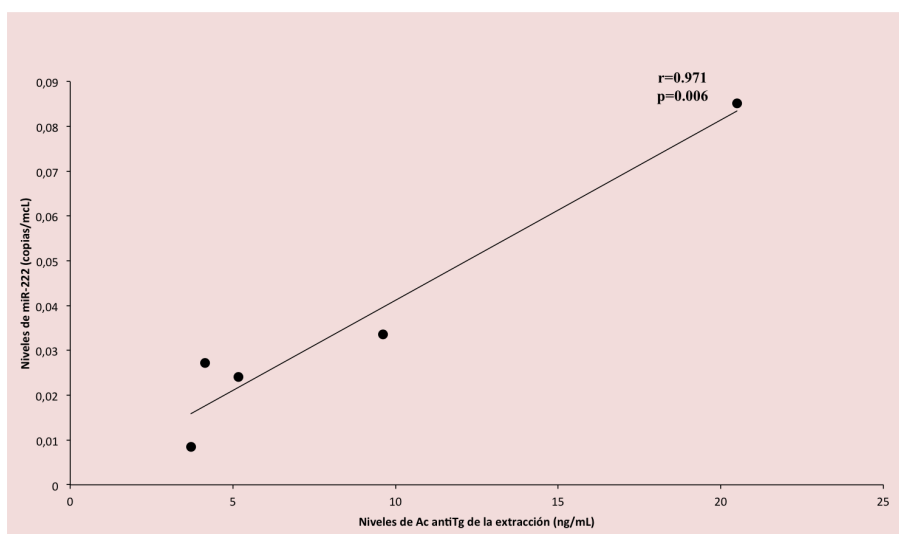


Figura 4.30: Correlación entre los niveles de miR-222 y los anticuerpos antiTg de la extracción en pacientes con carcinoma papilar patrón folicular.

En los tumores foliculares, hemos encontrado una correlación positiva del miR-146 con la Tg de la primera dosis de I-131 ($r=0.974$, $p=0.026$). Por el contrario, en los carcinomas de células de Hürthle, la correlación con el miR-146 no fue estadísticamente significativa tanto para la Tg de la extracción ($r=0.755$, $p=0.140$) como de la primera dosis de I-131 ($r=0.880$, $p=0.120$). En este caso, las correlaciones con miR-221 y 222 sí fueron significativas: miR-221 y Tg de la extracción con $r=0.878$ y $p=0.05$, miR-221 y Tg de la primera dosis de

I-131 con $r=0.965$ y $p=0.035$, miR-222 y Tg de la extracción con $r=0.934$ y $p=0.02$ y miR-222 y Tg de la primera dosis de I-131 con $r=0.991$ y $p=0.009$.

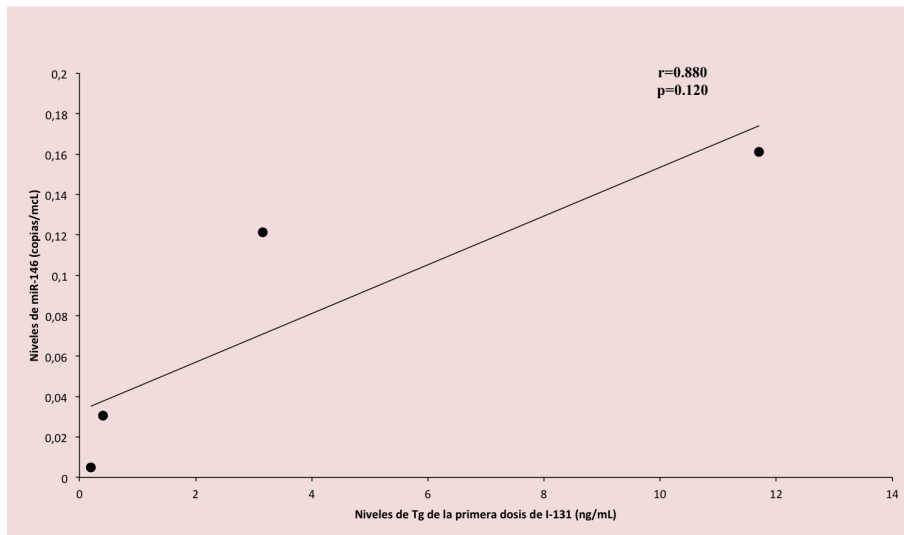


Figura 4.31: Correlación entre los niveles de miR-146 y la Tg de la primera dosis de radioyodo en pacientes con carcinoma de células de Hürthle.

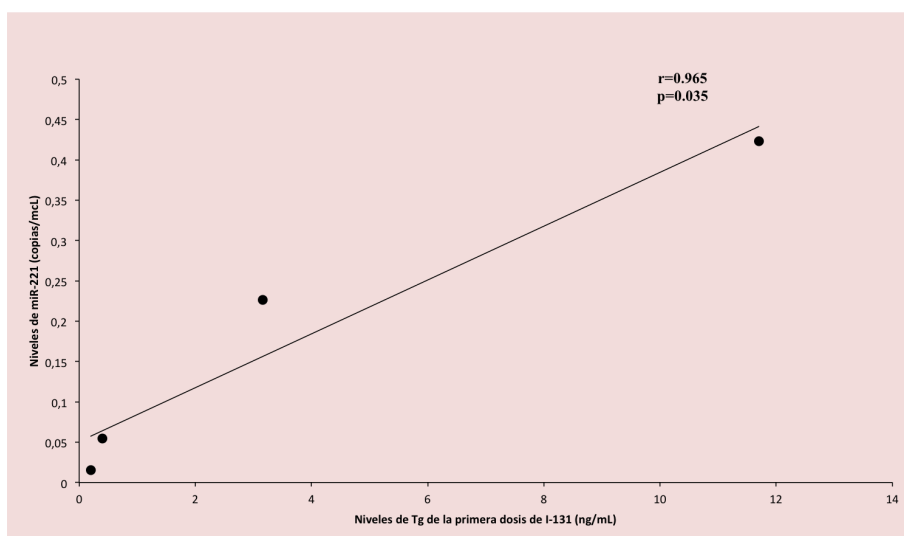


Figura 4.32: Correlación entre los niveles de miR-221 y la Tg de la primera dosis de radioyodo en pacientes con carcinoma de células de Hürthle.

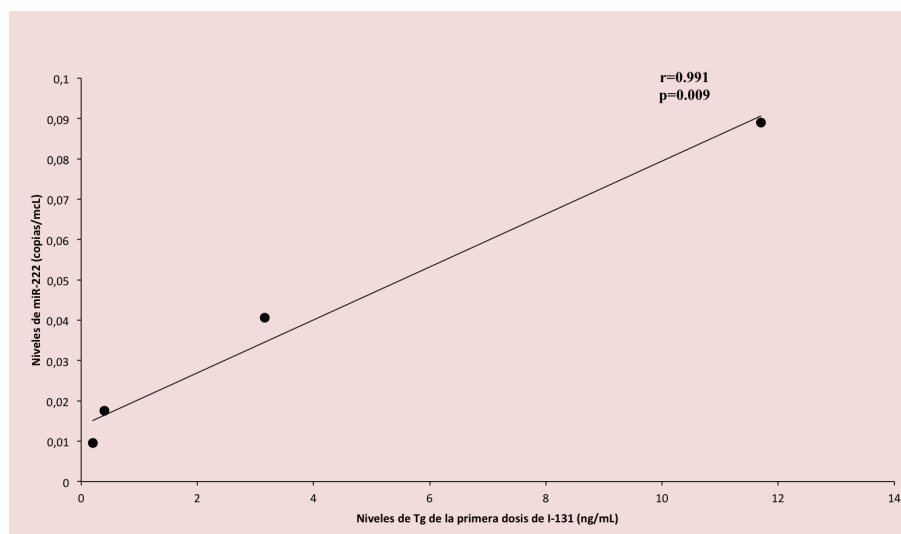


Figura 4.33: Correlació entre los niveles de miR-222 y la Tg de la primera dosis de radioyodo en pacientes con carcinoma de células de Hürthle.

4.4. Regresió lineal

Se realizó también un análisis de regresión lineal múltiple para evaluar la influencia de los niveles de microRNA en algunas de las variables de estudio. Se incluyeron como variables independientes el miR-146, el miR-221, el miR-222, la edad al diagnóstico, la tiroglobulina durante la primera ablación con radioyodo y los anticuerpos antitiroglobulina durante la primera ablación. Como variables dependientes utilizamos la tiroglobulina en el momento de la extracción y la tiroglobulina estimulada al primer año (el tercer día de la estimulación). Los resultados se presentan en la siguiente tabla. Sólo los niveles de miR-146 y la edad al diagnóstico presentaron una asociación independiente y estadísticamente significativa con los niveles de tiroglobulina de la extracción. En el caso de la tiroglobulina estimulada al primer año, fueron los niveles de miR-221 y miR-222 los que presentaron una asociación independiente y estadísticamente significativa, así como la tiroglobulina durante la primera ablación.

Tabla 4.34: Análisis de regresión lineal simple para niveles de tiroglobulina en el momento de la extracción y de tiroglobulina estimulada al primer año (tercer día).

