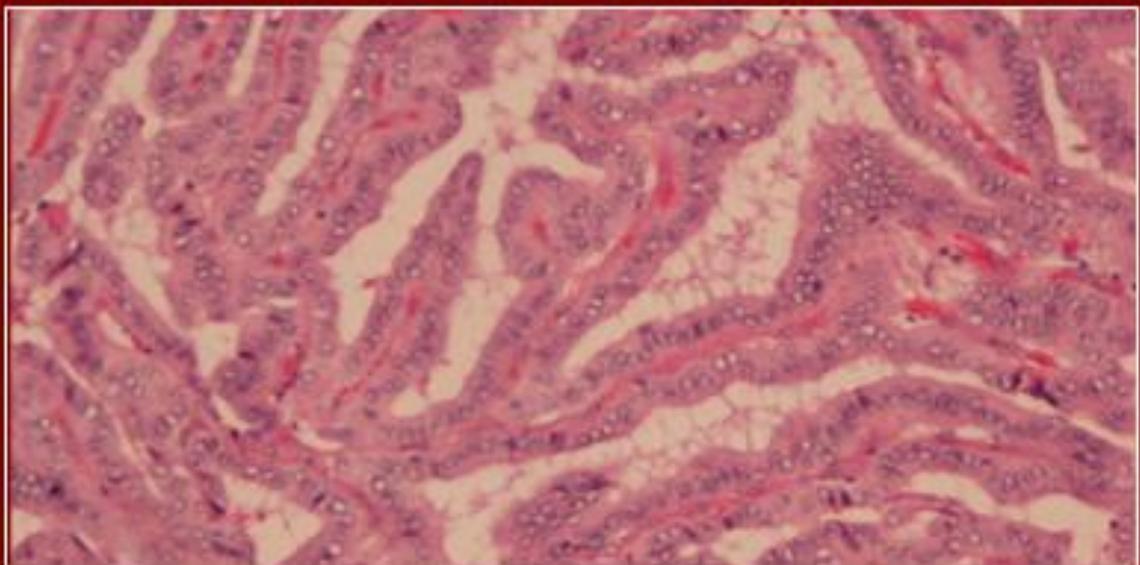




**UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS  
DE GRAN CANARIA  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**“VALORACIÓN DE LOS CAMBIOS MORFOLÓGICOS Y  
PRONÓSTICOS RELACIONADOS CON LA MUTACIÓN  
BRAF EN EL CARCINOMA PAPILAR DE TIROIDES”**



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICAS Y QUIRÚRGICAS**

**M<sup>ª</sup> SOLEDAD MARTÍNEZ MARTÍN**

**TESIS DOCTORAL DIRIGIDA POR:  
DR. D. JUAN JOSÉ CABRERA GALVÁN  
DR. D. EDUARDO SALIDO RUÍZ**

**Las Palmas de Gran Canaria, 2015**



TESIS DOCTORAL

**“VALORACIÓN DE LOS CAMBIOS MORFOLÓGICOS Y  
PRONÓSTICOS RELACIONADOS CON LA MUTACIÓN  
BRAF EN EL CARCINOMA PAPILAR DE TIROIDES”**

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICAS Y QUIRÚRGICAS

Programa de Doctorado: “Avances en Traumatología, Medicina del Deporte y Cuidado  
de las Heridas”

Área de Conocimiento: Ciencias Médicas

TESIS DOCTORAL

Presentada por: D<sup>a</sup> María Soledad Martínez Martín

CODIRIGIDA POR LOS PROFESORES:

Dr. Juan José Cabrera Galván

Dr. Eduardo Salido Ruíz

**Las Palmas de Gran Canaria, 16 de octubre de 2015**

*-M. S. Martínez Martín-*

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 EL GEN BRAF</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2 CARCINOMA PAPILAR DE TIROIDES</b> .....	<b>4</b>
1.2.1 DATOS EPIDEMIOLÓGICOS.....	4
1.2.2 CLÍNICA Y DIAGNÓSTICO CLÍNICO .....	9
1.2.3 DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA .....	10
1.2.4 DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA .....	11
VARIANTES HISTOLOGICAS .....	15
2.5 HISTOQUÍMICA E INMUNOHISTOQUÍMICA .....	22
1.2.6 FACTORES RELACIONADOS CON EL PRONÓSTICO .....	24
1.2.7 EXTENSIÓN Y METÁSTASIS.....	25
<b>1.3 CARACTERÍSTICAS MOLECULARES DEL CARCINOMA PAPILAR</b> .....	<b>26</b>
1.3.1 REORDENAMIENTOS .....	27
<b>1.4 ASPECTOS MORFOLOGICOS PREDICTIVOS PARA LA MUTACION BRAF EN EL CARCINOMA PAPILAR DE TIROIDES</b> .....	<b>28</b>
<b>1.5 VALOR DEL PORCENTAJE DE LA MUTACIÓN BRAF EN EL CARCINOMA PAPILAR DE TIROIDES</b> .....	<b>35</b>
<b>PLANTEAMIENTO, HIPOTESIS Y OBJETIVOS</b> .....	<b>40</b>
<b>OBJETIVOS DE LA TESIS DOCTORAL</b> .....	<b>43</b>
<b>MATERIAL Y METODOS</b> .....	<b>44</b>
<b>3.1 ESTUDIO GENETICO</b> .....	<b>45</b>

<b>3.2 DISEÑO ESTADÍSTICO .....</b>	<b>50</b>
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>52</b>
<b>4.1 RESULTADOS ESTADISTICOS.....</b>	<b>177</b>
4.1 Variable Implante tumoral: .....	178
4.2 Variable Pink-atipia: .....	178
4.3 Variable Cambios Nucleares: .....	178
4.4 Variable Encapsulación: .....	179
4.5 Variable Fibrosis Tumoral: .....	179
4.6 Variable Esclerosis-Desmoplasia:.....	179
4.7 Variable Infiltración de los Límites del Tumor: .....	179
4.8 Variable Infiltración de Bordes:.....	179
4.9 Variable Recidiva Tumoral: .....	180
4.10 Variable Metástasis Ganglionares linfáticas:.....	180
4.11 Variable Metástasis a Distancia: .....	180
4.12 Variable Pacientes Fallecidos: .....	180
<b>4.2 RESULTADOS ESTADISTICOS POR TIPO HISTOLOGICO. Tabla de Contingencia.....</b>	<b>181</b>
<b>4.3 RESULTADOS DEL ANALISIS DEL PORCENTAJE DE LA MUTACION BRAF EN ESCALA CONTINUA. ...</b>	<b>183</b>
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>198</b>
<b>5.1 DISCUSION RESULTADOS POR ANALISIS MULTIVARIANTE .....</b>	<b>198</b>
5.1.1. Disposición Subcapsular del CPT. ....	199
5.1.2. Variable Implante tumoral. ....	200

5.1.3. Variable "Pink-atipia" .....	200
5.1.4. Variable Cambios Nucleares. ....	202
5.1.5. Variable Encapsulación .....	203
5.1.6. Variable Fibrosis Tumoral.....	204
5.1.7. Variable Esclerosis.....	205
5.1.8. Estadio Tumoral > I incluyendo Tamaño. ....	206
5.1.9. Variable Infiltración de los Límites del Tumor. ....	206
5.1.10. Variable Infiltración de Bordes Quirúrgicos. ....	207
5.1.11. Variable Recidiva Tumoral. ....	208
5.1.12 Variable Metástasis Ganglionares linfáticas. ....	208
5.1.13. Variable Metástasis a distancia.....	208
5.1.14 Variable pacientes fallecidos.....	209
<b>5.2 RESULTADOS ESTADISTICOS POR TIPO HISTOLOGICO. ....</b>	<b>210</b>
<b>(Ver Tabla de Contingencia).....</b>	<b>210</b>
5.2.1. Variante Células Altas. ....	210
5.2.2. El CPT de Clásico.....	210
5.2.3. CPT variante Folicular.....	211
5.2.4. Variante Microcarcinomas. encapsulados y/o esclerosantes. ....	212
5.2.5. Variante CPT Oxifílico. ....	212
5.2.6. Variante Macrofolicular. ....	213
5.2.7. Variante Cribiforme.....	213
5.2.8. Variante poco diferenciada.....	213

**5.3 DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS DEL ANALISIS DEL PORCENTAJE DE LA MUTACION BRAF EN**

**ESCALA CONTINUA. .... 214**

5.3.1. Variable Infiltración de los límites del Tumor. .... 215

5.3.2. Variable Pink-atipia. .... 216

5.3.3. Variable Fibrosis. .... 218

5.3.4 Variable Esclerosis-Desmoplasia. .... 218

5.3.5. Variable Estadio > I. .... 219

5.3.6 Variable Bordes quirúrgicos. .... 220

5.3.7. Variable CPT Encapsulados. .... 221

5.3.8. Variable Subcapsular ..... 221

5.3.9. Variable Implante tumoral. .... 222

5.3.10 Variable Recidiva Tumoral..... 223

5.3.11. Variable Metástasis Ganglionares linfáticas. .... 223

**5.4. DISCUSION RESULTADOS DE LOS CASOS CON MÁS DE UNA LESION..... 224**

**CONCLUSIONES ..... 227**

**BIBLIOGRAFÍA..... 229**

## **INTRODUCCIÓN**

## INTRODUCCIÓN

### 1.1 EL GEN BRAF

Las mutaciones activadoras de BRAF están presentes en el 30-70% de los carcinomas papilares de tiroides (PTC), representando la alteración molecular más común. BRAF, como los otros componentes de la familia RAF (ARAF y CRAF) es una quinasa serina-treonina, en la vía MAPK activada por RAS, y representa la isoforma más importante en las células foliculares.

La asociación entre BRAF y carcinoma papilar tiroideo es más intensa cuando los tumores se caracterizan por la arquitectura papilar, independientemente que sea un carcinoma papilar clásico o un subtipo caracterizado por la arquitectura papilar (por ej. variante células altas). De hecho, la activación del oncogén BRAF es poco frecuente en la variante folicular y a veces presenta mutaciones distintas de la V600E. La mutación suele ser más frecuente en el sexo masculino, en pacientes de edad avanzada al diagnóstico, con infiltración extra tiroidea, de ganglios linfáticos o metástasis a distancia, presentación en estadio alto, recurrencia, y supervivencia reducida.

Por todo lo expuesto, la mutación BRAF puede ser un factor pronóstico importante en el manejo de los pacientes con PTC. Esto se refleja en el importante valor predictivo en relación a la agresividad del tumor, recurrencia y mortalidad. Existen criterios moleculares documentados que sustentan la importancia de la mutación BRAF en la génesis del PTC y en su valor pronóstico, así como, en la sobreexpresión de proteínas promotoras, genes supresores tumorales y genes relacionados con la captación del

yodo. El valor pronóstico de la mutación BRAF, puede tener gran utilidad en muchas áreas del manejo de los PTC, como indicación quirúrgica más apropiada y el tratamiento con yodo, sobre todo en los pacientes con bajo riesgo, así como, en su seguimiento más adecuado. La posibilidad de usar la mutación BRAF como valor predictivo en la PAAF de Tiroides previa a la cirugía y en el posterior seguimiento, la convierten en una importante herramienta para la toma de decisiones. Aunque la eventualidad del uso de BRAF como indicación específica y estratégica para el manejo del PTC necesita aún ser definida, se espera que el uso pronóstico de este marcador molecular pueda dar una nueva dimensión en el riesgo de recurrencia, teniendo un impacto importante en el manejo práctico de PTC.

## **LA MUTACIÓN BRAF**

La mutación del gen BRAF representa la proteína quinasa más comúnmente evaluada en la práctica patológica. Se encuentra en melanoma, carcinoma papilar de tiroides (incluyendo en carcinoma papilar de tiroides sobre teratoma ovárico-estruma ovarii), tumores serosos ováricos, carcinoma colorrectal, gliomas, carcinomas hepatobiliares, y leucemia de células peludas. En estos carcinomas se han descrito varias aberraciones genéticas del protooncogen BRAF, como diferentes mutaciones puntuales, y reordenamientos cromosómicos. La mutación más frecuente, BRAF V600E, puede ser detectada por secuenciación de ADN y con inmunohistoquímica de tejido incluido en parafina y fijado en formol. La detección de BRAF V600E tiene un potencial uso clínico tanto como marcador diagnóstico como en el pronóstico. Además una gran cantidad de investigaciones se centran en moléculas que inhiban su actividad. De esta forma, ensayos clínicos usando inhibidores selectivos de BRAF han tenido resultados esperanzadores en pacientes con melanoma metastásico. En otras neoplasias también hay investigaciones a este respecto. El mayor conocimiento de la

mutación BRAF hará en el futuro un mayor uso tanto en el diagnóstico clínico como en la terapéutica y en la supervivencia de estas neoplasias. <sup>(1)</sup>

BRAF es una serina-treonina protein-kinasa perteneciente a la familia RAF. Esta familia está constituida por tres miembros, ARAF, CRAF (RAF-1) y BRAF, de los cuales BRAF es la proteína que más se expresa de forma basal. BRAF regula la vía de señalización intracelular MAPK/ERK, una cascada de señalización conservada en eucariotas, implicada en la regulación de la proliferación celular, la diferenciación y la supervivencia en respuesta a señales extracelulares, tales como las procedentes de EGF. BRAF es el más potente activador de esta vía. El complejo de señalización intracelular RAS/BRAF/MEK/ERK está mutado en aproximadamente el 30% de los tumores, estando BRAF mutado en aproximadamente el 7% de los cánceres. La mutación más predominante implica una translocación de T a A en el nucleótido 1799 (en el exón 15 del gen), que da lugar a la sustitución de una valina por ácido glutámico en posición 600 de la proteína (p.V600E). Esta mutación activadora se ha observado en el 90% de los casos con mutación en BRAF, aunque se han descrito ya más de 40 mutaciones diferentes en el gen BRAF en tumores humanos. La proteína BRAF mutada en V600E tiene una actividad incrementada en más de 500 veces respecto a su actividad normal, implicando la activación continua de la cascada de señalización intracelular MEK/ERK incluso en ausencia de señales extracelulares, y su papel como carcinógeno es cada vez mejor conocido y entendido. En los últimos años, la proteína BRAF mutada en V600E se ha convertido en un blanco atractivo para el desarrollo de terapias moleculares dirigidas y se han desarrollado inhibidores específicos, como el vemurafenib, que están siendo evaluados para su utilización en la clínica, especialmente en melanoma.

Los tres tipos tumorales con mayor incidencia de mutaciones en BRAF son el melanoma, el cáncer colorrectal y el cáncer de tiroides papilar. En melanoma, la vía

RAS/RAF/MEK/ERK se encuentra frecuentemente mutada, con un 15-30% de mutaciones en NRAS, y hasta un 70% de mutaciones en BRAF. En el cáncer colorrectal, existen también alteraciones en la vía RAS/RAF/MEK/ERK. KRAS está mutado en aproximadamente el 51% de los tumores y BRAF en el 10%, siendo estas mutaciones mutuamente excluyentes. Existe además una cierta relación entre la presencia de la mutación V600E de BRAF y deficiencias en los sistemas de reparación de daño en el ADN en cáncer de colon. La presencia de mutaciones en BRAF está también asociada a un fenotipo de islas CpG metiladas (CIMP) y que implicaría entre otros al gen MLH1, que forma parte del sistema de reparación de daño genético. Por último, en el cáncer de tiroides cuyo tipo más frecuente es el cáncer papilar de tiroides, hasta un 45% de tumores presentan mutaciones en BRAF. Otras alteraciones del PTC son reordenamientos del gen RET, en hasta un 30% de los casos, siendo estas alteraciones mutuamente excluyentes con las mutaciones en BRAF y RAS.

El significado de las mutaciones BRAF en neoplasias se reconoció en 2002, cuando se descubrieron en un amplio número de ellas. Estudios posteriores ampliaron nuestros conocimientos en la mutación de V600E de BRAF con respecto al diagnóstico clínico, pronóstico y como biomarcador predictivo en muchos tumores. Actualmente está disponible también el anticuerpo específico para BRAF V600E, a partir del año 2011, y se han realizado estudios para detectar la mutación en melanoma, carcinoma de tiroides y carcinoma colorrectal. <sup>(2)</sup>

## **1.2 CARCINOMA PAPILAR DE TIROIDES**

### **1.2.1 DATOS EPIDEMIOLÓGICOS**

El carcinoma papilar de tiroides es el tipo más común de neoplasias malignas de tiroides. La incidencia del carcinoma de tiroides está aumentando en todo el mundo. Muchos estudios atribuyen este aumento en el incremento a los casos de carcinoma

papilar de tiroides, la neoplasia más frecuente en las zonas con déficit de yodo. Una serie de cambios en la práctica clínica pueden haber afectado a esta incidencia de cáncer tiroideo, por lo que algunos investigadores sugieren que este aumento es sólo aparente debido al incremento en la actividad y precisión diagnóstica.

En España se realizó un estudio epidemiológico en Vigo, que analizó los cambios en la presentación del cáncer de tiroides entre 1978 y 2001, y se investigó la relación entre el rango de incidencia, el tamaño tumoral y la cirugía tiroidea. Este análisis de los casos del Registro de patología del Hospital Universitario de Vigo tuvo los siguientes resultados: de los 322 nuevos casos de carcinoma tiroideo, el tipo papilar fue el predominante (76%). El rango de incidencia estandarizado por edad, demostró un significativo predominio en mujeres. El carcinoma papilar de tiroides fue el principal responsable de este aumento, tanto por el incremento de la incidencia del carcinoma micropapilar como por el incremento en los que miden más de 1cm. Los resultados reflejan que aparte de la mayor precisión en el diagnóstico de esta neoplasia, hay otros factores que contribuyen a este aumento en la incidencia y son necesarios más estudios que extrapolen los hallazgos en el resto de países y busquen otros factores de riesgo potenciales en su incidencia. <sup>(3)</sup>

Un estudio similar en Grecia ha demostrado las mismas conclusiones. La revisión realizada en la Unidad de Endocrinología del Departamento de Terapéutica Clínica de Alexandra Hospital, en los casos de los últimos 34 años, de 852 carcinomas tiroideos, el 83% eran papilares y 17% foliculares. <sup>(4)</sup>

En Dinamarca se han realizado varios estudios de incidencia en cáncer tiroideo, en 2013, se realizó un estudio de cohortes prospectivo, nacional, de 1350 pacientes de carcinoma tiroideo de 1996 a 2008. En los resultados se encontraron un aumento de 1.43 por 100.000 habitantes por año en 1996 a 2.16 por 100.000 habitantes/año en

2008. La edad media de presentación es 46 años y el tamaño tumoral medio es 18 mm. La razón hombre/mujer fue 1 / 2.9. No se encontraron cambios significativos en el uso diagnóstico de ecografía o punción-aspiración con aguja fina. En conclusión, el incremento de carcinoma papilar de tiroides en Dinamarca de 1996 a 2008, no se explica por el cambio en el método diagnóstico, y se necesita considerar otras razones. <sup>(5)</sup>

La incidencia del carcinoma de tiroides también está creciendo enormemente en Alemania y posibles causas de este incremento incluyen la mejoría en los métodos diagnósticos, junto con screening tras la segunda guerra mundial y tras el accidente de Chernobyl. Las diferencias en la incidencia en el territorio alemán también pueden estar en relación con el déficit de yodo en unas zonas con respecto a otras. <sup>(6)</sup>

La incidencia en la mujer es mayor que en el hombre. Según la estadística japonesa de cáncer, en 1996, el número de casos de carcinoma de tiroides en varón fueron 1390 y en mujeres fueron 5437. La incidencia ajustada por edad, mostró un incremento gradual con la edad, el pico de incidencia ajustada por edad fue sobre los 80 años entre las mujeres, y de 70 a 80 años, entre los hombres. Según los datos del Registro del cáncer tiroideo japonés, de 1977 a 1999, el carcinoma papilar de tiroides alcanza más del 85% (30.256) de carcinoma tiroideo entre 35.312 pacientes. El carcinoma medular (1.4%) y el carcinoma anaplásico (1.6%) eran raros. <sup>(7)</sup>

La media de edad en diagnóstico inicial fue de unos 40 años aproximadamente. <sup>(8)</sup>

El carcinoma papilar de tiroides supone más del 90% de las neoplasias tiroideas en niños. En un 5-10% de los casos hay una historia de **exposición radiactiva** del cuello. El riesgo de carcinoma papilar de tiroides se incrementa por radiación externa, particularmente en los niños menores de 15 años debido a un marcado aumento de esa exposición tras el accidente de Chernobyl. En Bélgica se han descrito, en un

periodo corto de tiempo, cuatro pacientes de carcinoma papilar tiroideo (tres mujeres y un varón), que estuvieron expuestos a la radiación. Los pacientes tenían 17, 11, 10 y 19 años cuando se diagnosticó el tumor. Todos ellos se presentaron en tres años, lo que se consideró como un aumento inusual en la experiencia hasta el momento en cirugía tiroidea (62 casos de carcinoma tiroideo en 1014 tiroidectomías en adultos versus 4 casos en 18 niños antes del accidente de Chernobyl en 1986). Dos de los cuatro pacientes tenían cuerpos de psammoma (identificables en escáner y ecografía) y anticuerpos anti-tiroglobulina (TgAb). También se realizó un estudio de cohortes en pacientes de Ucrania diagnosticados de carcinoma papilar de tiroides de 2004 a 2008 en pacientes de 18 años o menores, tras el accidente de Chernobyl. <sup>(9;10)</sup>

Se han publicado más estudios sobre el aumento de incidencia de carcinoma papilar tiroideo, sus características histológicas y moleculares, presentación clínica y pronóstico tras el accidente de Chernobyl y el aumento de la exposición a la radiación de la población. <sup>(11;12)</sup>

En el Instituto de Radiobiología Molecular de Neuherberg (Alemania) se investigaron sesenta muestras tisulares de tumores tiroideos de niños expuestos a la radiación post-Chernobyl. Usando hibridación genómica para detectar alteraciones cromosómicas, en un 30% de estos tumores se observan alteraciones. <sup>(13)</sup>

La experiencia en el Instituto Nacional de Tumores de Turín es que el pronóstico de los carcinomas papilares de tiroides en la infancia/adolescencia es de una supervivencia excelente. <sup>(14)</sup>

La asociación entre **tiroiditis autoinmune** y carcinoma papilar de tiroides es un hecho controvertido. Se realizó un estudio retrospectivo comparando la prevalencia de nódulos benignos y carcinoma papilar de tiroides en pacientes de tiroiditis autoinmune. La conclusión de este estudio de análisis multivariante mostró una asociación negativa

entre la coexistencia de tiroiditis autoinmune y la presencia de ganglios linfáticos positivos y metástasis a distancia. <sup>(15)</sup> Hay datos controvertidos, algunos estudios sugieren que están relacionados mientras otros no encuentran relación. Revisando los artículos publicados de estudios originales de correlación entre tiroiditis de Hashimoto y carcinoma papilar de tiroides, no se concluye una clara evidencia de esta relación. Son necesarios más estudios prospectivos con seguimiento de mayor duración para realmente dilucidar si existe esta relación. <sup>(16)</sup>

La relación con la **enfermedad de Graves Basedow** también es controvertida. En un estudio de cohortes realizado en USA, se estudiaron 297 pacientes tras tiroidectomía total y se identificaron 49 pacientes con enfermedad de Graves. De ellos, un 38% se diagnosticaron como neoplasias malignas, un 10% eran carcinoma papilar de tiroides. <sup>(17)</sup>

Algunos estudios, llegan a la conclusión de que la incidencia de carcinoma papilar de tiroides en enfermos de Graves es mayor que en los que no la padecen, y las variantes agresivas también son más frecuentes. <sup>(18)</sup>

Se han encontrado relaciones con otras enfermedades como es el caso del **síndrome de poliposis adenomatosa familiar**, aunque el riesgo preciso es desconocido. La prevalencia de carcinoma tiroideo en estos pacientes es aproximadamente del 12% o más. Si se estudian estos pacientes con ecografía para screenig, un 7% padecen cáncer de tiroides. Debido a que los pequeños nódulos (menores de 9 mm) pueden también ser malignos es importante el seguimiento con ecografía y estudio con punción-aspiración con aguja fina. <sup>(19)</sup> En 2002 se describió un caso de poliposis adenomatosa familiar con tumores relacionados con neoplasia endocrina múltiple tipo 1 (MEN 1), un tumor pancreático de células endocrinas y tumores paratiroides

bilaterales, y carcinoma papilar de tiroides. Se estudiaron mutaciones genéticas que relacionan todos estos síndromes. <sup>(20)</sup>

La **obesidad** se ha relacionado con el carcinoma papilar de tiroides en un estudio que relaciona el índice de masa corporal en pacientes con carcinoma, hay un riesgo mayor de desarrollar metástasis loco regionales durante el seguimiento y también más persistencia de enfermedad. <sup>(21)</sup>

Se ha relacionado la **postmenopausia** con un factor adverso para el pronóstico del carcinoma papilar y está asociado con la expresión de EGFR. Este dato es importante para la estadificación tumoral y en la predicción del comportamiento tumoral. <sup>(22)</sup>

En 2012, Cheng y col. publicaron un caso de coexistencia de carcinoma papilar de tiroides y linfoma primario tipo MALT extra nodal en un paciente de larga evolución de tiroiditis de Hashimoto. <sup>(23)</sup> En otro de los casos publicados se manifestó como obstrucción de la vía aérea superior que requirió traqueotomía de urgencia y tiroidectomía total como tratamiento de las dos neoplasias. <sup>(24)</sup>

En resumen, en un estudio prospectivo de cohortes realizado en Estados Unidos de 5583 casos de carcinoma de tiroides tratado durante 1996, los potenciales factores de riesgo asociados con carcinoma papilar de tiroides, incluyen bocio (14.9% de los casos), tiroiditis (8.1% de casos), historia de exposición a la radiación (4.8%), y enfermedad de Graves (2.0% de casos). <sup>(25)</sup>

### 1.2.2 CLÍNICA Y DIAGNÓSTICO CLÍNICO

Casi todos los pacientes tienen enfermedad clínicamente evidente en el cuello cuando se diagnostica por primera vez. En series de estudios se han diagnosticado enfermedad localizada en tiroides en un 67% de casos, en tiroides y ganglios linfáticos en un 13% y sólo en ganglios linfáticos en un 20%. <sup>(26)</sup>

Clínicamente el carcinoma papilar puede manifestarse como metástasis pero la ausencia de lesión primaria en el tiroides se designa como carcinoma papilar oculto. <sup>(27)</sup>

La ecografía es el método de elección para la detección de ganglios linfáticos regionales en pacientes con carcinoma papilar de tiroides, antes de la cirugía y para control posterior de la evolución, importante en la guía de la punción con aspiración para el diagnóstico. El carcinoma papilar presenta imágenes típicas como microcalcificaciones, cambios quísticos, morfología anormal, y alteraciones vasculares con infiltración metastásica ganglionar, que son útiles, tanto para el diagnóstico con punción con aguja fina, como para el seguimiento posterior. <sup>(28)</sup>

### **1.2.3 DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA**

La típica apariencia macroscópica del carcinoma papilar de tiroides es una tumoración bien definida con bordes irregulares y consistencia firme, con superficie de corte blanquecina, pálida, granular y algunas veces asociada a calcificaciones. Otras presentaciones del carcinoma papilar es un tumor quístico, con crecimiento adjunto de tipo papilar. A veces puede tener un crecimiento de tipo adenoma y es necesario un adecuado estudio microscópico para su diagnóstico. El tamaño del tumor primario varía desde microscópico hasta gran tamaño. Una gran proporción de cánceres tiroideos que miden menos de 1 mm de diámetro son carcinoma de tipo papilar. La mayoría de los casos son sólidos, blanquecinos, firmes, y claramente invasivos, menos un 10% aproximadamente, que están rodeados por una cápsula completa. Hay marcados cambios quísticos en un 10% de los casos. A veces, macroscópicamente son evidentes las papilas, incluso a simple vista. <sup>(26)</sup>

#### 1.2.4 DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA

Microscópicamente el carcinoma papilar clásico contiene numerosas papilas verdaderas, una imagen fácilmente reconocible que, como cualquiera podría deducir, fue la que dio nombre al carcinoma (Fig. 1). (29;30)

Las papilas, generalmente son completas, ramificadas, y orientadas aleatoriamente, con un eje central fibrovascular rodeado por un epitelio celular cuboidal simple o estratificado. El estroma papilar puede ser edematoso o hialino, y puede contener infocitos, macrófagos espumosos, hemosiderina, o excepcionalmente tejido adiposo. Esas papilas están asociadas estrechamente con la formación de folículos, aunque la proporción entre estos dos componentes varían ampliamente según los casos. Con la mayor experiencia en el conocimiento de estos tumores, se ha hecho evidente que las células de los carcinomas papilares tienen imágenes nucleares características. Estas características nucleares han tomado tanta relevancia, que actualmente el diagnóstico del carcinoma papilar es más dependiente de su presencia que de la existencia de una arquitectura papilar, que puede ser mínima e incluso ausente (ver variantes histológicas).