	Tg extracción	R=0.972; R2=0.944	Tg estimulada 1 año (día 3)	R=0.919; R2=0.844
	β	p	β	p
miR-146	0.846	0.000	-0.2	0.065
miR-221	-0.172	0.058	-1.739	0.001
miR-222	-0.258	0.075	2.295	0.000
Edad al diagnóstico	0.265	0.042	0.025	0.566
Tg ablación	-0.024	0.508	0.892	0.002
Ac antiTg ablación	-0.046	0.902	-0.493	0.025

Capítulo 5

Discusión

El cáncer de tiroides es la neoplasia más frecuente del sistema endocrino, de hecho supone un 1 % de todos los tumores que puede sufrir el ser humano. Además, se ha observado en los últimos años un incremento en la incidencia de este tipo de tumor, sobre todo del carcinoma diferenciado a expensas de tumores incidentales descubiertos mediante ecografía tiroidea y cuya relevancia clínica está en entredicho [3] [5]. Dentro de las diferentes histologías del cáncer diferenciado de tiroides de estirpe folicular, el carcinoma papilar es el más frecuente de todos (90 %), con una tasa de supervivencia cercana al 98 %. Le sigue en frecuencia el carcinoma folicular (5-10 %), mucho menos prevalente y con una tasa de supervivencia algo menor (92 %), lo que le confiere peor pronóstico. Finalmente, dentro de los tumores de estirpe folicular, se encuentra el carcinoma anaplásico, muy raro pero extremadamente agresivo, con una supervivencia de en torno al 13 % [7] [3].

En nuestro estudio hemos encontrado frecuencias similares, con un claro predominio de los tumores de histología papilar con un 83.3 % (n=50) incluyendo la variante de patrón folicular y la de células altas, así como los de celularidad mixta (papilar + folicular). Mientras que sólo el 16.6 % (n=10) fueron carcinomas foliculares, incluyendo el carcinoma de células de Hürthle.

5.1. Genética del cáncer de tiroides

Como se mencionó ampliamente en la sección 1.3.2 la etiología del cáncer de tiroides sigue siendo en parte desconocida, pero sí sabemos que intervienen algunos factores genéticos y ambientales cuyo papel específico es difícil determinar [6]. Múltiples estudios han identificado diversas vías moleculares con un papel crucial en la oncogénesis tiroidea, fundamentalmente la vía de las MAPK y la vía PI3K-AKT, que son vías de señalización implicadas en la regulación de procesos celulares directamente relacionados con la diferenciación, proliferación o migración celular [10].

Entre las mutaciones más importantes implicadas en las alteraciones de estas vías que se han relacionado con el carcinoma diferenciado de tiroides tenemos en primer lugar a BRAF, que aparece en un 40-50 % de los carcinomas papilares, un 20-40 % de los pobremente diferenciados y un 30-40 % de los anaplásicos. Otra mutación relativamente frecuente es RAS que se ha identificado en un 10-20 % de los tumores papilares, un 40-50 % de los foliculares y un 20-40 % de los anaplásicos y pobremente diferenciados. El reordenamiento RET/PTC se ha identificado sobre todo en tumores papilares (10-20 %), pero también en lesiones benignas [9]. Más recientemente se han identificado mutaciones

del promotor TERT, que pueden aparecer hasta en el 22 % de los carcinomas papilares y el 17 % de los foliculares, asociadas a mutaciones de BRAF en tumores de peor pronóstico [4]. Menos frecuentes son las mutaciones PAX8/PPAR γ o los reordenamientos NTKR1.

5.1.1. El papel de los microRNAs en la carcinogénesis tiroidea

Además de los factores genéticos clásicos anteriormente expuestos, que consisten en mutaciones de genes convencionales codificantes de proteínas, en los últimos años están adquiriendo cada vez mayor interés otro tipo de genes no codificantes entre los que se encuentran los microRNAs o miR [6].

Estas pequeñas moléculas de RNA de entre 18 y 25 nucleótidos actúan como reguladores postranscripcionales de la expresión génica, mediante uniones específicas con la región 3' no traducida complementaria de los RNA mensajeros de aquellas proteínas a las que regulan. Multitud de estudios recientes han demostrado su papel fundamental en diferentes procesos biológicos relacionados con la diferenciación celular, la proliferación o la apoptosis, que son procesos cuya alteración se relaciona directamente con la oncogénesis. Es por ello, que cada vez están cobrando un mayor interés en la oncología [77] [78] [79].

La desregulación de los microRNA en el cáncer puede deberse a una sobreexpresión o a una infraexpresión por cualquier evento genético o epigenético. De modo que en algunos casos se han encontrado niveles mayores en tejido tumoral que en tejido normal y en otros casos, mucho menos frecuentes, se han encontrado niveles menores. Sin duda, uno de los puntos más interesantes de los microRNA en el cáncer es su utilidad diagnóstica, pronóstica y en el seguimiento de los diferentes tipos de tumores.

El cáncer de tiroides no es una excepción y se han identificado multitud de microRNAs desregulados en los diferentes tipos de tumores tiroideos, que presentan diferentes perfiles de expresión ya que suelen ser tejido-específicos [78]. Por ejemplo, en el carcinoma papilar se han identificado numerosos miR claramente sobreexpresados como el miR-187, el miR-221, el miR-222, el miR-181, el miR-146, el miR-155 y el miR-224. De ellos los más frecuentemente sobreexpresados son el miR-221, el miR-222 y el miR-146 y en muchas ocasiones se trata de tumores con mutaciones de BRAF. Por otra parte, en el carcinoma folicular existen otros microRNAs desregulados, pero también se han encontrado sobreexpresados miR-221 y miR-222 que son útiles incluso en la diferenciación entre adenoma y carcinoma folicular [84]. La desregulación de algunos de estos microRNAs se ha asociado

5.2. FACTORES PRONÓSTICOS EN EL CÁNCER DIFERENCIADO DE TIROIDES

con mutaciones en c-KIT que está implicado en las vías MAPK y RAS , así como del proto-oncogén RET [78] [90].

En nuestro estudio, hemos determinado los niveles de miR-146, miR-221 y miR-222 en la sangre periférica de pacientes con carcinoma diferenciado de tiroides. El estudio de los microRNAs circulantes es mucho más reciente en este campo y aún existen pocos datos. Yu et al demostraron la presencia de algunos microRNAs entre los que se encontraba el miR-222, cuyos niveles eran superiores en sangre periférica de pacientes con carcinoma papilar comparados con los pacientes con nódulos benignos [100]. Lee et al realizaron un análisis similar, encontrando que miR-222 y miR-146 estaban sobreexpresados en pacientes con carcinoma papilar recurrente comparados con aquellos que no habían presentado recidivas y que se podían detectar en plasma de pacientes con carcinoma papilar en niveles muy superiores al plasma de pacientes sanos [101].

En nuestra muestra hemos podido detectar miR-146, miR-221 y miR-222 en la sangre periférica de pacientes con carcinoma diferenciado de tiroides. En el caso de miR-222 los niveles son dos veces superiores en pacientes con respuesta estructural incompleta comparados con los pacientes con respuesta excelente (p 0.076). En el caso de miR-221 no hemos encontrado diferencias entre los grupos y para miR-146 los niveles fueron superiores en el grupo de respuesta excelente pero las diferencias no fueron estadísticamente significativas (p 0.122). Son datos similares a los encontrados en la bibliografía ya que en el caso de miR-222 los niveles fueron superiores en pacientes que presentan enfermedad recurrente o persistente.

5.2. Factores pronósticos en el cáncer diferenciado de tiroides

En general, el pronóstico del carcinoma diferenciado de tiroides es excelente, pero existen excepciones. Es interesante poder estudiar los factores que influyen en el pronóstico y la evolución de la enfermedad para poder establecer el protocolo más adecuado de tratamiento y seguimiento posterior. La mayoría de los factores etiológicos, tanto genéticos como ambientales, tienen implicación en el pronóstico, pero es difícil asociarlos a los diferentes tipos histológicos porque habitualmente se han estudiado de forma conjunta [71].

Algunas de las mutaciones genéticas que hemos comentado en la etiología de este tipo de

tumores parecen tener implicación pronóstica. De ellas la más estudiada es BRAF. En diversos estudios se ha encontrado una asociación entre esta mutación y la presencia de metástasis ganglionares, la edad avanzada, el sexo masculino, la extensión extratiroidea, los estadios avanzados de la enfermedad y el riesgo de recurrencia [74]. También se ha asociado con la pérdida de avidéz por el radioyodo en el carcinoma papilar recurrente. Sin embargo, otros estudios no han logrado confirmar estas asociaciones y además nunca se ha podido demostrar que sea un factor independiente de las características clínico-patológicas.

En relación también con BRAF, más recientemente se ha empezado a estudiar la importancia de las mutaciones del promotor TERT que son más frecuentes en tumores con mutaciones de BRAF. Este promotor se ha asociado con características de mal pronóstico como edad avanzada, mayor tamaño tumoral, metástasis a distancia y peores estadios tumorales. De especial importancia es la relación con el potencial metastásico, de hecho parece que los pacientes con tumores con mutaciones de TERT tienen una mayor mortalidad específica por el tumor y de forma independiente a la edad y el sexo.

En las mutaciones de RAS existe más controversia ya que se ha encontrado en todo el espectro de lesiones tiroideas y las series estudiadas son pequeñas. Lo mismo ocurre con RET/PTC y PPAR γ , que parecen estar asociados a tumores más pequeños y que responden mejor a los tratamientos [73] [12].