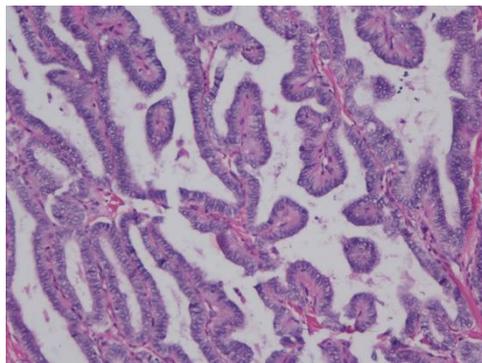


Fig. 1: imagen microscópica del carcinoma papilar.

Los cambios nucleares consisten:

- Núcleos ópticamente claros, en vidrio esmerilado.
- Pseudoinclusiones nucleares
- Muecas o surcos nucleares
- Microfilamentos nucleares

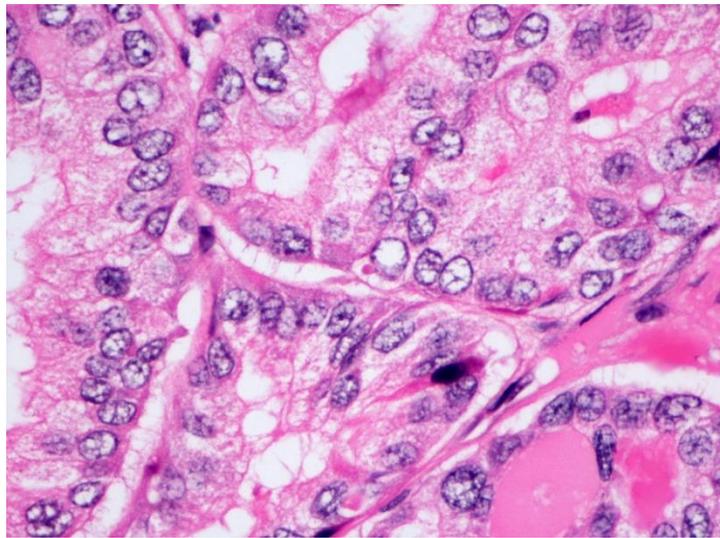


Fig.2. Núcleos claros con gran tamaño (H/E 40x)

Los núcleos son claros, en vidrio esmerilado, suelen tener un gran tamaño y se superponen (Fig. 2). El nucleolo suele ser discreto y se encuentra empujando la membrana nuclear, que aparece engrosada. Las pseudoinclusiones nucleares representan invaginaciones del citoplasma y aparecen como formaciones acidofílicas y suavemente contorneadas. Al contrario de la imagen en vidrio esmerilado, las pseudoinclusiones son fácilmente evidentes en las muestras de sección congeladas y

en muestras citológicas de aspiración. Inmunohistoquímicamente muestran positividad a  $\beta$ -catenina y a veces con colágeno tipo IV.<sup>(31;32)</sup>

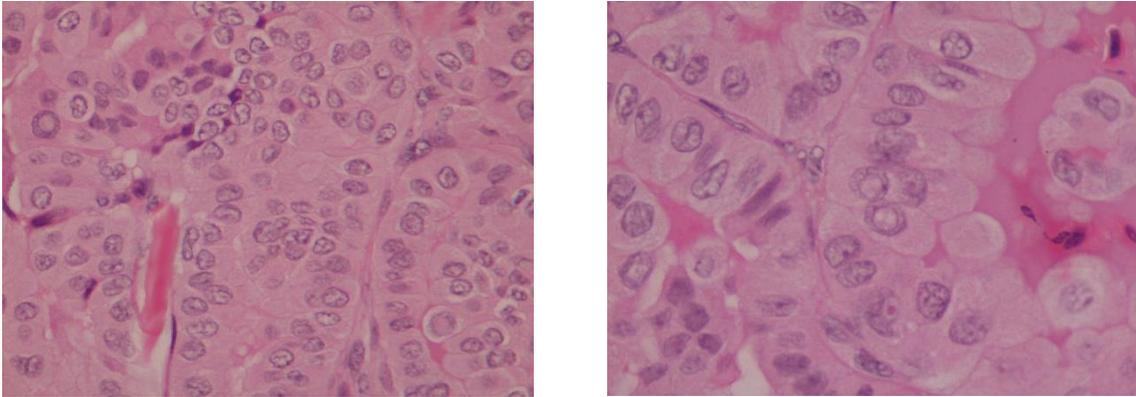


Fig. 3 y 4. Pseudoinclusiones nucleares (H/E, 20x y 40x)

Los surcos o muescas nucleares tienden a ocurrir en núcleos ovales o fusiformes, suelen estar organizados en el eje mayor nuclear y representan (como las pseudoinclusiones) la expresión morfológica de invaginaciones de excedentes de la membrana nuclear.<sup>(33)</sup>

Por último los pocos casos de microfilamentos nucleares, han sido descritos en los aclaramientos nucleares debido a acúmulos de finas fibrillas filiformes.<sup>(34;35)</sup>

Las mitosis son muy escasas o ausentes.<sup>(36)</sup>

Aproximadamente la mitad de los casos, muestran fibrosis extensa.

Los cuerpos de Psammoma se ven aproximadamente en la mitad de los casos. Suelen localizarse en el cuerpo de la papila, en el estroma fibroso o en los focos sólidos de las células tumorales. Su presencia en la glándula tiroides sugiere fuertemente el diagnóstico de carcinoma papilar, mientras su ocurrencia en otras lesiones tiroideas es excepcional.<sup>(37)</sup> Klinck y Winship<sup>(38)</sup> encontraron sólo una, en una revisión de 2153 tiroides benignos. Esto representa una característica diagnóstica muy importante no sólo en secciones de parafina, sino también en secciones en congelación, en

preparaciones citológicas y en número bastante de ecografías. <sup>(39)</sup> Si se presentan en tejido tiroideo normal o en ganglios linfáticos en cuello, indican con alta probabilidad la existencia de un carcinoma papilar en la inmediata vecindad. <sup>(38;40)</sup>

Esas estructuras basofílicas muestran laminaciones concéntricas que se tiñen con mucina, hierro, y calcio, y parecen originarse de necrosis de células individuales, que ocasionalmente pueden ser vistas en el centro y representan el nido de esta formación. <sup>(41)</sup>

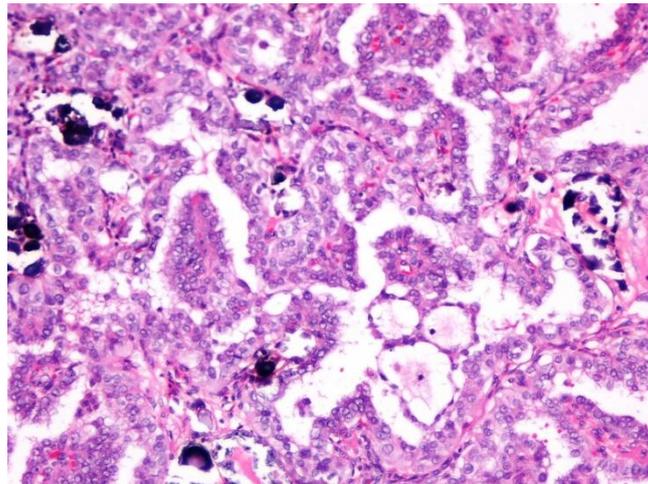


Fig. 5. Cuerpos de psammoma (H/E, 20x)

Los cuerpos de psammoma (Fig. 5) deben diferenciarse de otras formas de calcificación, y de los focos intraluminales de secreción espesa que se observan en los tumores de células de Hürtle. <sup>(29)</sup>

La infiltración linfocítica del estroma tumoral se observa en una cuarta parte de los casos, no está claro si representa una reacción frente al tumor o bien una expresión de una tiroiditis preexistente. <sup>(42)</sup> Infiltración vascular sólo se encuentra en un 5% de los casos. <sup>(43)</sup>

## VARIANTES HISTOLOGICAS

Han sido descritas las siguientes variantes histológicas: <sup>(44)</sup>

- Variante carcinoma micropapilar.
- Variante folicular.
- Variante de células altas o columnares.
- Variante encapsulada.
- Variante esclerosante difusa.
- Variante oncocítica (oxifílica).
- Variante cribiforme o morular.
- Carcinoma papilar con estroma exuberante nodular fascitis-like.

### **CARCINOMA PAPILAR VARIANTE MICROPAPILAR (1)**

Se define el carcinoma micropapilar como aquel que mide 1 cm o menos de diámetro.

<sup>(45)</sup> Sus características microscópicas y el perfil de pérdida de heterocigosidad mutacional investigados ampliamente no son diferentes del carcinoma papilar de mayor tamaño. <sup>(46)</sup>

RET/PTC es frecuente y las mutaciones del gen BRAF han sido identificados, aunque son menos frecuentes que en los tumores de mayor tamaño.

El carcinoma micropapilar es un hallazgo incidental extremadamente común (25% o más, dependiendo de la minuciosidad del examen) en glándulas tiroideas examinadas por otras razones y en estudios autópsicos poblacionales. <sup>(47)</sup> Al contrario de los

carcinomas papilares clásicos, los micropapilares parecen ser más frecuentes en varones que en mujeres. <sup>(48)</sup> A pesar de su pequeño tamaño, el tumor a veces es puede ser identificado en material de aspiración con aguja fina. <sup>(49)</sup> Se asocia con metástasis en ganglios cervicales (reactivas con S100A4). <sup>(50)</sup> De todos modos, las metástasis a distancia son extremadamente raras y el pronóstico suele ser excelente. <sup>(45)</sup> La experiencia con los casos relacionados con el accidente de Chernobyl sugieren que su relevancia clínica y su buen pronóstico no puede ser asumida en los carcinomas micropapilares en la infancia, y de hecho se propone que la definición de carcinoma micropapilar se reserve sólo para los tumores en adultos. <sup>(51-53)</sup>

### **VARIANTE FOLICULAR (2)**

Carcinoma papilar compuesto totalmente o casi totalmente por folículos (Fig.6). <sup>(54)</sup> El diagnóstico está basado en la presencia de núcleos tipo carcinoma papilar. Otras características útiles para el diagnóstico son: un patrón de crecimiento infiltrante,

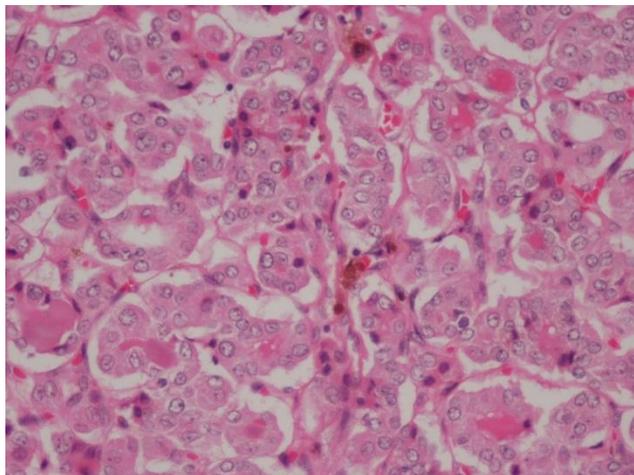


Fig. 6. Carcinoma papilar variante folicular (HE 40x)

trabeculación fibrosa (particularmente en la periferia tumoral), cuerpos de psammoma, coloide eosinofílico con bordes festoneados, y la presencia de papilas abortivas. El comportamiento de esos tumores, cuando son infiltrantes, es similar al carcinoma papilar convencional, particularmente con respecto a la alta incidencia de metástasis

ganglionares. <sup>(55)</sup> Las metástasis usualmente exhiben formaciones papilares mejor desarrolladas. La variante folicular del carcinoma papilar puede ser vista como resultado del balance de dos propiedades biológicas de las células tumorales: diferenciación de la actividad secretora (foliculos coloideos) y proliferación. Cuando una de estas propiedades predominan sobre las otras, surgen las siguientes variantes: sólida, macrofolicular, difusa (multinodular), y encapsulada.

### **Variante sólida del carcinoma papilar de patrón folicular**

Esta variante, que es particularmente común en niños, se desarrolla cuando la proliferación predomina sobre la secreción. Se caracteriza por nidos sólidos de forma redondeada, que puede ser visualizado por foliculos. Se distingue del carcinoma insular, y otras formas de carcinoma poco diferenciado, porque las imágenes nucleares son similares al del carcinoma papilar. <sup>(56)</sup>

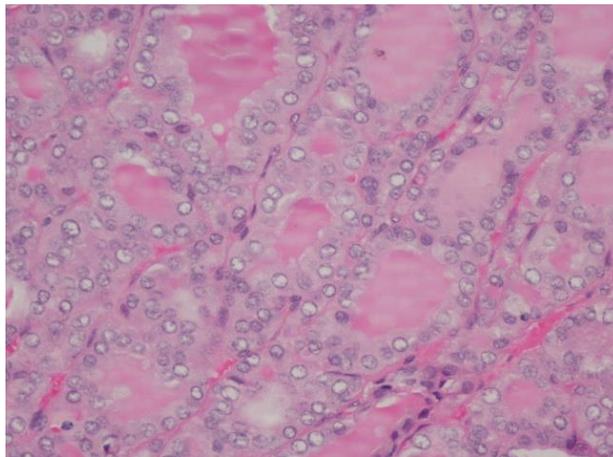


Fig. 7. Variante macrofolicular del carcinoma papilar tipo folicular

### **Variante macrofolicular del carcinoma papilar de patrón folicular**

Esta pudiera ser vista como la opuesta a la variante sólida, en el sentido en que la actividad secretora es resultado de grandes foliculos dilatados, por lo que el tumor asemeja no tanto a una neoplasia folicular, sino a un nódulo hiperplásico. <sup>(57)</sup> Los requerimientos para inclusión de esta lesión en el grupo del carcinoma papilar, puede

ser incluso más exigentes que los de la variante clásica del carcinoma papilar.

Basándonos en estas observaciones y con el propósito de aclarar todas las reacciones que el término carcinoma provoca en los cirujanos y pacientes, el Chernobyl Pathology Group, propuso la siguiente terminología, según las características histológicas propias del carcinoma papilar sean obvias, cuestionables o ausentes. Si los cambios nucleares son evidentes se denominan carcinoma papilar de tiroides, variante folicular, con independencia de la existencia de cápsula. Para lesiones con cambios nucleares cuestionables, se prefiere el término de carcinoma bien diferenciado, NOS, si se observa infiltración de la cápsula. Si la infiltración capsular es cuestionable o ausente, se trataría de un tumor bien diferenciado, con potencial maligno indeterminado.

Otros autores han encontrado que la reproductibilidad diagnóstica de este esquema es similar a las de las otras clasificaciones convencionales.<sup>(58)</sup>

Es importante mencionar que RET/PTC y mutaciones de V600 BRAF son raras en la variante folicular encapsulada del carcinoma papilar (aunque otras mutaciones de BRAF como la K601E pueden estar presentes), que las mutaciones RAS son frecuentes, mutaciones PAX8/PPAR pueden ocurrir y que la aneuploidía es frecuente.

<sup>(59)</sup>

Esto indica que estos tumores son diferentes de los otros carcinomas papilares y muestran alteraciones que (al menos estadísticamente hablando) son intermedios entre adenomas o carcinomas foliculares y carcinoma papilar. Este hecho, junto a la dificultad en hacer un diagnóstico histológico reproducible, sugieren que al menos algunas variantes foliculares encapsuladas del carcinoma papilar podrían ser actualmente incluidas como carcinomas foliculares (si infiltran) o adenomas foliculares (cuando no son invasivos).<sup>(60)</sup>

### **VARIANTE DE CÉLULAS ALTAS Y COLUMNARES (3)**

La variante de células altas en un tipo de carcinoma papilar caracterizado por papilas lineadas por una capa simple de células “altas” (la altura debe ser al menos tres veces el ancho) y abundante citoplasma acidofílico (oncocitoide). <sup>(61)</sup> Estas características histológicas deberían estar presentes en al menos la mitad del tumor para ser agrupado en esta categoría. El patrón de crecimiento tiende a ser intensamente papilar. Las pseudoinclusiones nucleares suelen ser prominentes. Puede haber también una extensa infiltración linfocitaria en el estroma tumoral. Esta variante tiende a afectar a pacientes de mayor edad que la forma convencional, la extensión extra-tiroidea es más frecuente, y el comportamiento clínico suele ser más agresivo. El carcinoma de células altas muestra intensa asociación con la mutación V600BRAF <sup>(62)</sup>, evidenciada en aproximadamente un 80% de los mismos, y también se asocia con reordenamiento RET/PTC3.

La variante de células columnares (Fig. 8) presenta una prominente estratificación y el citoplasma es claro, más que acidofílico (algunas veces con vacuolización subnuclear, que semeja un endometrio secretor inicial). <sup>(63;64)</sup> Las figuras de mitosis suelen ser frecuentes y el índice MIB-1 (Ki67) es relativamente alto. <sup>(65)</sup>

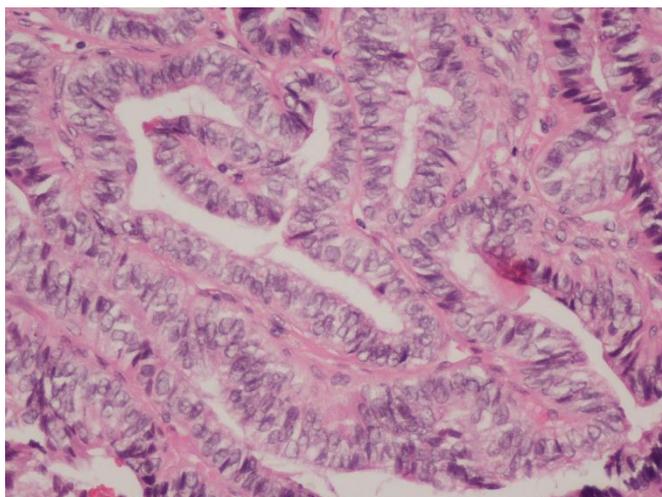


Fig. 8. Carcinoma papilar de células altas y columnares (H/E, 40x)

El núcleo suele carecer de la apariencia ópticamente clara, de las muescas y pseudoinclusiones vistas en el carcinoma papilar y el resto de las variantes, y hay quien cuestiona si el carcinoma de células columnares es realmente una variedad de carcinoma papilar, pero su intensa arquitectura papilar lo incluyen en esta entidad. Los estudios iniciales de esta entidad indicaban un muy mal pronóstico, pero series de casos más recientes han mostrado, una vez más que la evolución viene determinada por el estadio tumoral, <sup>(66)</sup> de manera específica los casos encapsulados se asocian con un pronóstico más favorable. <sup>(67)</sup>

#### **VARIANTE ENCAPSULADA (4)**

Se define como un carcinoma papilar totalmente rodeado por una cápsula. Puede estar asociada con metástasis ganglionares, pero la incidencia de metástasis a distancia o la mortalidad tumoral es casi nula. Las características citoarquitecturales (y particularmente nucleares) de esta variante son las mismas que las del tipo convencional invasivo. Inmunohistoquímicamente estas células benignas no se tiñen con queratina de alto peso molecular, o proteína S-100 y la superficie luminal es PAS y EMA negativas. <sup>(68)</sup>

#### **VARIANTE DIFUSA ESCLEROSANTE (5)**

Esta variante se caracteriza por una afectación difusa de uno o ambos lóbulos tiroideos, esclerosis densa, abundantes cuerpos de psammoma, focos sólidos extensos, metaplasia escamosa, infiltración linfocítica intensa, y extensa permeación de vasos linfáticos. <sup>(69)</sup> Clínicamente puede ser confundida con una tiroiditis de Hashimoto. Las metástasis ganglionares casi siempre están presentes, y las metástasis pulmonares son frecuentes, pueden producirse metástasis cerebrales múltiples, y el tiempo libre de enfermedad suele ser menor que en el carcinoma papilar convencional. <sup>(70)</sup> Las mutaciones BRAF parecen ser raras. <sup>(71)</sup>

### **VARIANTE ONCOCÍTICA (OXIFÍLICA) (6)**

En esta variante las características nucleares recuerdan al carcinoma papilar pero el citoplasma es abundante y eosinófilico granular (Fig. 9). El patrón de crecimiento suele ser papilar o folicular, y el tumor puede ser encapsulado o invasivo, esto hace que se empleen múltiples denominaciones combinadas, como oncocítico, oncocítico encapsulado, oncocítico folicular y variantes encapsuladas oncocíticas foliculares. La apariencia microscópica puede parecerse a un tumor de Warthin de la glándula salival, por lo que se denomina también como tumor Warthin-like de tiroides, con activación de mutaciones BRAF <sup>(72)</sup> y buen pronóstico.

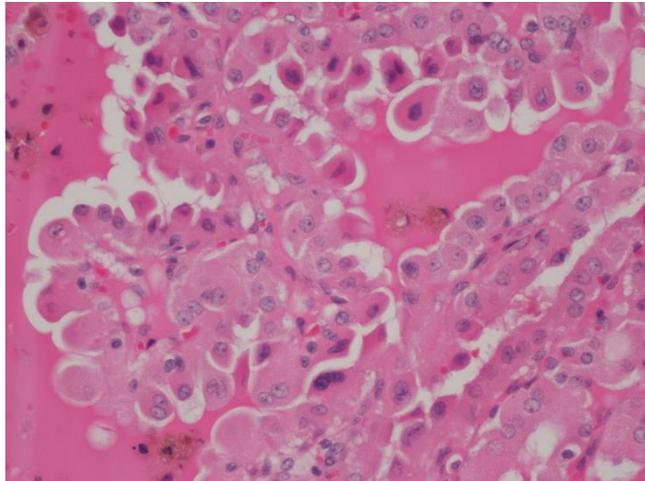


Fig. 9. Variante oncocítica del carcinoma papilar. (H/E, 40x)

### **VARIANTE CRIBIFORME-MORULAR (7)**

Como su nombre indica, esta variante, se caracteriza por un patrón de crecimiento cribiforme y formaciones morulares. Se puede ver aclaramiento nuclear, mostrando a nivel ultraestructural ser debido a acúmulo de microfilamentos (aparentemente formados por biotina) y diferenciándose del carcinoma papilar convencional. <sup>(73)</sup>

Muchos casos son esporádicos mientras otros son parte de un síndrome determinado genéticamente e incluye poliposis adenomatosa colónica. <sup>(74)</sup>

Existe controversia sobre si esta entidad es una variante del carcinoma papilar de tiroides o bien es una categoría diferente del carcinoma de tiroides.

### **CARCINOMA PAPILAR CON ESTROMA EXUBERANTE, NODULAR, FASCITIS-LIKE (8)**

En esta variante, el predominio de la reacción estromal tumoral, puede desplazar el componente neoplásico epitelial. Como resultado, la biopsia puede ser malinterpretada como fascitis nodular, fibromatosis, o algunas otras alteraciones proliferativas estromales. En algunos focos, la interrelación de este componente estromal y el tumor resulta en una apariencia similar al fibroadenoma. <sup>(75)</sup>

### **2.5 HISTOQUÍMICA E INMUNOHISTOQUÍMICA**

Las células del carcinoma papilar de tiroides son positivas para tinción con panqueratinas. El perfil usual es: citoqueratina 7 positiva, citoqueratina 20 negativa. De importancia diagnóstica es el hecho de que las células tumorales son positivas para citoqueratina 19 y para citoqueratinas de alto peso molecular. <sup>(76)</sup>

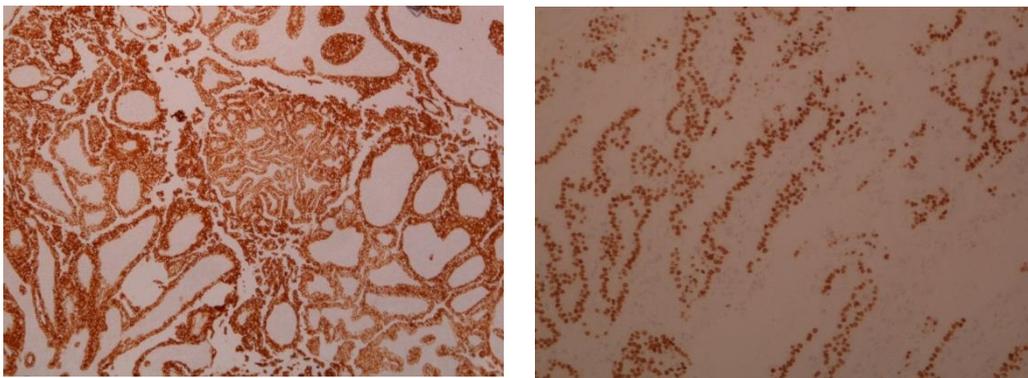


Fig 10. Citoqueratina 19 y TTF1 positivos. <sup>(76)</sup>

La reactividad para TTF1 y tiroglobulina también son usuales, aunque esta última es de menor intensidad que en las neoplasias foliculares. También son positivos para otras técnicas de inmunohistoquímica como TTF2, PAX8, proteína S-100, S-100C,

vimentina (positiva en las mismas células tumorales que expresan queratinas), EMA, CEA (ocasionalmente), CA-125 (en aproximadamente la mitad de los casos), HMBE-1, involucrina, galectina-3, CD15, CD57,  $\alpha_1$ antiquimiotripsina, ICAM1, HER2/neu, factor de crecimiento de insulina 1, receptores de estrógenos, y receptor de neurotropina 75.