Características clínico-patológicas

Con los datos disponibles actualmente, los factores clínico-patológicos siguen siendo mucho más importantes que los factores genéticos en la evaluación pronóstica del cáncer de tiroides. Sabemos que el sexo masculino, la edad avanzada, o los hallazgos histológicos (grado de diferenciación, variantes celulares como la de células altas o la de células columnares) [75] son características que confieren un peor pronóstico a la enfermedad. En la mayor parte de los estudios se ha encontrado que los pacientes diagnosticados de carcinoma folicular tienen peor pronóstico que los diagnosticados de carcinoma papilar, como confirman Lundgren et al con un riesgo de muerte por el cáncer casi 4.4 veces mayor que en el papilar. Pero además, el carcinoma folicular suele estar menos diferenciado y determinar estadios más altos en las clasificaciones TNM. Además, los tumores con infiltración linfoide se asocian a un mejor pronóstico, al igual que la mayor diferenciación celular. La cirugía incompleta y las metástasis al diagnóstico, ya sean locales o a distancia, suelen

5.2. FACTORES PRONÓSTICOS EN EL CÁNCER DIFERENCIADO DE TIROIDES

conferir un peor pronóstico. Lo mismo ocurre con el sexo masculino, la edad por encima de los 45 años y un tamaño tumoral por encima de los 4 cm [76]. Como dijimos anteriormente, estos datos suelen corresponder a estudios realizados para el CDT en general, sin distinguir los diferentes subtipos histológicos. Recientemente, Ríos et al han analizado los factores pronósticos para el carcinoma folicular, en pacientes con diagnóstico histológico compatible, sin enfermedad diseminada al diagnóstico, sometidos a cirugía potencialmente curativa y con un seguimiento mínimo de 5 años (n=66). En sus resultados encuentran que los principales factores predictivos de recidiva en el carcinoma folicular son la edad por encima de 45 años, el sexo masculino, la clínica local al diagnóstico que se suele relacionar con tumores de mayor tamaño o con afectación de estructuras adyacentes, la propia infiltración de estructuras vecinas, el tipo histológico de carcinoma folicular, el tamaño, la invasión capsular o vascular y la presencia de adenopatías. De todos ellos los únicos que persisten como factores independientes en el análisis multivariante son la clínica local y la invasión de estructuras vecinas. Son datos a tener en cuenta, sin olvidar que es un estudio con una pequeña muestra de pacientes y de carácter retrospectivo [71].

En nuestra muestra hemos podido reproducir estos datos ya que se observó que los pacientes con respuesta estructural incompleta eran de media unos 10 años mayores al diagnóstico que aquellos que tuvieron una respuesta excelente (50.5 años vs 40.7 años respectivamente), mientras que los que mostraron una respuesta bioquímica incompleta fueron unos 9 años más jóvenes (31.25 años) que los que tuvieron respuesta excelente (p 0.001). Posteriormente, realizando una comparación por subgrupos en función de la histología del tumor, encontramos que aquellos tumores con histología de peor pronóstico suelen diagnosticarse en pacientes de mayor edad. Así, el carcinoma de células altas presenta una media de edad al diagnóstico de 68 años y el de células de Hürthle de 63.2 años, frente a los 46.95 años en el caso del carcinoma papilar, siendo estas diferencias estadísticamente significativas (p 0.023).

En cuanto al sexo, aunque nuestra muestra estaba compuesta por una gran mayoría de mujeres, los varones presentaron con mayor frecuencia respuesta bioquímica (n=5) y estructural incompleta (n=9) que respuesta excelente (n=3) con una diferencia estadísticamente significativa (p 0.056). Esto supone que el 48.8% de las mujeres tuvieron una respuesta excelente respecto al 17.6% de los hombres, el 25.5% de las mujeres tuvieron respuesta bioquímica incompleta frente al 29.4% de los hombres y el 25.5% de las mujeres tuvieron respuesta estructural incompleta comparado con el 52.9% de los hombres. En cuanto al tipo histológico, en nuestro estudio no hemos encontrado diferencias signifi-

CAPÍTULO 5. DISCUSIÓN

tivas entre los distintos grupos probablemente por el pequeño tamaño de la muestra. Si bien es cierto que los dos pacientes con carcinoma papilar de células altas presentaron respuesta estructural incompleta y 2 de los 5 pacientes con carcinoma de células de Hürthle también tuvieron una respuesta estructural incompleta.

Respecto a los factores relacionados con un estadio TNM más avanzado como la invasión linfática o vascular, la afectación de los tejidos adyacentes y las metástasis a distancia, hemos encontrado resultados similares a los recogidos en la literatura. Los pacientes con respuesta estructural incompleta presentaron afectación ganglionar en el 50 % de los casos (n=10), los pacientes con respuesta bioquímica incompleta tuvieron afectación ganglionar en el 62.5 % de los casos (n=10) y los pacientes con respuesta excelente sólo la presentaron en el 25 % (n=6) con diferencias estadísticamente significativas (p 0.049). Algo similar ocurre con los datos de invasión linfática en la pieza quirúrgica, que fue más frecuente en los pacientes con respuesta bioquímica incompleta (75 %, n=12) y con respuesta estructural incompleta (60 %, n=12) que en los pacientes con respuesta excelente (25 %, n=6) con una p 0.005. En cuanto a la invasión vascular, ningún paciente con respuesta excelente tuvo datos de este tipo de extensión frente a 3 pacientes con respuesta bioquímica incompleta (18.75 %) y 7 con respuesta estructural incompleta (35 %) con diferencias significativas (p0.002). Observamos también diferencias significativas (p 0.000) en la invasión de tejidos adyacentes, que ocurrió sólo en el 8.3 % (n=2) de los pacientes con respuesta excelente frente al 43.75 % (n=7) de los pacientes con respuesta bioquímica incompleta y el 65 % (n=13) de los pacientes con respuesta estructural incompleta. Respecto a las metástasis al diagnóstico, se observaron en el 25 % de los pacientes con respuesta excelente (n=6), el 62.5 % (n=10) de los pacientes con respuesta bioquímica incompleta y el 75 % (n=15) de los pacientes con respuesta estructural incompleta (p 0.002). Finalmente, en cuanto a las metástasis en el seguimiento, sólo aparecieron en 1 paciente con respuesta excelente 4.2 %, frente a 12 pacientes con respuesta bioquímica incompleta (75 %) y el 100 % de los pacientes con respuesta estructural incompleta (p 0.000).

Todas estas diferencias se mantienen al clasificar a los pacientes según criterios de curación, salvo en el caso del sexo del paciente donde perdemos la significación estadística.

5.2. FACTORES PRONÓSTICOS EN EL CÁNCER DIFERENCIADO DE TIROIDES

La respuesta al tratamiento inicial como factor predictor del riesgo de recurrencia

La última guía de la ATA recoge entre sus recomendaciones el uso del sistema de estratificación dinámica de Tuttle para evaluar la respuesta al tratamiento inicial. Elaboraron este sistema basándose en los estudios previos que demostraban que el riesgo de recurrencia o persistencia de la enfermedad se altera por la extensión de la cirugía inicial, los cambios en la Tg sérica o los anticuerpos antiTg en el tiempo, el grado de avidéz de las metástasis pulmonares por el radioyodo, la presencia de una Tg estimulada indetectable combinada con ecografías negativas en pacientes de bajo riesgo y PET con 18-fluorodesoxiglucosa en pacientes de alto riesgo. Una vez confeccionado este sistema de estratificación del riesgo, procedieron a validarlo mediante una revisión retrospectiva de 588 pacientes con cáncer de tiroides con una media de seguimiento de 7 años en un único centro de referencia de tercer nivel. En sus resultados confirmaron que la escala de riesgo de la ATA es un predictor inicial bueno del riesgo de recurrencia o persistencia de la enfermedad, pero que debe incorporar la valoración de la respuesta al tratamiento en el seguimiento posterior para poder modificar de forma dinámica las estimaciones de riesgo y adaptar tanto el seguimiento como el tratamiento de la enfermedad recurrente en caso necesario [45]. De este modo se establecen cuatro grupos de riesgo que son: la respuesta excelente en aquellos pacientes que no tienen evidencia clínica de tumor, pruebas de imagen negativas y tiroglobulinas <0.2 ng/ml bajo tratamiento o <1 ng/ml estimulada; respuesta bioquímica incompleta si la tiroglobulina se eleva o aumentan los anticuerpos antitiroglobulina sin otra evidencia de enfermedad; respuesta estructural incompleta cuando existe enfermedad persistente o metastásica detectada; y por último respuesta indeterminada cuando los hallazgos son inespecíficos y nos impiden clasificar al paciente [4] [45].

En nuestro trabajo hemos comparado las variables utilizadas para la estratificación dinámica con la que hemos clasificado a los pacientes en los tres grupos de estudio. Se han encontrado diferencias significativas (p 0.003) en la tiroglobulina estimulada el primer año al quinto día desde la estimulación, que fue claramente superior en el grupo de pacientes con respuesta estructural incompleta (29.1 ng/mL) y en los pacientes con respuesta bioquímica incompleta (20.84 ng/mL) en comparación con los pacientes que tuvieron una respuesta excelente (0.2 ng/mL). Obtuvimos resultados similares con la tiroglobulina en el momento de la extracción de la muestra, mucho más elevada en el grupo de respuesta estructural incompleta (48.05 ng/mL) en comparación con el grupo de respuesta bioquímica incompleta (4.09 ng/mL) y el de respuesta excelente (0.2 ng/mL) y esas diferencias

fueron estadísticamente significativas ($p < 0.025$). Al realizar el análisis por subgrupos según la histología del tumor, observamos unos niveles medios de tiroglobulina muy superiores en el carcinoma folicular (60.16 ng/mL), el de células de Hürthle (64.16 ng/mL) y el de células altas (122.99 ng/mL) en comparación con el carcinoma papilar (2.89 ng/mL) con un p de 0.017. Si bien es cierto que el tamaño de la muestra en estas tres histologías es muy pequeño y resulta difícil extraer conclusiones.

La tiroxina en el momento de la extracción fue superior en los pacientes con respuesta incompleta bioquímica y estructural (1.58 ng/dl y 1.57 ng/dl) en comparación con el grupo de respuesta excelente (1.3 ng/dl), también de forma significativa ($p < 0.002$). En el caso de la tiroxina las diferencias responden a la mayor dosis de levotiroxina que reciben estos pacientes a fin de mantener el grado de supresión de TSH adecuado.