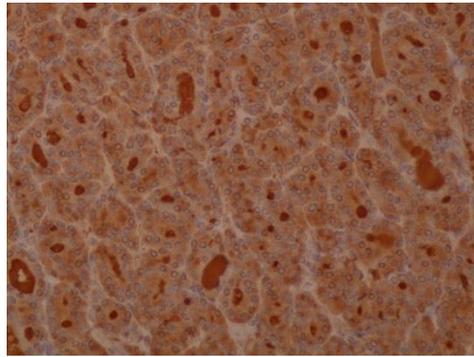


Fig. 11. Tiroglobulina positiva.

En la práctica, por supuesto, la cuestión es la utilidad de estos anticuerpos para el diagnóstico del carcinoma papilar.<sup>(77)</sup> Una situación sería la neoplasia papilar localizada en un ganglio linfático o en cualquier otra localización extra tiroidea en la que se necesita establecer si el tumor es de origen tiroideo o no. El papel realizado por tiroglobulina y TTF1 es crucial, ya que son dos de los marcadores más específicos para su diagnóstico (en el caso de TTF1, compartido con epitelio pulmonar y ocasionalmente otros tejidos). Por otro lado, una situación mucho más compleja, es el uso de inmunohistoquímica para el diagnóstico diferencial de carcinoma papilar de tiroides con otras lesiones tiroideas benignas y malignas. En este caso muchas, si no todas las técnicas pueden ser insuficientes para distinguirlos.

### 1.2.6 FACTORES RELACIONADOS CON EL PRONÓSTICO

La supervivencia de los pacientes con carcinoma papilar de tiroides es excelente, no significativamente diferente de la población general. <sup>(78)</sup>

Los factores relacionados con el pronóstico, son:

**EDAD:** es de gran importancia. Casi todas las muertes por carcinoma papilar suceden cuando éste se manifiesta en mayores de 40 años. <sup>(79)</sup> De tal manera, los carcinomas papilares que se desarrollan en niños y adolescentes se asocian a mejor pronóstico. <sup>(80)</sup>

**SEXO:** las mujeres suelen tener mejor pronóstico que los hombres, aunque en algunas series la diferencia no ha sido significativa. <sup>(81)</sup>

**EXTENSIÓN EXTRATIROIDEA:** este factor y otros incluidos en el estadiaje del carcinoma tiroideo es un importante predictor pronóstico. <sup>(82)</sup>

**VARIANTES MICROSCÓPICAS:** ver descripciones anteriores.

**ANTECEDENTES DE IRRADIACIÓN PREVIA:** no parece influir en el pronóstico. <sup>(83)</sup>

**TAMAÑO TUMORAL:** existe una relación inversa entre tamaño tumoral y pronóstico.

**CÁPSULA Y MARGENES:** tumores encapsulados o que tengan márgenes bien delimitados tienen mejor pronóstico. <sup>(81); (84)</sup>

**MULTIFOCALIDAD:** pacientes en los que la multifocalidad del tumor es prominente, tienen una mayor incidencia de metástasis y menor tiempo de supervivencia libre de enfermedad. <sup>(81)</sup>

**METÁSTASIS A DISTANCIA:** las metástasis pulmonares empeoran el pronóstico, este empeoramiento es mayor cuando se presentan en más sitios, como el sistema esquelético.

FOCOS ANAPLÁSICOS, ESCAMOSOS, POCO DIFERENCIADOS: estas características tienen marcada influencia negativa en el pronóstico. Afortunadamente, sólo se presentan en un 5% de los casos.

GRADO: este parámetro suele relacionarse con los siguientes, sin embargo puede ser subestimado y es necesario una adecuada definición de criterios (necrosis, actividad mitótica, etc.) y estandarizarlos para alcanzar su máximo potencial. <sup>(85)</sup>

DNA ploidía: algunos estudios han mostrado una buena correlación entre aneuploidía y comportamiento agresivo en el carcinoma papilar, pero no está aún claro si el tipo de información que proporciona ya se podría obtener de la clínica o de parámetros morfológicos. <sup>(86)</sup>

CELULAS TUMORALES CIRCULANTES: la presencia de células tumorales circulantes (determinadas con RT-PCR para RNA de tiroglobulina o por identificación de V600E BRAF en sangre periférica) ha sido asociada con enfermedad persistente/recurrente y puede proveer de información útil, aunque no está claro cuál de esos procedimientos jugará un papel práctico en el manejo clínico. <sup>(87)</sup>

BRAF: muchos estudios han mostrado que los casos con mutación BRAF (V600E) tienen un comportamiento más agresivo y peor respuesta a los tratamientos. <sup>(88;89)</sup>

### **1.2.7 EXTENSIÓN Y METÁSTASIS**

La extensión extra-tiroidea en tejidos blandos del cuello se encuentra en una cuarta parte de los casos, con ocasional extensión a las glándulas paratiroides. La infiltración de los ganglios linfáticos cervicales es muy común (particularmente en los pacientes jóvenes), y pueden ser la primera manifestación de la enfermedad. Las metástasis ganglionares tienen tendencia a incluir cambios quísticos. Esas metástasis pueden no ser clínicamente aparentes por su pequeño tamaño y también porque su consistencia puede no ser diferente de un ganglio linfático normal. En un estudio de 67 pacientes

con nódulos clínicamente negativos, 41 (61%) tenían metástasis en el examen microscópico. <sup>(90)</sup>

Las metástasis por vía vascular son menos frecuentes que en otros carcinomas de tiroides, pero también pueden producirse. <sup>(81)</sup> Aunque el órgano más común al que metastatizan es el pulmón, también pueden producirse en huesos, tejidos blandos, sistema nervioso central, páncreas, mama, y algunos otros órganos. Las mutaciones BRAF se han asociado con la existencia de metástasis en ganglios linfáticos y a distancia.

### **1.3 CARACTERÍSTICAS MOLECULARES DEL CARCINOMA PAPILAR**

La principal vía molecular implicada en el carcinoma papilar de tiroides es la vía de activación de la proteína quinasa mitogénica activada (MAPK mitogen-activated protein kinase). <sup>(91)</sup>

Esta vía de señalización regula importantes funciones celulares (por ej. proliferación, diferenciación, y supervivencia) y está alterada en muchos tipos de tumor. En la glándula tiroides la vía de activación MAPK es la consecuencia de tres elementos diferentes: reordenamiento de genes (RET/PTC o bien reordenamientos TRK, menos frecuentes), activación de mutación BRAF, o activación de mutación RAS. <sup>(92)</sup>

El factor oncogénico de las mutaciones RET/PTC, BRAF y RAS en las células foliculares tiroideas han sido demostrados en numerosos estudios in vitro y usando modelos transgénicos de ratones. Como era esperable, como los procesos oncogénicos se producen de manera secuencial, en la misma vía de activación, muchos estudios han demostrado que esas alteraciones son mutuamente excluyentes, pero una de ellas suelen ser detectada en la mayoría de los casos de carcinoma papilar de tiroides (70-80%). De esta forma, el análisis de expresión de cDNA ha

confirmado que esas mutaciones provocan tumores que aunque son similares, sin embargo tienen diferentes perfiles. Las principales alteraciones genéticas implicadas en el carcinoma papilar de tiroides son las siguientes:

Carcinoma papilar (tipo convencional): mutación BRAF (30-70%), RET/PTC (20-40%), RAS (0-10%), TRK (0-10%), estabilidad cromosómica (estudios citogenéticos convencionales, medida citométrica de contenido en DNA, hibridación genómica comparativa, pérdida de heterocigosidad).

Variante encapsulada folicular del carcinoma papilar: mutación RAS (25-45%), RET/PTC (5-10%), BRAF (5-10%), PAX8/PPPAR (0-30%) e inestabilidad cromosómica (estudios citogenéticos convencionales, medida citométrica de contenido en DNA, hibridación genómica comparativa, pérdida de heterocigosidad).

### **1.3.1 REORDENAMIENTOS**

El cáncer de tiroides es uno de las pocas neoplasias epiteliales asociadas con reordenamientos genéticos específicos (RET/PTC, TRK, PAX8/PPPARg), similares a las que ocurren en tumores hematolinfoides y mesenquimales. Los reordenamientos afectan a un 20-40% de los carcinomas papilares y la amplia mayoría de ellos incluyen el gen RET, receptor transmembrana de tirosina quinasa. <sup>(93)</sup> Estos, se denominan RET/PTC (para papillary thyroid carcinoma) son genes quiméricos generados por fusión del dominio RET tirosina quinasa con otros genes, que distinguen diferentes isoformas. Los reordenamientos suelen ser identificados por reacción inversa de la cadena de transcriptasa-polimerasa (RT-PCR) o por hibridación fluorescente in situ (FISH). También podría ser usada la inmunohistoquímica para su detección pero depende de la viabilidad de los anticuerpos y deben ser confirmadas por otros métodos.

RET/PTC se asocia típicamente con radioterapia terapéutica o bien por exposición accidental, la más evidente es la asociación con el accidente nuclear de Chernobyl en 1986. También frecuentemente se asocia con carcinoma papilar de tiroides en los niños y adultos jóvenes. En general los casos RET/PTC positivos suelen ser carcinomas papilares clásicos o microcarcinomas, suelen ser de bajo grado, aunque es común la presencia de metástasis en ganglios linfáticos, y muestran baja actividad proliferativa y poca tendencia a la desdiferenciación.<sup>(94)</sup> Esto es particularmente evidente en los casos con el reordenamiento más común RET/PTC1, mientras RET/PTC3 positivos son más agresivos.<sup>(95)</sup>

La prevalencia del reordenamiento RET/PTC en el carcinoma papilar es enormemente variable, no sólo por la variación geográfica sino por los diferentes métodos de detección utilizados.<sup>(96)</sup>

#### **1.4 ASPECTOS MORFOLOGICOS PREDICTIVOS PARA LA MUTACION BRAF EN EL CARCINOMA PAPILAR DE TIROIDES.**

Como se ha expuesto en la presente introducción, la mutación BRAF en el PTC se ha descrito con una frecuencia que oscila entre un 28-70%, siendo la anomalía genética más hallada con finalidad pronóstica y predictiva, siendo ahora ampliada a la PAAF tiroidea como diagnóstico.

Muchos autores han descrito relaciones entre la mutación BRAF y factores pronósticos del PTC, así por ejemplo en relación a las metástasis ganglionares linfáticas, la extensión extra-tiroidea del tumor, alto estadio, recurrencia y recidiva, aunque otros autores no lo han encontrado.

Por otro lado conociendo la mutación BRAF, se puede determinar la extensión quirúrgica, el uso del yodo radioactivo como terapia y el seguimiento del paciente. Se

ha llegado a proponer que una terapia dirigida contra la mutación BRAF puede ser una alternativa al yodo.

Los PTC estén mutados o no, presentan unos hallazgos distintivos ya relatados anteriormente. Ahora bien, la mutación se asocia mayormente con la infiltración de los límites del tumor, reacción estromal asociada a la neoplasia que va desde la desmoplasia a la simple fibrosis o esclerosis. Otro signo histológico asociado es el aspecto microscópico del núcleo, con sus características morfológicas completas (irregularidades de la forma y tamaño, cromatina clara, pseudoinclusiones, inclusiones verdaderas y apilamientos nucleares) o incompletas (cuando faltan algunos de ellos).

Además de los cambios nucleares, se le da mucho valor al aspecto y tamaño de los citoplasmas. Un tamaño celular mayor con eosinofilia (plumppink o “pink atipia”), célula alta y los cuerpos de psammoma.

Dentro de las variables histológicas, el PTC Clásico, el de células altas y la forma Esclerosante subcapsular, son las más asociadas a la mutación, mientras que la variante Folicular no se asocia a la misma.

A modo de resumen de lo expuesto, se puede concretar con más detalle las características morfológicas citadas. Así, para definir un PTC clásico se requiere que el tumor muestre un patrón arquitectural papilar en más del 5% de su estructura, pudiendo llegar a ser quístico.

La variante Folicular, debe tener un patrón exclusivo folicular o menos de un 5% de áreas papilares. Un dato muy remarcado es la definición del PTC de células altas. Así, más del 50% del tumor debe tener moderada o abundante eosinofilia (Pink atipia) citoplásmica y éste debe ser el doble de alto que de ancho. Además debe poseer cambios nucleares típicos.

La forma Subcapsular esclerosante, se caracteriza por su disposición característica, al menos 20% del tumor está relacionado con la cápsula, fibrosis central estrellada, bordes infiltrados y cambios nucleares clásicos.

Las alteraciones de los núcleos son también notorias. Así, se consideran cambios nítidos nucleares bien desarrollados: agrandamiento irregular, apilamientos, inclusiones, membrana nuclear irregular, aclaramiento cromatínico y pseudoinclusiones. Se considera poco pronunciado, cuando las pseudoinclusiones están ausentes y el resto de los hallazgos son muy focales o están ausentes.

Un factor interesante es el comportamiento infiltrativo del tumor. El PTC, al ser de crecimiento lento, muestra su agresividad en base a la infiltración de los límites del tumor, entre el mismo o su cápsula si la tuviera y la interfase tisular periférica normal del tumor. Aunque se podrían establecer diferentes grados, como por ejemplo infiltración proximal, mediana o a distancia, se debe diferenciar esta característica de la ocupación de la capsula externa glandular por el crecimiento infiltrante del mismo de forma masiva o por su incremento de tamaño.

La reacción estromal del PTC, es una característica similar a la de otros tumores epiteliales. Esta capacidad de respuesta fibroblástica del tumor se puede establecer de la siguiente forma: a) Fibrosis, sería componente colágeno fibroso con un estroma no mixoide. b) Desmoplasia con proliferación fibroblástica y estroma laxo joven o mixoide, indicativa de la actividad del tumor o bien c) Esclerosis, con un colágeno paucicelular, eosinófilo y con bandas densas de colágeno ya re-precipitado.

Un detalle a tener en cuenta en el crecimiento del PTC, como ya se ha dicho, es la forma citoplásmica. Es muy frecuente que al tener mayor capacidad de desarrollo aumente el tamaño citoplásmico y se haga más eosinófilo (Plump pink) o Pink atípica, que aunque en sus diversos grados, se puede establecer como positiva o negativa.

Este cambio morfológico, puede estar supeditado a la subjetividad del patólogo que observa. Para su definición, el tamaño celular suele tener un aspecto poligonal con moderada o abundante eosinofilia homogénea, a veces con prolongaciones ovoides o “en tachuela”. El tamaño de su citoplasma es menos de dos veces su altura, no considerándoseles células altas. Estos rasgos se acompañan de cambios nucleares marcados. Es característico que este signo se pueda ver solamente focal o en muchas ocasiones de forma neta en las zonas de infiltración del tumor. Debe diferenciarse de los tipos celulares denominados oncocíticos o eosinofílicos, propios de las variantes denominadas de células de Hürthle.

Por último los cuerpos de psammoma pueden estar presentes o ausentes, con sus formas de calcificaciones lamelares concéntricas.

Estas alteraciones celulares del PTC descritas, son las que más se asocian con la mutación BRAF.

Se han realizado estudios predictivos doble ciego por patólogos distintos, que valoran previamente los criterios morfológicos más asociados a la mutación BRAF, estableciéndose la hipótesis de que dichos cambios pueden establecer la presencia de mutación en un alto porcentaje de casos, en torno a un valor predictivo de un 84%, un 96% de sensibilidad y un 71% de especificidad. Los valores predictivos fueron, positivos de un 78% y negativo de un 94 %.

En tal sentido, los signos morfológicos mayormente asociados a la mutación BRAF y el PTC se pueden resumir en los siguientes: referidos a una asociación específica negativa se considera en primer lugar la negatividad para la mutación en el PTC Variante Folicular ( $p=0.001$ ). La encapsulación del tumor sin límites infiltrativos, que fue de  $p=0.005$ . Los hallazgos nucleares incompletos o sutiles se valoraron significativamente también  $p=0.002$ .

Respecto a la relación positiva, llama la atención la presencia de Infiltración de los límites tumorales  $p=0.005$ , la asociación para la Reacción estromal  $p=0.001$ , la pink-atipia (Plump pink)  $p=0.013$  y los cuerpos de psammoma, que fue negativa  $p=0.158$ .

Es interesante señalar los rasgos morfológicos que pueden servir como predictivos para mutación positiva por un patólogo desconocedor de la mutación. Así, los cambios nucleares bien desarrollados fueron 100% sensible predictivos, mientras que la infiltración de los bordes tuvo una especificidad de un 71% y un PPV del 75%. Por el contrario los cambios nucleares incompletos (subtles) tuvieron un valor predictivo negativo (NPV).

Los valores predictivos más altos corresponden a la infiltración de los límites del tumor (75%) de mutación positiva, la relación desmoplasia/fibrosis (74%) y los cuerpos de psammoma (65%).

Además, cuando los tres rasgos estaban presentes la predicción de la mutación positiva se acerca casi al 100%. El valor predictivo de estos estudios entre ambos patólogos fue de un 83%.<sup>(97)</sup> Otros tipos de asociaciones como la Pink atipia, y la reacción estromal con la infiltración de los bordes alcanza un predicción del 80%. Los cuerpos de psamoma, sin embargo se relacionan poco por sí solos a la mutación, excepto que se combinen con límites infiltrados, reacción estromal y la pink atipia.

Teniendo en cuenta los datos precedentes, la mutación puede predecirse en un 85% de los casos, pudiendo llegar a tener una sensibilidad del 96%. Los tumores más propensos a no ser predictivos son los correspondientes a la variante Folicular de CPT, los que aparezcan bien delimitados, sin límites infiltrados, aunque tengan cambios nucleares bien desarrollados. Sin embargo, algunos casos de mutación negativa pueden poseer algunos de los rasgos morfológicos como núcleos muy

característicos, cuerpos de psamoma, límites infiltrados, reacción estromal o pink atipia.

Por todo lo precedente, la mutación BRAF puede predecirse en más de un 80% de los casos de PTC, teniendo en cuenta los parámetros citados, solamente mediante la observación de una simple Hematoxilina y Eosina. Dichos parámetros, se podrían resumir en: Subtipo histológico, cambios nucleares, reacción estromal, pink atipia y presencia de cambios focales atípicos como las células altas. Todos los anteriores, excepto los cuerpos de psammoma, demostraron alta sensibilidad (>80%), pero una especificidad limitada 65-75 %. Ahora bien, si los rasgos nucleares no están totalmente presentes el valor predictivo negativo NPV fue del 100% por ejemplo el CPT Folicular. Uno de los hallazgos que con mayor exactitud predice la mutación fue la infiltración de los bordes o límites del tumor.

Para otros autores como Lupi <sup>(98)</sup>, la ausencia de capsula también se asocia a la mutación por medio de análisis multivariante. Por tipos histológicos, la prevalencia no es uniforme, así las células altas, clásico y Warthin-like se asocian frecuentemente, mientras que no ocurre así con la variante folicular. El tipo histológico es un dato importante, por lo tanto. Ahora bien, solo este dato no es suficiente porque algunos Foliculares pueden ser positivos y algunos Clásicos pueden ser negativos, aunque sean los menos frecuentes.

En la experiencia de esos autores, la Variante folicular con hallazgos nucleares positivos, bordes infiltrativos y estroma asociado, tenderá a ser positiva, a pesar de ser variante folicular. Ello ha sido reportado por otros como Eloy <sup>(99)</sup>, mientras que un PTC bien circunscrito y con límites no infiltrados, sería no predictivo en más del 94% de los casos, que puede llegar a un casi 100% si los hallazgos nucleares no son nítidos, todo

ello excluye casi virtualmente la mutación. Si el patólogo emplea estos aspectos puede hacer posible la predicción.

Es lógico pensar que dicha predicción puede verse afectada por la eficacia de las técnicas moleculares. En la experiencia, el patólogo responsable del diagnóstico selecciona el área para extraer la zona tisular para la extracción del ADN, asegurándose que sea representativa.

Un dato a tener en cuenta es valorar previamente dicha zona con IHQ mediante el anticuerpo monoclonal BRAF 600E-proteína mutada, clona VE1. Aunque se propone como sensible, sin embargo la debilidad de la tinción no permite que sea específica claramente. Hay que tener en cuenta el precio del anticuerpo y parece ser que no va a reemplazar a la realización de la mutación.

Al final se concluye por los autores citados que la propuesta de un set morfológico muy definido por los criterios establecidos puede predecir en más de un 80% la mutación BRAF. Aunque este test histopatológico no va a reemplazar la práctica del test de la mutación, si va a orientar el tipo de tejido o tumor apropiado para dicha técnica, limitando así los costes. Ello podría ser interesante en los PTC multifocales, para seleccionar la zona más apropiada para extraer el DNA.

Convendría, por último, recomendar un estudio de los cambios morfológicos citados en los casos de PTC que no muestren la mutación, así como la variabilidad resultante entre el incremento del porcentaje de la mutación BRAF y su posible asociación con mayor agresividad manifestada por los signos que acabamos de exponer.

## **1.5 VALOR DEL PORCENTAJE DE LA MUTACIÓN BRAF EN EL CARCINOMA PAPILAR DE TIROIDES.**

La mutación somática BRAF se observa frecuentemente en el CP de Tiroides, como ha sido ya expuesto. Se sospecha que el PTC es un tumor heterogéneo que puede contener una forma clonal o subclonal que incide en dicha mutación. El valor de la frecuencia de la mutación alélica ha mostrado resultados diversos en cuanto a su significado pronóstico (Cheng 2014)<sup>(100)</sup>. Interesa por tanto estudiar la asociación entre el porcentaje de la BRAF c.1799T>A (pVal600Glu alelo y los parámetros clínico-patológicos. Primero hay que referir que los métodos para detectar la mutación BRAF son diversos y no han sido estandarizados. Así, muchas veces se presentan resultados para la secuenciación convencional solo como binarios: mutados o no mutados, sin especificar la ratio de la posible mutación de la parte nativa (wild type). Por ello, caracterizar el significado biológico del porcentaje de mutación BRAF es fundamental.

Así, la cuantificación porcentual de la mutación por diversos procedimientos como la pirosecuenciación dio mejores resultados (84%) sobre el método Sanger o el de Genotipado por espectrometría de masas, existiendo sin embargo buena correlación entre ellos.

Convendría sin embargo, especificar con más detalle estas relaciones, dado que aún hoy día, a pesar de los tratamientos estándar como la cirugía, el yodo radioactivo y la supresión tiroidea, hay casos de progresión más agresiva mostrando recidivas locales y/o metástasis ganglionares o a distancia, debido al efecto transcripcional sobre la actividad mitótica que realiza la proteína Kinasa por la vía (MAPK).

De esta forma se han realizado estudios por meta análisis que correlacionan la mutación BRAF con las metástasis ganglionares, invasión extra tiroidea, estadio TNM avanzado y recurrencias de la enfermedad (Xing 2013).<sup>(101)</sup>

Un dato interesante de lo expuesto hasta ahora, es la contradicción existente entre los resultados de Guerra <sup>(102)</sup> y Gandolfi <sup>(103;104)</sup>, el primero mediante pirosecuenciación encuentra correlación con la edad, volumen tumoral y con la recurrencia, mientras que el segundo no la encuentra respecto de las metástasis.

Se conocen trabajos sobre porcentajes de la mutación y relación con diversas variables clínico-patológicas con número de casos diferentes. En ellos se aprecia el mayor porcentaje en el sexo femenino, como ya es conocido. La media de edad osciló sobre los 47 años, siendo los tipos histológicos más comunes de PTC por dicha frecuencia, la variante Clásica y luego la Folicular, dándose diversas cifras para las metástasis cervicales (58% de los casos) algunos con extensión pulmonar.

Separando la casuística entre casos mutados por no mutados y realizados los estudios estadísticos, se hallaron datos significativos favorables a los casos positivos respecto del tamaño tumoral  $p=0.015$ , TNM  $p<0.003$ , la invasión extra tiroidea  $p=0.002$  <sup>(105)</sup>.

Así, mediante la pirosecuenciación, resulta que para los Adenomas tiroideos su mutación de alelos osciló entre un 3 y un 5%. Para los casos de PTC positivos los rangos de frecuencia positivos oscilaron entre el 6-46% y por este método la pirosecuenciación mostró mayor probabilidad de detectar los estadios III-IV de TNM  $p=0.018$ .

Resulta evidente, la gran cantidad de estudios que han abordado la mutación BRAF en el PTC tiroideo, asociándosele con factores ambientales o ingesta de yodo. La prevalencia de la mutación varía entre un 27 y un 90% en la literatura, dependiendo del método utilizado para la secuenciación, siendo el Sanger el menos sensible,

influenciado por el método de extracción del ADN. Para algunos como Kim <sup>(106)</sup> la pirosecuenciación es más exacta en los tejidos en fresco que en los incluidos en parafina.

Resulta interesante la detección de la BRAF en microcarcinomas <sup>(107)</sup>, que comparativamente se puede extender esta situación a los PTC en modelos de ratón transgénico. Así estos animales con la mutación BRAF en las células tiroideas, desarrollaron PTC similares a los humanos.<sup>(108)</sup> Esto demuestra que esta mutación representa un hallazgo muy precoz en tumorigénesis del PTC. Situaciones diversas se han descrito sobre esta implicación, algunos como Jovanovic <sup>(109)</sup> dudan que sea un mecanismo transformante inicial. Otros que encontraron tumores negativos para dicha mutación, si la hallaron, sin embargo, en metástasis ganglionares en el mismo paciente.<sup>(110;111)</sup> Todo ello demuestra un papel contradictorio para la mutación como origen del PTC.

Sin embargo, conviene entender el significado oncológico y terapéutico de la mutación BRAF. Para la evolución clonal, las mutaciones precoces tienden a producirse en muchas o en todas las clonas celulares, mientras los eventos más tardíos sólo ocurren en algunas<sup>(112)</sup>. Así, un 50% de alelos mutantes podría esperar encontrarse, si todas las células de un PTC llevaran un alelo mutado y otro nativo (wild-type). Así en tal sentido, Guerra demostró que en el PTC una parte de sus células llevaban la mutación y otras no<sup>(102)</sup>. Por otra parte Gandolfi <sup>(104)</sup> encontró un porcentaje medio del 27.4 % con un rango entre 7,5 a 49.8 %.

Para conocer mejor la relevancia biológica de la clonalidad de la mutación BRAF, muchos autores han estudiado la relación entre la frecuencia del alelo mutado y los parámetros clínico-patológicos. Así, de todos estos valores para Cheng<sup>(100)</sup>, los más significativos fueron la invasión extra tiroidea, lo que coincide con otros autores

mediante resultados por meta análisis. También se obtuvieron correlación respecto del tamaño tumoral<sup>(102)</sup>. Una explicación razonable para este fenómeno radicaría en que la mutación pueda proveer a las células tumorales una mayor capacidad para la supervivencia y el crecimiento en la progresión tumoral. Esta evidencia apunta más a que la mutación BRAF estaría más activa en los estadios finales del proceso en lugar de los iniciales, en contra de Xing.<sup>(113)</sup>

Los resultados teóricos estarían igualmente en el sentido de incremento de BRAF con respecto a la aparición de metástasis ganglionares, los datos son controvertidos en cuanto a su significación. Gandolfi<sup>(104)</sup>, encuentra que el porcentaje de alelo mutado fue menor en los ganglios metastáticos en comparación con el tumor primario. Es más significativo pensar que muchas metástasis ganglionares se asocian con mayor crecimiento tumoral, afectación de márgenes y extensión extra tiroidea.