Sin embargo, no encontramos diferencias entre los grupos para variables importantes en la evaluación de la respuesta al tratamiento inicial como la tiroglobulina tras la primera ablación con radioyodo, los anticuerpos antitiroglobulina correspondientes a la primera ablación, la tiroglobulina estimulada el primer año al tercer día y sus anticuerpos antitiroglobulina o los anticuerpos correspondientes al quinto día o al momento de la extracción.

Un punto interesante es que en el análisis de correlaciones, se observó una correlación positiva estadísticamente significativa ($r=0.301$, $p < 0.053$) entre la tiroglobulina de la extracción y la tiroglobulina estimulada el primer año al quinto día. Tal como sugieren los datos en la bibliografía, los resultados de las pruebas analíticas durante los dos primeros años tras el tratamiento inicial parecen tener una importancia vital en el pronóstico de la enfermedad. Algo similar ocurre con los niveles de tiroglobulina en la primera ablación y la tiroglobulina de la extracción ($r=0.583$, $p < 0.000$), sugiriendo que la eficacia del tratamiento quirúrgico también es importante en la evolución del cáncer de tiroides.

MicroRNAs circulantes como factor pronóstico en el carcinoma diferenciado de tiroides

Una amplia variedad de estudios han mostrado que había un aumento en la expresión aberrante de microRNAs en el carcinoma papilar comparado con el tejido normal, especialmente de los miR-221, miR-222 and miR-146. Por tanto, estos datos apoyan la idea de que la desregulación de los microRNAs está asociada con la transformación de las células tiroideas. Además, se ha visto que el miR-146 está relacionado no sólo con la car-

5.2. FACTORES PRONÓSTICOS EN EL CÁNCER DIFERENCIADO DE TIROIDES

cinogénesis tiroidea, sino también con la invasión extratiroidea, los estados avanzados del carcinoma papilar y las mutaciones BRAF. Estos resultados destacan la importancia del miR-146 como determinante de la agresividad del carcinoma papilar y en la identificación de genes objetivo potencialmente relacionados con la agresividad del tumor [89].

En un estudio muy reciente, Chou et al evaluaron la eficacia pronóstica de este microRNA determinando los mecanismos por los cuáles el miR-146 influía en la agresividad del carcinoma papilar en las líneas celulares que albergaban mutaciones de BRAF. Evaluaron muestras de tejido obtenidas de una cohorte de 71 pacientes sometidos a tiroidectomía entre 1997 y 2005. Los pacientes fueron clasificados en dos grupos: libres de enfermedad (n=41) o con enfermedad activa (n=30) basándose en los informes médicos al final del seguimiento; y también fueron clasificados como de bajo o alto riesgo de acuerdo al sistema de estadificación TNM de la UICC/AJCC. Sus resultados mostraban que estadios avanzados del tumor, la presencia de metástasis ganglionares cervicales y la expresión de miR-146 eran factores de riesgo independientes para un mal pronóstico en el carcinoma papilar en un estudio univariante. Demostraron la relación entre los niveles de miR-146b, el estadio del tumor, la presencia de metástasis ganglionares cervicales y las mutaciones BRAF con las tasas de supervivencia libre de enfermedad. De modo que pacientes con niveles de expresión elevados de miR-146 en el tumor primario tenían una menor tasa de supervivencia libre de enfermedad que aquellos con bajos niveles de expresión de miR-146 con una $p < 0.05$. Respecto al estadio avanzado y la presencia de metástasis cervicales, también encontraron menor tasa de supervivencia libre de enfermedad en comparación con los pacientes con estadios más precoces y sin metástasis ganglionares con una $p < 0.05$.

Por otra parte, estudiaron el potencial oncogénico de miR-146 en estudios in vitro. Observaron que las células que sobreexpresaban este microRNA eran significativamente menos sensibles a la inhibición del crecimiento celular por contacto célula-célula que aquellas que habían sido transfectadas con un control negativo. Del mismo modo, las células que sobreexpresaban el miR-146 eran menos sensibles a la apoptosis inducida por ciclofosfamida. Finalmente, estudiaron la influencia en la agresividad del tumor, demostrando que la sobreexpresión de miR-146 promueve la migración celular y la invasión in vitro, con diferencias estadísticamente significativas con el control, pero independientemente de las mutaciones BRAF.

En conclusión, en este estudio se demostró que los niveles de expresión de miR-146 en el tejido tumoral tienen un valor pronóstico en pacientes con carcinoma papilar y que pue-

den ser utilizados como un factor predictor significativo de la evolución de la enfermedad asociado al estadio del tumor y la invasión extratiroidea en el momento de la cirugía. Además, en sus estudios *in vitro* los datos sugieren que su sobreexpresión está relacionada con la agresividad del tumor y su capacidad invasiva [96]. Similares resultados se han encontrado en otros estudios para las familias miR-221 y miR-222, más elevados en tumores con características de peor pronóstico como un mayor tamaño tumoral, invasión capsular, vascular o linfática o presencia de metástasis [83]. En el Cancer Genome Atlas [73] las familias de miR-221 y miR-222 se asociaron a tumores menos diferenciados.

En nuestro trabajo, al comparar los tres grupos según la estratificación dinámica del riesgo de recurrencia, se encontraron diferencias casi significativas (p 0.076) únicamente para los niveles de miR-222 que fueron casi dos veces superiores en los pacientes con respuesta estructural incompleta que en aquellos que tuvieron una respuesta excelente o una respuesta bioquímica incompleta. Sin embargo, no encontramos diferencias para miR-146 y miR-221. Estas diferencias se pierden si clasificamos a los pacientes por criterios de curación.

Al realizar la comparación por subgrupos según la histología del tumor se observó que los niveles de miR-222 fueron entre 2 y 3 veces superiores en el carcinoma papilar de células altas que en el resto de histologías, sugiriendo una asociación con un peor pronóstico (p 0.038). El miR-146 presentó niveles algo mayores en el carcinoma de células de Hürthle y el de células altas, pero las diferencias no fueron significativas (p 0.171).

En el análisis de correlaciones se han encontrado algunos datos interesantes. En primer lugar, al correlacionar los niveles de tiroglobulina de la extracción con los niveles de los tres microRNAs estudiados, se observó que en los tres casos había una correlación positiva. En los casos de miR-146 ($r=0.310$, p 0.016) y miR-221 ($r=0.252$, p 0.052) esa correlación fue estadísticamente significativa. Sin embargo, en el caso de miR-222 no se alcanzó dicha significación estadística ($r=0.171$, p 0.19). Esta correlación podría explicarse por la presencia de tejido tumoral que produce tanto tiroglobulina como microRNAs en función del tamaño o la extensión de dicho tejido. Por otra parte, también se encontraron fuertes correlaciones positivas entre los niveles de los tres microRNAs estudiados en la sangre de nuestros pacientes, sugiriendo la consistencia de su expresión por parte del tejido tiroideo.

Cuando segmentamos la muestra según la histología del tumor, se observó una correlación

5.2. FACTORES PRONÓSTICOS EN EL CÁNCER DIFERENCIADO DE TIROIDES

negativa entre los niveles de miR-146 y la tiroglobulina en el momento de la extracción ($r=-0.325$, $p 0.038$) así como la tiroglobulina estimulada el primer año al quinto día ($r=-0.338$, $p 0.044$) en los pacientes con carcinoma papilar. Este hallazgo difiere de los descritos en la literatura hasta el momento, donde los tumores papilares de peor evolución presentaban niveles mayores de este microRNA en el tejido tumoral. Una explicación plausible es que el miR-146 podría asociarse con la dediferenciación tumoral y sus niveles sean más altos en aquellos tumores más dediferenciados con mala evolución que producen menos tiroglobulina. Otra posible explicación es que tengamos algún factor confundente en nuestro análisis que no hemos podido identificar. Además debemos tener en cuenta que los niveles de microRNA en sangre no se correlacionan de forma exacta con los niveles de microRNA en el tejido tumoral, por lo que habría sido interesante poder validar nuestros resultados en sangre con la expresión en la muestra histológica.

Sin embargo, en el carcinoma papilar patrón folicular, que suele tener peor pronóstico, se observó una correlación positiva cercana a la significación estadística entre miR-222 y la tiroglobulina de la extracción ($r=0.810$, $p 0.097$). En este caso los hallazgos si son concordantes con los descritos en los estudios previamente publicados. En cuanto a la tiroglobulina estimulada el primer año al quinto día la correlación sí que fue estadísticamente significativa con miR-222 ($r=0.880$, $p 0.049$). En este tipo de tumores papilares con patrón folicular también encontramos una fuerte correlación positiva entre los niveles de los tres microRNAs y los anticuerpos antitiroglobulina en el momento de la extracción (miR-146 con $r=0.920$ y $p=0.027$, miR-221 con $r=0.929$, $p=0.022$ y miR-222 con $r=0.971$ y $p=0.006$). En los carcinomas foliculares se observó una correlación positiva significativa de miR-146 y la tiroglobulina de la primera dosis de I131 ($r=0.974$, $p 0.026$). Finalmente, en los tumores de células de Hürthle se observaron correlaciones positivas significativas entre miR-221 y miR-222 y las tiroglobulinas de la extracción ($r=0.878$, $p 0.05$ y $r=0.934$, $p 0.02$) y de la primera dosis de I131 ($r=0.965$, $p 0.035$ y $r=0.991$ y $p 0.009$).

Por último, cabe destacar que en el estudio de regresión lineal sólo los niveles de miR-146 y la edad al diagnóstico presentaron una asociación independiente y estadísticamente significativa con la tiroglobulina de la extracción. Los miR-221 y miR-222 presentaron una asociación independiente y estadísticamente significativa con la tiroglobulina estimulada el primer año al quinto día y la tiroglobulina de la primera ablación con I131.

5.3. Limitaciones

En la realización de nuestro estudio hemos encontrado algunas limitaciones importantes. Fundamentalmente el tamaño muestral, sobre todo en los grupos de mala evolución, ya que como hemos comentado anteriormente, el carcinoma diferenciado de tiroides suele tener un pronóstico excelente en la mayor parte de los casos. También hemos tenido ciertas dificultades en el reclutamiento de pacientes con histologías menos frecuentes y de peor pronóstico como el carcinoma folicular o el de células de Hürthle. Por otra parte, la ausencia de muestra tumoral también puede ser una limitación en la interpretación de nuestros resultados, ya que la comparación de los niveles de expresión de microRNAs en el tejido tumoral con los niveles en sangre periférica nos podría permitir validar nuestros resultados.

Con el objetivo de seguir avanzando en este campo sería interesante poder ampliar el estudio con un mayor tamaño muestral y analizar algunos datos más. Por ejemplo, sería útil estudiar a aquellos pacientes con respuesta indeterminada en los que la expresión de microRNAs podría ayudar en el seguimiento de la enfermedad. En los pacientes con anticuerpos antitiroglobulina positivos en los que no podemos valorar los niveles de tiroglobulina en sangre como marcador tumoral quizá podría tener mucho valor medir la expresión de microRNAs. Por otra parte, también sería interesante poder comparar los niveles de microRNAs antes y después de una estimulación con rTSH sintética, para establecer si tienen una sensibilidad similar a la tiroglobulina.

Capítulo 6

Conclusiones

-
1. En nuestra muestra la edad avanzada, el sexo masculino, la presencia de adenopatías al diagnóstico, los datos de invasión linfática o vascular, la invasión de tejidos adyacentes y la presencia de metástasis a distancia tanto al diagnóstico como en el seguimiento, fueron factores relacionados con un peor pronóstico o evolución de la enfermedad.
 2. Existen diferencias en la expresión de miR-222 entre los grupos de estudio según la estratificación dinámica del riesgo, siendo los niveles superiores en los pacientes con respuesta estructural incompleta. Estas diferencias se pierden si clasificamos a los pacientes por criterios de curación. No se han encontrado diferencias para miR-146 y miR-221.
 3. En cuanto a la histología tumoral, los niveles de miR-222 fueron superiores en los pacientes con carcinoma papilar de células altas y los de miR-146 en el carcinoma de células de Hürthle y en el de células altas, sugiriendo una asociación de estos microRNAs con histologías de peor pronóstico.
 4. Estos tres microRNAs parecen tener alguna relación con la evolución de la enfermedad, ya que los niveles se han correlacionado con la tiroglobulina de la extracción. Podrían tener por tanto validez como marcadores sanguíneos de persistencia tumoral.
 5. Sólo el miR-146 se asoció de forma independiente a la tiroglobulina en el momento de la extracción. Pero el miR-221 y el miR-222 presentaron una asociación independiente con la tiroglobulina estimulada el primer año al quinto día y la tiroglobulina de la primera ablación con I131, que también influyen en la estimación del riesgo de recurrencia.
 6. Queda por aclarar si estos marcadores pudieran ser de utilidad en el seguimiento de pacientes con anticuerpos antitiroglobulina positivos en los que la tiroglobulina no tiene validez, ya que existe una correlación entre los niveles de los tres miR estudiados y los anticuerpos antitiroglobulina en pacientes con carcinoma papilar de patrón folicular.
 7. Sería necesario realizar estudios con muestras más extensas para determinar la relación de cada microRNA con la histología tumoral, así como para confirmar su validez en el seguimiento y la evolución del carcinoma diferenciado de tiroides.

Apéndice A

Consentimiento informado

HOJA DE INFORMACIÓN AL PARTICIPANTE EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

Nombre y apellidos:

NHC:

Edad:

Sexo:

Teléfono de contacto:

TÍTULO DEL ESTUDIO: NUEVOS BIOMARCADORES MOLECULARES DE INTERÉS PRONÓSTICO EN EL CÁNCER DIFERENCIADO DE TIROIDES.

Investigador principal: Dra. Ana María Gómez Pérez. Endocrinología y Nutrición. Teléfono: 951 032 658.

UGC de Endocrinología y Nutrición. Hospital Universitario Virgen de la Victoria. Málaga.

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

Su participación en este estudio es voluntaria y usted puede anular su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento sin tener que dar explicaciones y sin que por ello se altere su relación con el médico ni se produzca perjuicio en su tratamiento o en la atención que usted pueda necesitar. También debe saber que puede ser excluida del estudio si (el promotor) o los investigadores del estudio lo consideran oportuno. Su participación en el estudio no supondrá ningún gasto ni beneficio económico para usted.

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

El cáncer diferenciado de tiroides es la neoplasia endocrina más frecuente en nuestro medio, en especial el cáncer papilar de tiroides que supone un 90% de los casos. En su génesis están implicados algunos factores ambientales bien reconocidos como la exposición a radiación cervical, el déficit de yodo o la tiroiditis de Hashimoto. También se deben tener en cuenta multitud de factores genéticos que han sido muy estudiados, entre ellos algunos reconocidos oncogenes como RAS, el proto-oncogen RET o BRAF entre otros. A pesar de ello no se conoce con exactitud el peso concreto que juega cada uno de estos factores en la carcinogénesis tiroidea.

En los últimos años ha surgido la necesidad de encontrar nuevos factores implicados en este proceso, cuya determinación pueda ser útil en el proceso diagnóstico, el pronóstico o el seguimiento de la patología tumoral tiroidea. Entre esos nuevos factores se encuentran los microRNA, que son moléculas formadas por aproximadamente 22 nucleótidos y que son importantes reguladores de la expresión génica a nivel postranscripcional. Multitud de estudios han mostrado su importancia en la carcinogénesis a distintos niveles, incluida la glándula

han mostrado su importancia en la carcinogénesis a distintos niveles, incluida la glándula tiroidea. Parecer ser que una disregulación en su función tanto de forma positiva como negativa puede favorecer los procesos que llevan al descontrol del crecimiento y la proliferación celular y por tanto a la génesis de un tumor. Algunos de esos estudios han demostrado que puede ser útil su determinación en sangre periférica para el diagnóstico y el seguimiento en otros tipos de cáncer.

El objetivo de este estudio es describir el perfil de expresión de microRNA en nuestra población con cáncer papilar de tiroides en sangre periférica y evaluar su posible relación con la evolución y el pronóstico de la enfermedad, con la finalidad de comprobar si pueden ayudarnos a predecir el comportamiento de la enfermedad o incluso ayudarnos en el diagnóstico de una forma poco invasiva.

Excepcionalmente, y siempre que así lo autorice, se podría volver a contactar con usted para solicitar información adicional. Usted no será informado de los proyectos de investigación en los que se utilicen sus muestras, ni los investigadores informarán de los resultados de las pruebas genéticas a usted o a su médico, a menos que los resultados de las pruebas con su material biológico o derivado pudieran ayudarle a usted o a su médico a hacer algo para su salud o la salud de su familia.

PRIVACIDAD Y CONFIDENCIALIDAD

Sus datos serán tratados con la más absoluta confidencialidad según lo dispuesto en las leyes nacionales (LO15/1999, LGC5/2002 y por la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica) y europeas (95/46/CE). Dado que durante la realización de los proyectos de investigación se generará información genética sensible, estas leyes quieren ayudar a los investigadores a evitar accesos involuntarios a esta información que podrían exponer a los pacientes y a sus familias a efectos adversos económicos, legales, psicológicos, y/o sociales. De acuerdo a la LO15/1999, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de los datos, así como puede solicitar la destrucción de las muestras, para lo cual deberá dirigirse al investigador responsable del estudio, Dra. Ana María Gómez Pérez (MIR Endocrinología y Nutrición. Hospital Universitario Virgen de la Victoria de Málaga. Teléfono: 951 032 658).

Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y sólo el investigador principal podrá relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica.

Si se publican los resultados del estudio, sus datos personales no serán publicados y su identidad permanecerá anónima.

INFORMACIÓN SOBRE MUESTRAS BIOLÓGICAS

Se conservará una muestra de su sangre hasta que finalice el estudio. Se guardará congelada en la Unidad de Investigación del Hospital Virgen de la Victoria, donde será custodiada por los investigadores participantes en el estudio. El tubo que contiene esta sangre

no lleva su nombre ni ninguna otra marca que la identifique. Únicamente un código que sólo el investigador principal del estudio conoce que pertenece a usted.

Si usted no desea participar más en el estudio y usted lo quiere así, todas sus muestras identificables, que hayan sido obtenidas exclusivamente para este estudio serán destruidas para evitar la realización de un nuevo análisis.

Antes de firmar, lea detenidamente el documento, haga todas las preguntas que considere oportunas, y si lo desea, consúltelo con todas las personas que considere necesario. En caso de duda debe dirigirse a la Dra. Gómez Pérez.

MODELO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO POR ESCRITO

TÍTULO DEL ESTUDIO: NUEVOS BIOMARCADORES MOLECULARES DE INTERÉS PRONÓSTICO EN EL CÁNCER DIFERENCIADO DE TIROIDES.

Participante:

Yo (nombre y apellidos) _____

- He leído la hoja de información que se me ha entregado.
- He podido hacer preguntas sobre el estudio.
- Se me ha informado que todos los datos obtenidos en este estudio serán confidenciales y se tratarán conforme establece la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal 15/99.
- He recibido suficiente información sobre el estudio.
- He hablado con: *Dra. Ana María Gómez Pérez/ Dr. Jorge García Alemán. Endocrinología y Nutrición.*
- Comprendo que mi participación es voluntaria.
- Comprendo que puedo retirarme del estudio:
 - o 1º Cuando quiera.
 - o 2º Sin tener que dar explicaciones.
 - o 3º Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio a través de la firma de este consentimiento informado del que recibo una copia.

Málaga, ade.....de 20....