Se ha descrito que la presencia de la mutación BRAF es un dato predictor independiente para la práctica de la disección ganglionar en el compartimento central<sup>(114)</sup>, estimándose que dicho estudio es muy parcial.

Parece lógico decir que una plétora de cambios genéticos y fenotípicos muy heterogéneos pueden llegar a producir una inestabilidad genética en el interior de un cáncer, así muchas mutaciones espontáneas pueden ser en una futura evolución neutrales o deletéreas y que pocas pueden llegar a ser dominantes, tal vez por una situación de restricción espacial.

Para Cheng<sup>(115)</sup>, sus hallazgos tienen significado biológico importante porque comenta que la mutación BRAF no tiene que ser un prerrequisito inicial para la génesis tumoral de los PTC, pero puede que su alteración secundaria signifique o provea a la célula de una ventaja de cara a su supervivencia. Así, el hecho de que la frecuencia de la mutación se asocie con la invasión extra tiroidea hace poco probable que la expansión

provenga de una mutación neutral siempre en la deriva genética. Para dicho autor, sus resultados aparentemente sugieren que la determinación cuantitativa de la frecuencia de la mutación no provee una información adicional sobre el significado clínico de la mutación BRAF, significando que una leve mutación negativa en las células tumorales puede obstaculizar la eficacia de una terapia dirigida a la mutación BRAF. De hecho para tumores RAS/RAF nativos, los inhibidores de las RAF Kinasa, podrían activar paradójicamente la vía MAPK de una forma RAS dependiente, mejorando el crecimiento tumoral en modelo de trasplante tumoral.

Por último, muchos autores insisten en que eliminar la contaminación de células neoplásicas en los tumores es muy complicado, como por ejemplo las células del propio estroma, endotelios o las células inflamatorias, significándose que la frecuencia de alelo mutante seleccionada siempre sería menor que en las células capturadas por láser <sup>(116)</sup>.

## **PLANTEAMIENTO, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

## **PLANTEAMIENTO, HIPOTESIS Y OBJETIVOS**

Dado que en el PTC la mutación BRAF está estrechamente asociada con la extensión extra tiroidea, invasión ganglionar linfática cervical, estadio tumoral avanzado, recurrencia e incluso mortalidad y que se han identificado muchas alteraciones moleculares promovidas o asociadas a la mutación BRAF, tales como sobreexpresión de genes promotores, supresión de genes supresores y anulación de genes relacionados con la yodación tiroidea que dificultan la adecuada captación del mismo, dificultando la terapia posterior con yodo radioactivo, nos proponemos con el presente trabajo, estudiar la mutación BRAF en patología quirúrgica tiroidea con la finalidad de que su estudio y valoración pueda ser útil con alto valor predictivo en el posterior seguimiento del PTC y en un futuro uso de la misma en las PAAF tiroideas. Todo ello puede aportar más exactitud en el manejo y estadiaje de los citados tumores, sobre todo, a la hora de la toma de decisiones preoperatorias y posteriormente con el tratamiento con yodo radioactivo, evitando así las posibles recidivas.

Por todo lo expuesto, la mutación BRAF puede ser un factor pronóstico importante en el manejo de los pacientes con PTC. Esto se refleja en su valor predictivo respecto de la agresividad tumoral, recurrencia y mortalidad. Existen criterios moleculares documentados que sustentan la importancia de la mutación BRAF en la tumorigénesis del PTC y en su valor pronóstico, así como, en la sobreexpresión de proteínas promotoras, genes supresores tumorales y genes relacionados con la captación del yodo.

El valor pronóstico de la mutación BRAF, puede tener mucha utilidad en diversas áreas de manejo de los PTC, como son la indicación quirúrgica más apropiada y el

tratamiento con yodo, sobre todo en los pacientes con bajo riesgo, así como, en su seguimiento más adecuado.

La posibilidad de usar la mutación BRAF como valor predictivo en la PAAF de Tiroides previa a la cirugía y en el posterior seguimiento, le convierten en una importante herramienta para la toma de decisiones. Aunque la eventualidad del uso de BRAF como indicación específica y estratégica para el manejo del PTC necesita aún ser definida, se espera que el uso pronóstico de este marcador molecular, pueda dar una nueva dimensión en el riesgo de recurrencia, teniendo un impacto importante en el manejo práctico de PTC.

Está ya suficientemente probado en la literatura que la mutación BRAF, además de los factores ya descritos, se asocia con unas características morfológicas determinadas. De tal modo es así, que se han hecho estudios que predicen dicha mutación en base a las mismas. Faltaría estudiar cual es la expresión de esos cambios morfológicos en los PTC cuando no existe la mutación.

Por último, con métodos de pirosecuenciación se ha establecido relación entre el porcentaje de la mutación BRAF y los factores pronósticos. Por todo lo cual, nos planteamos los siguientes objetivos, en la presente Tesis Doctoral.

## **OBJETIVOS DE LA TESIS DOCTORAL**

- 1) Determinar los valores y porcentajes de la mutación BRAF en el PTC.
- 2) Relacionar dichos valores con los factores pronósticos generales.
- 3) Valorar estadísticamente dichos factores.
- 4) Estudiar los cambios histopatológicos del PTC asociados a la mutación.
- 5) Valoración estadística de los mismos.
- 6) Comprobar la relación estadística entre dichos cambios y el porcentaje de la mutación.
- 7) Valorar las características morfológicas de los PTC no mutados y sus diferencias con los positivos.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

***-M.S.Martínez Martín-***

## **MATERIAL Y METODOS**

Se han seleccionado un total de 60 casos de Carcinoma Papilar de Tiroides intervenidos quirúrgicamente en los últimos 10 años en el Complejo Hospitalario Insular Materno Infantil de Las Palmas, siguiendo un criterio aleatorio tendente a incluir la mayoría de tipos tumorales, casos con metástasis y recidivas, así como, atendiendo a formas especiales de PTC, como el Oculto o incidental y las formas Quísticas. Se valoraron las características clínicas de los mismos, atendiendo al tipo histológico, tamaño tumoral, extensión intra y extra tiroidea, metástasis ganglionares y a distancia y recidivas. Desde el punto de vista clínico, se valoraron la edad, sexo, patologías asociadas y antecedentes familiares.

Una vez evaluada la situación clínica de cada caso, fueron extraídos los bloques de parafina del Archivo Hospitalario, se hicieron controles de H/E, para confirmación del diagnóstico.

Posteriormente, de cada caso seleccionado, se realizaron tres cortes de 10u c/u en portas habituales y tras su desparafinado, se llevaron a suero fisiológico. A continuación se marcaron los portas y por microdissección se separaron los tumores del resto del tejido y se llevaron posteriormente a TENS, para la extracción del DNA tumoral.

Después de la extracción del DNA según procedimiento habitual, se amplificó el gen BRAF por PCR mediante primers y sondas adecuadas, cuantificando y evaluando en gel de agarosa. El producto de amplificación, con los controles correspondientes, fue sometido a secuenciación mediante sistema de Pirosecuenciación para detectar la mutación 600E.

Por último, seleccionados los casos que presentaron la mutación, se valoró su relación con los factores previamente descritos, como son: tipo tumoral, TNM y

recidiva tumoral. Todos los datos se evaluaron y se determinaron con el consiguiente estudio estadístico. La finalidad última es valorar si la mutación BRAF tiene trascendencia en los diferentes parámetros ya considerados

### **3.1 ESTUDIO GENETICO.**

Muestras: Para el análisis genético, se usaron muestras de tejido procedente de la tiroidectomía incluido en parafina. Se realizaron 8 cortes de 10µm de la zona más representativa del diagnóstico

Extracción de ADN:

La extracción del ácido desoxirribonucleico (ADN) se llevó a cabo desde disección en portas no silanizados del tejido previamente cortado y seleccionando las zonas más representativas tumorales. Los cortes de los tejidos se introdujeron en estufa a 58° durante 1 hora, se desparafinaron con xylol y se hidrataron mediante alcoholes decrecientes (Et-OH 100° durante cinco minutos, Et-OH 96° durante cinco minutos- Et-OH 70° durante cinco minutos, terminando en un baño de agua destilada durante cinco minutos más).

Después se delimitó la zona tumoral en microscopio y se marcó con rotulador permanente. Con una punta desechable y estéril se raspó la zona tumoral seleccionada previamente en el microscopio y se recogió, poniéndola en un Eppendorf de 1,5 ml con de TEENS.

Para purificar el ADN, se añadió al Eppendorf con el tejido re suspendido en 400ul de TEENS, 40ul de proteinasa K (10mg/ml). Se incubó a 56° en estufa y en movimiento hasta la mañana siguiente. Se dispuso en Eppendorf a 90° en termo bloque durante 1 hora para inactivar la proteinasa K. Después se sometió a centrifugación durante cinco

minutos a máximas r.p.m. Tras este paso, se añadió 400ul de phenol-cloroformo-isoamílico y se agitó vigorosamente durante 15 minutos. Se centrifugó a máximas r.p.m. durante 15 minutos. Se decantó la fase superior en un Eppendorf nuevo, teniendo cuidado de no absorber la interfase. Se añadió 40ul de Ac NA 3M y también se añadió 1200ul de Et OH 100°. Se mezcló suavemente y se mantuvo a -20° durante 1 hora.

La muestra se volvió a centrifugar a máximas r.p.m. durante 15 minutos. Se decantó el sobrenadante y se añadió 500ul de Et OH 70°. Después se centrifugó a máximas rpm. durante 5 minutos. Se decantó el sobrenadante y se secó el pelet a 30° hasta la evaporación del Et-OH. Por último se re suspendió el pelet en 50ul de TE (ajustando el volumen al tamaño del pelet).

Amplificación por PCR del gen BRAF: para cada amplificación por PCR, se usó aproximadamente 20ng de ADN celular total. La PCR se realizó usando los *primers* específicos para el *BRAF*:

BRAF Forward primer F2: TGATTTTGGTCTAGCTACA

BRAF Reverse primer RBIO: TCCAGACAACTGTTCAAAGTAT

El protocolo de amplificación para el gen BRAF fue el siguiente:

Reactivos para 1muestra:

- 6,5 µl de H<sub>2</sub>O.
- 12,5 µl de Hot Start Green Master Mix ( Promega, Ref: M5122 )
- 0,5 µl a 12,5µM Primer Forward: TGATTTTGGTCTAGCTACA
- 0,5 µl a 12,5µM Primer Reverse: TCCAGACAACTGTTCAAAGTAT
- 10 – 20 ng de ADN en 5µl

Volumen final: 25µl

Comprobación de la amplificación Mediante electroforesis en gel de agarosa al 2,5%.

Añadiendo en el gel un marcador de peso molecular (Bench Top PCR Markers,

Promega, Ref: G7531)

Termociclador Bio Rad. Programa BRAF.

El programa de amplificación fue el siguiente:

95° - 2 minutos – X1 Ciclo

94° - 20 segundos – X40 CICLOS

55° - 20 segundos – X40 CICLOS

72° - 20 segundos – X40 CICLOS

4° - 30 minutos

Usando el termociclador de Bio- Rad, modelo: MY CYCLER™ THERMAL CYCLER.

Secuencia del producto amplificado: Pyrosecuenciación BRAF

Binding:

1. Reactivos para una muestra:

38µl Binding Bfr

2µl Streptavidin – Agarose

2. Vf: 40µl
3. Alicuotar los 40µl en tubos de 0,2 ml con tapa.
4. Añadir 30µl de H<sub>2</sub>O ( el volumen es ajustable en función del pPCR )
5. Añadir 10µl del pPCR

6. Colocar los tubos bien cerrados en el agitador, 1400rpm durante 5 minutos.
7. Preparar la estación del pirosecuenciador:

Llenar las cubetas con los reactivos correspondientes: H<sub>2</sub>O, EtOH 70°, Denaturing Buffer y Washing buffer. (Llenar hasta la marca indicada).

Preparar la placa de secuenciación:

Reactivos por muestra:

25µl Annealing Buffer

0,75µPrimers de secuenciación BRafPys TGATTTTGGTCTAGCTACA

Dispensar 25µl en el pocillo correspondiente de la placa de pirosecuenciación.

Manifold

Colocar el peine de vacío en la cubeta de H<sub>2</sub>O.

Aspirar con el peine de vacío el contenido de los tubos que contienen:

(BindingBfr, Streptavidin – Agarose y pPCR).

Pasar el peine por las soluciones:

EtOH 70° durante 5 segundos.

Denaturing Buffer durante 5 segundos.

Wasing Buffer durante 10 segundos.

Colocar el peine vertical para que el líquido sea aspirado

Colocar el peine sobre la placa de pirosecuenciación. Mantenerlo durante 10 segundos moviéndolo suavemente.

Tapar la placa de pirosecuenciación y colocarla en el termo bloque a 80° durante 2 minutos (No excederse de los dos minutos)

Tras dos minutos, retirar la placa de pirosecuenciación del termo bloque y dejar enfriar a temperatura ambiente al menos 10 minutos.

Encender el pirosecuenciador.

Abrir el programa PyroMark Q 24 en el ordenador.

New Run (signo Play en verde o File – New Run).

Instrument Method: PyroMark Method 003.

Arrastrar hasta Assay la prueba BrafV600K que está en su carpeta correspondiente.

(No confundir con otras opciones)

Nombrar los pocillos de acuerdo con el orden que se ha seguido al aspirar las muestras.

Save as en un Pendrive.

Cargar el cartucho del pirosecuenciador con:

100µl de Enzime.

100µl de cada sustrato A, C, T, G.

Las cantidades exactas de cada reactivo pueden consultarse en el ordenador. Para ello, una vez preparada la plantilla de la placa, hay que hacer click en Tools – Pre Run Information. Se abrirá una nueva ventana con los datos.