FIRMA DEL PARTICIPANTE

FIRMA DEL INVESTIGADOR

Apéndice B

Resumen

TESIS DOCTORAL:

**NUEVOS BIOMARCADORES DE INTERÉS PRONÓSTICO EN EL
CARCINOMA DIFERENCIADO DE TIROIDES.**

Introducción:

Los microRNAs son pequeñas moléculas de RNA no codificante de entre 18 y 25 nucleótidos. Sus mecanismos de disregulación han sido muy estudiados en gran variedad de tumores, entre ellos el carcinoma diferenciado de tiroides (CDT). Las familias más frecuentemente asociadas a este tipo de tumores son miR-146, miR-221 y miR-222. Nuestro principal objetivo es evaluar la relación entre los niveles circulantes de los microRNA más frecuentemente asociados al carcinoma diferenciado de tiroides con el pronóstico y la evolución de la enfermedad.

Material y métodos:

Se analizó una muestra de 60 pacientes con CDT, seleccionando a los pacientes en tres grupos en función de la escala dinámica de riesgo (respuesta excelente, bioquímica incompleta, estructural incompleta). Se realizó una extracción de sangre en el momento de la inclusión y se determinaron: hormona estimulante del tiroides, tiroxina, tiroglobulina, anticuerpos antitiroglobulina y los niveles de miR-221, miR-222 y miR-146.

Resultados:

El sexo masculino y la edad avanzada al diagnóstico suelen asociarse con una peor evolución de la enfermedad. Los niveles de miR-222 fueron dos veces mayores en pacientes con respuesta estructural incompleta, sin significación estadística. Los carcinomas de estirpe folicular se asocian a unos mayores niveles de miR-146, así como los carcinomas de células altas presentan mayores niveles de miR-222. Los niveles de los tres microRNA se correlacionan de forma positiva con los niveles de Tg en el momento de la extracción, aunque sólo es significativa para miR-146 y miR-221. Sin embargo, al segmentar por histologías, el miR-146 presenta una correlación negativa con la Tg de la extracción en pacientes con Ca papilar.

Conclusiones:

Los niveles de miR-222 y miR-146 parecen asociarse a una peor evolución de la enfermedad, por lo que su medición podría tener valor pronóstico en el seguimiento y tratamiento del CDT.

Bibliografía

- [1] F. Netter, *Atlas de Anatomía Humana*. Barcelona, Spain: Masson S.A, 1999.
- [2] H. Kronenberg, S. Melmed, K. Polonsky, and P. Larsen, *Williams Textbook of Endocrinology*. Barcelona, Spain: Elsevier Spain, SL, 2009.
- [3] S. Sherman, “Thyroid carcinoma,” *Lancet*, no. 361, pp. 501–11, 2003.
- [4] R. Bryan, E. K.A., K. C.B, and et al, “2015 american thyroid association management guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer,” *Thyroid*, vol. 26, no. 1, 2016.
- [5] F. Pacini, M. Schulemberger, D. Henning, E. Rossella, S. Johanes WA, W. Filmar, and the European thyroid cancer taskforce, “European consensus for the management of patients with differentiated thyroid carcinoma of the follicular epithelium,” *Eur J Endocrinol*, no. 157, pp. 787–803, 2006.
- [6] A. Chapelle de la and K. Jazdzewski, “MicroRNA in thyroid cancer,” *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 96, no. 11, pp. 3326–3336, 2011.
- [7] P. Pallante, R. Visone, C. Croce, and A. Fusco, “Dysregulation of microRNA expression in follicular derived human thyroid carcinomas,” *Endocr Relat Cancer*, vol. 17, no. 1, pp. 91–104, 2010.
- [8] P. Lichtenstein, N. Holm, P. Verkasalo, A. Iliadou, J. Kaprio, and et al, “2000 environmental and heritable factors in the causation of cancer—analyses of cohorts of twins from sweden, denmark, and finland.,” *N Engl J Med*, no. 343, pp. 78–85, 2000.

- [9] Y. Nikiforov and M. Nikiforova, “Molecular genetics and diagnosis of thyroid cancer,” *Nat. Rev. Endocrinol*, no. 7, pp. 569–580, 2011.
- [10] C. Zafon and G. Obiols, “Via de señalización dependiente de la proteincinasa de activación mitogénica en el carcinoma papilar de tiroides. de las bases moleculares a la práctica clínica,” *Endocrinol Nutr*, vol. 56, no. 4, pp. 176–86, 2009.
- [11] J. Fresno Vara, E. Casado, J. de Castro, P. Cejas, C. Belda-Iniesta, and M. González-Barón, “Pi3k/akt signalling pathway and cancer,” *Cancer Treat Rev*, vol. 30, no. 2, pp. 193–205, 2004.
- [12] C. Tavares, M. Melo, J. Cameselle-Teijeiro, P. Soares, and M. Sobrinho-Simoes, “Genetic predictors of thyroid cancer outcomes,” *Eur J Endocrinol.*, vol. 174, no. 4, pp. 117–126, 2016.
- [13] J. Boice Jr, “Thyroid disease 60 years after hiroshima and 20 years after chernobyl,” *JAMA*, no. 295, pp. 1060–1062, 2006.
- [14] H. Watanobe, T. Furutani, M. Nihei, Y. Sakuma, R. Yanai, and et al., “The thyroid status of children and adolescents in fukushima prefecture examined during 20–30 months after the fukushima nuclear power plant disaster: A cross-sectional, observational study,” *PLoS ONE*, vol. 9, no. 12, p. e113804, 2014.
- [15] M. Marcello, P. Malandrino, J. Almeida, M. Martins, L. Cunha, and et al, “The influence of the environment on the development of thyroid tumors: a new appraisal,” *Endocr Relat Cancer*, vol. 21, no. 5, pp. 235–254, 2014.
- [16] S. Schonfeld, C. Lee, and A. Berrington de Gonzalez, “Medical exposure to radiation and thyroid cancer,” *Clin Oncol*, no. 23, pp. 244–250, 2011.
- [17] G. Azizi, J. Keller, M. Lewis, K. Piper, D. Puett, and et al., “Association of hashimoto’s thyroiditis with thyroid cancer,” *Endocr Relat Cancer*, no. 21, pp. 845–852, 2014.
- [18] S. Noureldine and R. Tufano, “Association of hashimoto’s thyroiditis and thyroid cancer,” *Curr Opin Oncol*, vol. 27, no. 1, pp. 21–25, 2015.
- [19] K. Boelaert, J. Horacek, R. Holder, J. Watkinson, M. Sheppard, and J. Franklyn,

BIBLIOGRAFÍA

- “Serum thyrotropin concentrations as a novel predictor of malignancy in thyroid nodules investigated by fine-needle aspiration.,” *J Clin Endo Metab*, no. 91, pp. 4295–4301, 2006.
- [20] F. Pacini, A. Pinchera, C. Giani, L. Grasso, F. Doveri, and L. Baschieri, “Serum thyroglobulin in thyroid carcinoma and other thyroid disorders,” *J Endocrinol Invest*, no. 3, pp. 283–292, 1980.
- [21] R. Elisei, V. Bottici, F. Luchetti, G. Di Coscio, C. Romei, and et al, “Impact of routine measurement of serum calcitonin on the diagnosis and outcome of medullary thyroid cancer: experience in 10864 patients with nodular thyroid disorders.,” *J Clin Endocrinol*, no. 89, pp. 163–168, 2004.
- [22] J. Hahm, M. Lee, Y. Min, K. Kim, S. Nam, and et al, “Routine measurement of serum calcitonin is useful for early detection of medullary thyroid carcinoma in patients with nodular thyroid diseases.,” *Thyroid*, no. 11, pp. 73–80, 2001.
- [23] E. Papini, R. Guglielmi, A. Bianchini, A. Crescenzi, S. Taccogna, and et al, “Risk of malignancy in nonpalpable thyroid nodules: predictive value of ultrasound and color-doppler features.,” *J Clin Endocrinol Metab*, no. 87, pp. 1941–1946, 2002.
- [24] I. Nam-Goong, H. Kim, G. Gong, H. Lee, S. Hong, and et al, “Ultrasonography-guided fine-needle aspiration of thyroid incidentaloma: correlation with pathological findings.,” *Clin Endocrinol*, no. 60, pp. 21–28, 2004.
- [25] W. Moon, S. Jung, J. Lee, D. Na, J. Baek, and et al, “Bening and malignant thyroid nodules: Us differentiation- multicenter retrospective study.,” *Radiology*, no. 247, pp. 762–770, 2008.
- [26] S. Jeh, S. Jung, B. Kim, and Y. Lee, “Evaluating the degree of conformity of papillary carcinoma and follicular carcinoma to the reported ultrasonographic findings of malignant thyroid tumor.,” *Korean J Radiol*, no. 8, pp. 192–197, 2007.
- [27] S. e. a. Crippa, “The bethesda system for reporting thyroid fine-needle aspiration specimens,” *Am J Clin Pathol*, no. 134, pp. 343–351, 2010.
- [28] S. Qubain, S. Nakano, M. Baba, S. Takao, and T. Aikou, “Distribution of lymph no-



- de micrometastasis in pN0 well-differentiated thyroid carcinoma.," *Surgery*, no. 131, pp. 249–256, 2002.
- [29] C. Solorzano, D. Carneiro, M. Ramirez, T. Lee, and G. Irvin, "Surgeon-performed ultrasound in the management of thyroid malignancy," *Am Surg*, no. 70, pp. 576–580, 2004.
- [30] S. Leboulleux, E. Girard, M. Rose, J. Travagli, N. Sabbah, and et al, "Ultrasound criteria of malignancy for cervical lymph nodes in patients followed up for differentiated thyroid cancer.," *J Clin Endocrinol Metab*, no. 92, pp. 3590–3594, 2007.
- [31] F. Boi, G. Baghino, F. Atzeni, M. Lai, G. Faa, and S. Mariotti, "The diagnostic value for differentiated thyroid carcinoma metastases of thyroglobulin (tg) measurement in washout fluid from fine-needle aspiration biopsy of neck lymph nodes is maintained in the presence of circulating anti-tg antibodies.," *J Clin Endocrinol Metab*, no. 91, pp. 1364–1369, 2006.
- [32] M. Duren, N. Yavuz, Y. Bukey, M. Ozyegin, S. Gundogdu, and et al., "Impact of initial surgical treatment on survival of patients with differentiated thyroid cancer: experience of an endocrine surgery center in an iodine-deficient region.," *W J Surg*, no. 24, pp. 1290–1294, 2000.
- [33] I. Hay, G. Thompson, C. Grant, E. Bergstralh, C. Dvorak, and et al., "Papillary thyroid carcinoma managed at the Mayo Clinic during six decades (1940–1999): temporal trends in initial therapy and long-term outcome in 2444 consecutively treated patients.," *W J Surg*, no. 26, pp. 879–885, 2002.
- [34] N. Esnaola, S. Cantor, S. Sherman, J. Lee, and D. Evans, "Optimal treatment strategy in patients with papillary thyroid cancer: a decision analysis.," *Surgery*, no. 130, pp. 921–930, 2001.
- [35] E. Mazzaferri, "An overview of the management of papillary and follicular thyroid carcinoma.," *Thyroid*, no. 9, pp. 421–427, 1999.
- [36] M. Kouvaraki, S. Shapiro, B. Fornage, B. Edeiken-Monro, S. Sherman, and et al., "Role of preoperative ultrasonography in the surgical management of patients with thyroid cancer.," *Surgery*, no. 134, pp. 946–954, 2003.

BIBLIOGRAFÍA

- [37] Y. Podnos, D. Smith, L. Wagman, and J. Ellenhorn, “The implication of lymph node metastasis on survival in patients with well-differentiated thyroid cancer.,” *Am Surg*, no. 71, pp. 731–734, 2005.
- [38] S. Leboulleux, C. Rubino, E. Baudin, B. Caillou, D. Hartl, and et al., “Prognostic factors for persistent or recurrent disease of papillary thyroid carcinoma with neck lymph node metastases and/or tumor extension beyond the thyroid capsule at initial diagnosis.,” *J Clin Endocrinol Metab*, no. 90, pp. 5723–5729, 2005.
- [39] D. Cooper, G. Doherty, B. Haugen, and et al, “Revised american thyroid association management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer,” *Thyroid*, vol. 19, no. 11, pp. 1167–1214, 2009.
- [40] F. Greene, *AJCC Cancer Staging Manual*. New York, USA: Springer-Verlag, 2002.
- [41] M. Schlumberger, G. Berg, O. Cohen, L. Duntas, and F. Jamar, “Follow-up of lowrisk patients with differentiated thyroid carcinoma:a european perspective.,” *Eur J Endocrinol*, no. 150, pp. 105–112, 2004.
- [42] A. Rouxel, G. Hejblum, M. Bernier, P. Boelle, and F. Menegaux, “Prognostic factors associated with the survival of patients developing loco-regional recurrences of differentiated thyroid carcinomas.,” *J Clin Endocrinol Metab*, no. 89, pp. 5362–5368, 2004.
- [43] L. Akslen and V. Livolsi, “Prognostic significance of histologic grading compared with subclassification of papillary thyroid carcinoma.,” *Cancer*, no. 88, pp. 1902–1908, 2000.
- [44] R. Tuttle and R. Leboeuf, “Follow up approaches in thyroid cancer: a risk adapted paradigm.,” *Endocrinol Metab Clin North Am*, no. 37, pp. 419–435, 2008.
- [45] R. Tuttle, H. Tala, J. Shah, R. Leboeuf, R. Ghossein, and et al, “Estimating risk of recurrence in differentiated thyroid cancer after total thyroidectomy and radioactive iodine remnant ablation: Using response to therapy variables to modify the initial risk estimates predicted by the new american thyroid association staging system,” *Thyroid*, vol. 20, no. 12, pp. 1341–49, 2010.



- [46] D. Cooper, B. Specker, and M. Ho, “Thyrotropin suppression and disease progression in patients with differentiated thyroid cancer: results from the national thyroid cancer treatment cooperative registry,” *Thyroid*, no. 8, pp. 737–44, 1998.
- [47] P. Pujol, J. Daures, N. Nsakala, L. Baldet, J. Bringer, and C. Jaffiol, “Degree of thyrotropin suppression as a prognostic determinant in differentiated thyroid cancer.,” *J Clin Endocrinol Metab*, no. 81, pp. 4318–4323, 1996.
- [48] G. Hovens, M. Stokkel, J. Kievit, E. Corssmit, A. Pereira, and et al., “Associations of serum thyrotropin concentrations with recurrence and death in differentiated thyroid cancer.,” *J Clin Endocrinol Metab*, no. 92, pp. 2610–2615, 2007.
- [49] L. DeGroot, E. Kaplan, M. McCormick, and F. Straus, “Natural history, treatment, and course of papillary thyroid carcinoma,” *J Clin Endocrinol Metab*, no. 71, pp. 414–24, 1990.
- [50] A. Sitges-Serra, “Low-risk papillary thyroid cancer: times are changing.,” *Expert Rev Endocrinol Metab*, no. 9, pp. 9–18, 2015.
- [51] P. Rosario, J. Reis, A. Barroso, L. Rezende, E. Padrao, and T. Fagundes, “Efficacy of low and high 131i doses for thyroid remnant ablation in patients with differentiated thyroid carcinoma based on post-operative cervical uptake.,” *Nucl Med Commun*, no. 25, pp. 1077–1081, 2004.
- [52] K. Johansen, N. Woodhouse, and O. Odugbesan, “Comparison of 1073mbq and 3700mbq iodine-131 in postoperative ablation of residual thyroid tissue in patients with differentiated thyroid cancer.,” *J Nucl Med*, no. 32, pp. 252–254, 1991.
- [53] H. Maenpaa, J. Heikkonen, L. Vaalavirta, M. Tenhunen, and H. Joensuu, “Low vs. high radioiodine activity to ablate the thyroid after thyroidectomy for cancer: a randomized study.,” *PLoS ONE*, no. 3, p. e18885, 2008.
- [54] M. Torres, L. Ramirez, P. Simkin, L. Braverman, and C. Emerson, “Effect of various doses of recombinant human thyrotropin on the thyroid radioactive iodine uptake and serum levels of thyroid hormones and thyroglobulin in normal subjects.,” *J Clin Endocrinol Metab*, no. 86, pp. 1660–1664, 2001.

BIBLIOGRAFÍA

- [55] D. Serhal, M. Nasrallah, and B. Arafah, “Rapid rise in serum thyrotropin concentrations after thyroidectomy or withdrawal of suppressive thyroxine therapy in preparation for radioactive iodine administration to patients with differentiated thyroid cancer.,” *J Clin Endocrinol Metab*, no. 89, pp. 3285–3289, 2004.
- [56] M. Chianelli, V. Todino, F. Graziano, C. Panunzi, D. Pace, and et al., “Low dose (2.0gbq; 54 mci) radioiodine postsurgical remnant ablation in thyroid cancer: comparison between hormone withdrawal and use of rhtsh in low risk patients.,” *Eur J Endocrinol*, no. 160, pp. 431–436, 2009.
- [57] J. Carril, R. Quirce, J. Serrano, I. Banzo, J. Jiménez-Bonilla, and et al., “Total-body scintigraphy with thallium-201 and iodine-131 in the follow-up of differentiated thyroid cancer.,” *J Nucl Med*, no. 38, pp. 686–692, 1997.
- [58] K. Wong, N. Zanzhovsky, J. Cahill, K. Frey, and A. Avram, “Incremental value of diagnostic 131i spect/ct fusion imaging in the evaluation of differentiated thyroid carcinoma.,” *AJR Am J Roentgenol*, no. 191, pp. 1785–1794, 2008.
- [59] F. Pacini, M. Capezzone, R. Elisei, C. Ceccarelli, D. Taddei, and A. Pinchera, “Diagnostic 131-iodine whole-body scan may be avoided in thyroid cancer patients who have undetectable stimulated serum thyroglobulin levels after initial treatment.,” *J Clin Endocrinol Metab*, no. 87, pp. 1499–1501, 2002.
- [60] F. Pacini, E. Molinaro, M. Castagna, L. Agate, R. Elisei, and et al., “Recombinant human thyrotropin-stimulated serum thyroglobulin combined with neck ultrasonography has the highest sensitivity in monitoring differentiated thyroid carcinoma.,” *J Clin Endocrinol Metab*, no. 88, pp. 3668–3673, 2003.
- [61] C. Snozek, E. Chambers, C. Reading, T. Sebo, J. Sistrunk, and et al., “Serum thyroglobulin, highresolution ultrasound, and lymph node thyroglobulin in diagnosis of differentiated thyroid carcinoma nodal metastases.,” *J Clin Endocrinol Metab*, no. 92, pp. 4278–4281, 2007.
- [62] S. Larson and R. Robbins, “Positron emission tomography in thyroid cancer management.,” *Semin Roentgenol*, no. 37, pp. 169–174, 2002.
- [63] S. Leboulleux, P. Schroeder, N. Busaidy, A. Auperin, C. Corone, and et al., “As-



- assessment of the incremental value of recombinant tsh stimulation before fdg pet=ct imaging to localize residual differentiated thyroid cancer.,” *J Clin Endocrinol Metab*, no. 94, pp. 1310–1316, 2009.
- [64] R. Kloos and E. Mazzaferri, “A single recombinant human thyrotrophin-stimulated serum thyroglobulin measurement predicts differentiated thyroid carcinoma metastases three to five years later.,” *J Clin Endocrinol Metab*, no. 90, pp. 5047–5057, 2005.
- [65] M. Castagna, L. Brilli, T. Pilli, A. Montanaro, C. Cipri, and et al., “Limited value of repeat recombinant thyrotropin (rhtsh)-stimulated thyroglobulin testing in differentiated thyroid carcinoma patients with previous negative rhtshstimulated thyroglobulin and undetectable basal serum thyroglobulin levels.,” *J Clin Endocrinol Metab*, no. 93, pp. 76–81, 2008.
- [66] M. Bernier, L. Leenhardt, C. Hoang, A. Aurengo, J. Mary, and et al., “Survival and therapeutic modalities in patients with bone metastases of differentiated thyroid carcinomas.,” *J Clin Endocrinol Metab*, no. 86, pp. 1568–1573, 2001.
- [67] E. Sampson, J. Brierly, L. Le, L. Rotstein, and R. Tsang, “Clinical management and outcome of papillary and follicular (differentiated) thyroid cancer presenting with distant metastasis at diagnosis.,” *Cancer*, no. 110, pp. 1451–1456, 2007.
- [68] C. Durante, N. Haddy, E. Baudin, S. Leboulleux, D. Hartl, and et al., “Long term outcome of 444 patients with distant metastases from papillary and follicular thyroid carcinoma: benefits and limits of radioiodine therapy,” *J Clin Endocrinol Metab*, no. 92, pp. 450–455, 2006.
- [69] D. Dupuy, J. Monchik, C. Decrea, and L. Pisharodi
- [70] M. Schlumberger and S. Sherman, “Approach to the patient with advanced differentiated thyroid cancer,” *Eur J Endocrinol*, no. 166, pp. 5–11, 2012.
- [71] A. Ríos, J. Rodríguez, B. Ferri, E. Martínez-Barba, and P. Torregrosa NM. Parrilla, “Factores pronósticos en el carcinoma folicular de tiroides,” *Endocrinol Nutr*, vol. 62, no. 1, pp. 11–18, 2015.

BIBLIOGRAFÍA

- [72] M. Xing, B. Haugen, and M. Schlumberger, “Progress in molecular-based management of differentiated thyroid cancer,” *Lancet*, vol. 381, no. 9871, pp. 1058–1069, 2013.
- [73] T. C. G. A. R. Network, “Integrated genomic characterization of papillary thyroid carcinoma,” *Cell*, no. 159, pp. 679–690, 2014.
- [74] M. Xing, W. Westra, R. Tufano, Y. Cohen, E. Rosenbaum, and et al., “Braf mutation predicts a poorer clinical prognosis for papillary thyroid cancer,” *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 90, no. 12, pp. 6373–9, 2005.
- [75] I. Yasuhiro and M. Akira, “Prognostic factors and therapeutic strategies for differentiated thyroid carcinomas of the thyroid,” *Endocrine Journal*, vol. 56, no. 2, pp. 177–92, 2009.
- [76] C. Lundgren, P. Hall, P. Dickman, and J. Zedenius, “Clinically significant prognostic factors for differentiated thyroid carcinoma: a population-based, nested case-control study,” *Cancer*, vol. 106, no. 3, pp. 524–31, 2006.
- [77] A. Lujambio and S. Lowe, “The microcosmos of cancer,” *Nature*, no. 482, pp. 347–55, 2012.
- [78] F. Marini, E. Luzi, and M. Brandi, “MicroRNA role in thyroid cancer development,” *J Thyroid Res*, no. 2011, 2011.
- [79] W. Cho, “Oncomirs: the discovery and progress of microRNAs in cancers,” *Mol Cancer*, vol. 25, no. 6, p. 60, 2007.
- [80] P. Pallante, S. Battista, G. Pierantoni, and A. Fusco, “Deregulation of microRNA expression in thyroid neoplasias,” *Nat. Rev. Endocrinol*, no. 10, pp. 88–101, 2014.
- [81] L. Santarpia, M. Nicoloso, and C. Calin, “MicroRNAs: a complex regulatory network drives the acquisition of malignant cell phenotype,” *Endocr Relat Cancer*, no. 17, pp. 51–75, 2010.
- [82] S. GriffithsJones, “mirbase: the microRNA sequence database,” *Methods Mol Biol*, no. 342, pp. 129–138, 2006.



- [83] A. Wojcicka, M. Kolanowska, and K. Jazdzewski, “MicroRNA in diagnostics and therapy of thyroid cancer,” *Eur J Endocrinol.*, vol. 174, no. 3, pp. 89–98, 2016.
- [84] M. Nikiforova, G. Tseng, D. Steward, D. Diorio, and Y. Nikiforov, “MicroRNA expression profiling of thyroid tumours: biological significance and diagnostic utility,” *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 93, no. 5, pp. 1600–1608, 2008.
- [85] P. Mitchell, P. Parkin, E. Kroh, and et al, “Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection,” *Proc Natl Acad Sci USA*, no. 105, pp. 10513–10518, 2008.
- [86] G. Marcucci, M. Radmacher, K. Maharry, and et al, “MicroRNA expression in cytogenetically normal acute myeloid leukaemia,” *N Engl J Med*, no. 358, pp. 1919–1928, 2008.
- [87] S. Vasudevan, Y. Tong, and J. Steitz, “Switching from repression to activation: microRNAs can up-regulate translation,” *Science*, vol. 318, no. 5858, pp. 1931–1934, 2007.
- [88] U. Ostrom, F. Nielsen, and A. Lund, “MicroRNA-10a binds to 5’utr of ribosomal protein mRNAs and enhances their translation,” *Molecular Cell*, vol. 30, no. 4, pp. 460–471, 2008.
- [89] C. Chou, R. Chen, F. Chou, and et al, “Mir-146b is highly expressed in adult papillary thyroid carcinomas with high risk features including extrathyroidal invasion and the BRAF mutation,” *Thyroid*, vol. 20, no. 5, pp. 489–494, 2010.
- [90] S. Cahill, P. Smyth, S. Finn, and et al, “Effect of RET/PTC 1 rearrangement on transcription and posttranscriptional regulation in a papillary thyroid carcinoma model,” *Molecular Cancer*, vol. 5, no. 70, 2006.
- [91] R. Visone, L. Russo, P. Pallante, and et al, “MicroRNAs (mir)-221 and mir-222, both overexpressed in human thyroid papillary carcinomas, regulate p27^{KIP1} protein levels in cell cycle,” *Endocr Relat Cancer*, no. 14, pp. 791–798, 2007.
- [92] F. Talotta, A. Cimmino, M. Matarazzo, and et al, “An autorregulatory loop mediated by mir-21 and pDCD4 controls AP-1 activity in Ras transformation,” *Oncogene*,

BIBLIOGRAFÍA

- no. 28, pp. 73–84, 2009.
- [93] K. Jazdzewski, J. Boguslawska, J. Jendrzewski, and et al, “Thyroid hormone receptor β ($trh\beta$) is a major target gene for micrnas dysregulated in papillary thyroid carcinoma (ptc),” *J Clin Endocrinol Metab*, no. 96, pp. 546–553, 2011.
- [94] S. Cheng, “Multiple mechanisms for regulation of the transcriptional activity of thyroid hormone receptors,” *Rev Endocr Metab Disord*, no. 1, pp. 9–18, 2000.
- [95] H. Suzuki, W. M.C., and C. S.Y., “Mice with a mutation in the thyroid hormone receptor β gene spontaneously develop thyroid carcinoma: a mouse model of thyroid carcinogenesis,” *Thyroid*, no. 12, pp. 963–969, 2002.
- [96] C. Chow, K. Yang, F. Chou, and et al, “Prognostic implications of mir-146b expression and its functional role in papillary thyroid carcinoma,” *J Clin Endocrinol Metab*, no. 98, pp. 196–205, 2013.
- [97] W. Cho, “Circulating microrna as minimally invasive biomarkers for cancer theragnosis and prognosis,” *Front Genet*, vol. 2, no. 7, 2011.
- [98] S. Chim, T. Shing, E. Hung, and et al, “Detection and characterization of placental micrnas in maternal plasma,” *Clin Chem*, vol. 54, pp. 482–490, 2008.
- [99] C. Lawrie, S. Gal, H. Dunlop, and et al, “Detection of elevated levels of tumour-associated micrnas in serum of patients with diffuse large b-cell lymphoma,” *Br J Haematol*, vol. 141, no. 5, pp. 672–5, 2008.
- [100] Y. Shuang, L. Yuanyuan, W. Jingsong, and et al, “Circulating microrna profiles as potential biomarkers for diagnosis of papillary thyroid cancer,” *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 97, no. 6, pp. 2084–2092, 2012.
- [101] J. Lee, J. Zhao, R. Clifton-Bligh, and et al, “Microrna-222 and microrna-146b are tissue and circulating biomarkers of recurrent papillary thyroid cancer,” *Cancer*, vol. 119, no. 24, pp. 4358–65, 2013.
- [102] L. Li, B. Lv, B. Chen, M. Guan, Y. Sun, and et al., “Inhibition of mir-146b expression increases radioiodine-sensitivity in poorly differential thyroid carcinoma via positively regulating nis expression.,” *Biochem Biophys Res Commun.*, vol. 462,

no. 4, pp. 314–321, 2015.

- [103] G. Riesco-Eizaguirre, L. Wert-Lamas, J. Perales-Paton, A. Sastre-Perona, L. Fernandez, and P. Santisteban, “The mir-146b-3p/pax8/nis regulatory circuit modulates the differentiation phenotype and function of thyroid cells during carcinogenesis.” *Cancer Res.*, no. 75, p. 4119–4130, 2015.