Colocar el Pendrive en el pirosecuenciador

Seleccionar Run y elegir el archivo que se acaba de crear.

Confirmar la prueba. Empezará automáticamente. Al principio comprueba la presión, la temperatura, la oscuridad.... Cuando las barras de estos parámetros aparezcan en verde, comenzará a dispensar los reactivos.

Cuando la prueba haya finalizado, extraer el Pendrive y apagar el pirosecuenciador.

Abrir PyroMark Q 24 en el ordenador, Open File, seleccionar el archivo con el que se está trabajando.

Seleccionar los pocillos con las muestras, hacer click en Analyzeselected Wells.

Recuperar los reactivos del cartucho del pirosecuenciador.

Lavar bien y comprobar que los dispensadores no están obstruidos.

### **3.2 DISEÑO ESTADÍSTICO.**

Estudio observacional prospectivo en el que se incluyeron 60 pacientes con PTC, se seleccionaron de manera aleatoria entre los tratados quirúrgicamente en los diez últimos años en nuestro hospital, desde el año 2004 hasta 2014, y se estudió la evolución de los pacientes hasta el año 2014 en el que se planteó el estudio. Los pacientes fueron clasificados según el porcentaje de mutación BRAF fuese superior al 10% (positivo) o menor del 10% (negativo).

Análisis de datos. En cada uno de los dos grupos de la clasificación considerada (porcentaje de mutación BRAF superior o no al 10%), la edad se resumió en mediana y rango intercuartílico (IQR) y los factores binarios, en frecuencias y porcentajes. Las medianas se compararon con el test de Kruskal-Wallis y los porcentajes, según procediera, con el test de la  $\chi^2$  o el test de Fisher. En orden a identificar los factores binarios asociados con la mutación BRAF superior al 10% se realizó un análisis

logístico multivariante. Todas las variables que mostraron asociación con la mutación BRAF fueron introducidas en el análisis. Se realizó una selección de variables mediante el método del mejor subconjunto de variables utilizando el algoritmo de enumeración completa (Morgan y Tatar, 1972) y el criterio de información bayesiano (BIC). El modelo se resumió en p-valores y odd-ratios, las cuales se estimaron mediante intervalos de confianza al 95%. Se analizó también la distribución del porcentaje de mutación BRAF en escala numérica según la presencia o no de cada uno de los factores considerados. En cada uno de los grupos de presencia/ausencia de cada factor, el porcentaje de mutación BRAF se resumió en medianas y rangos intercuartílicos y las distribuciones se compararon mediante el test de Wilcoxon para datos independientes (ver tabla 3 y figuras 1a y 1b). Un contraste de hipótesis se consideró significativo cuando el correspondiente p-valor fue inferior a .0.5. Los datos se analizaron con el paquete R, versión 3.1.0 (R Development Core Team, 2014).

## **RESULTADOS**

***-M.S. Martínez Martín-***

## RESULTADOS

Expondremos nuestros resultados en la presente tesis doctoral siguiendo el orden establecido por la presentación evolutiva de los casos y que se recogen en la tabla estadística general de resultados. En primer lugar y en cada caso se expone un breve historial clínico seguido del diagnóstico histológico, las particularidades principales y la evolución clínica.

- DATOS CLÍNICOS
- CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS DE CADA CASO
- SECUENCIACIÓN (representación gráfica del porcentaje de mutación BRAF)
- COMENTARIOS

**CASO Nº: 1 Nº DE BIOPSIA: 06 B 1777 NHC: 360238 F/N: 17/02/1933**

**F/I: 10/03/2006**

**EDAD: 73 años SEXO: Mujer ANTECEDENTES PERSONALES: Sin interés.**

**TIPO HISTOLÓGICO: Carcinoma papilar variante folicular con transformación en carcinoma poco diferenciado.**

**TAMAÑO TUMORAL: 5'3 x 5'3 cm.**

**EXTENSIÓN: Afecta a márgenes quirúrgicos, con infiltración vascular.**

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA: Metástasis ganglionares y pulmonares en 2012.**

**RECIDIVAS: Estabilidad de las lesiones desde 2012.**

**TNM: pT4, pN1b, pM1. ESTADIO: IVC**

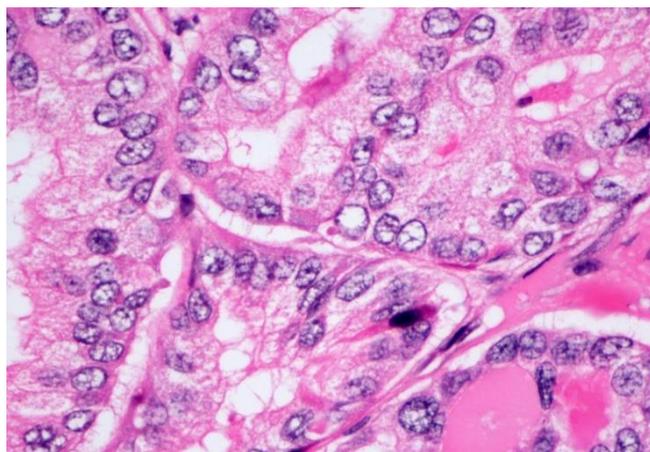


Figura 1.1 Carcinoma papilar, zona de variante folicular.

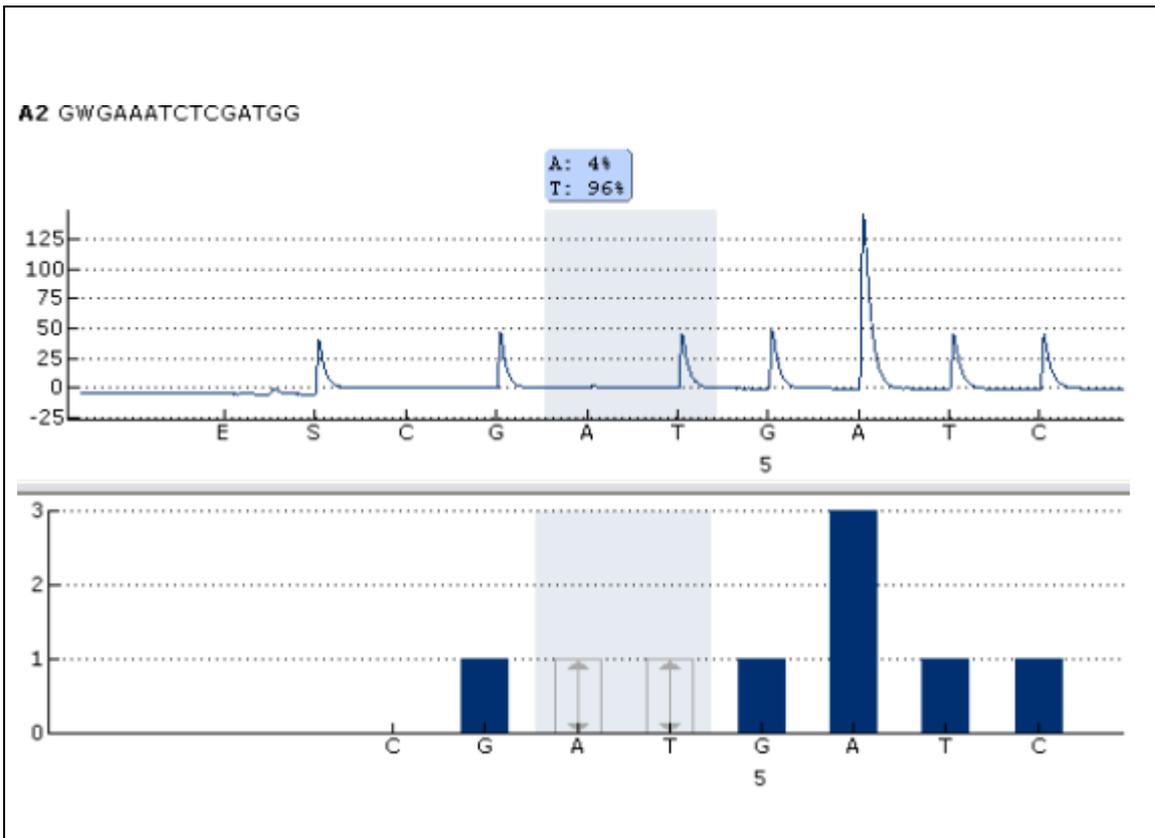


Fig. 1.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 4%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar variante folicular con cambios desdiferenciados. La mutación es de (4%) se obtuvo de la zona diferenciada. Es una paciente de 73 años y el tumor mostró, núcleos atípicos, infiltración, ocupación de bordes quirúrgicos, metástasis ganglionares y a distancia con recidiva tumoral. El tamaño es importante con una medida mayor de 5cm, siendo un estadio IVC.

**CASO Nº: 2 Nº DE BIOPSIA: 05 B 14612 NHC: 132293 F/N: 10/10/1948**

**F/I: 27/12/2005 EDAD: 65 años SEXO: Mujer**

**ANTECEDENTES PERSONALES:** Carcinoma de laringe intervenido.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar clásico con transformación esclerosante.

**TAMAÑO TUMORAL:** 2'5 x 2 x2 cm.

**EXTENSIÓN:** Infiltra la cápsula, invasión vascular y dos implantes en LTD.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** Metástasis ganglionares.

**RECIDIVAS:** No, en 2011 última revisión normal (paciente de Fuerteventura).

**TNM:** pT2, pN1a, pM0. **ESTADIO:** III

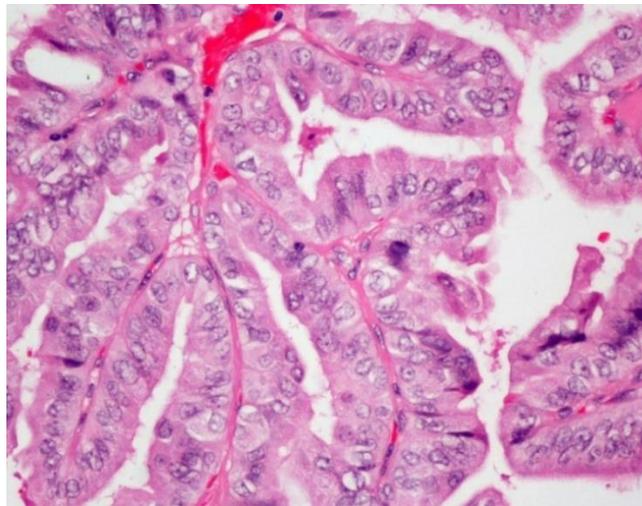


Fig. 2.1. Carcinoma papilar, zona quística.

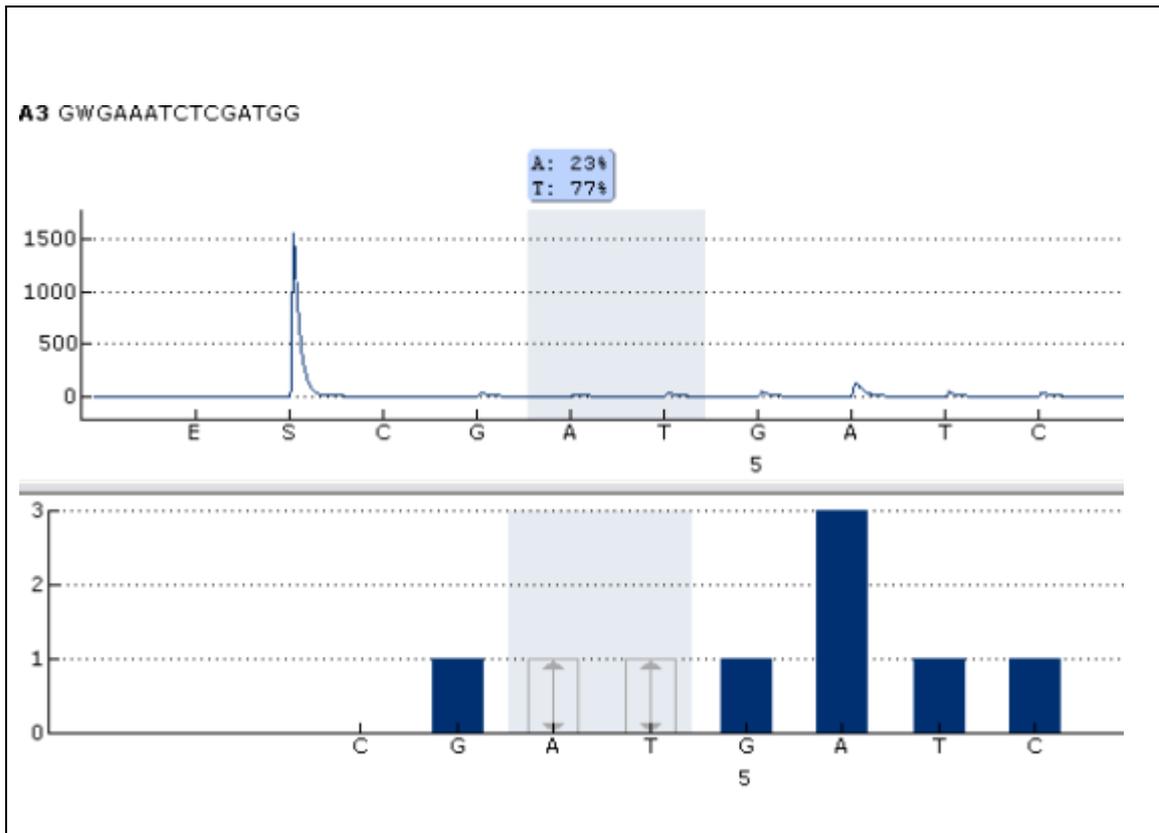


Fig. 2.2 Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 23%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar clásico con tendencia a célula alta y patrón encapsulado, aparece mutado en un (23%) y llama la atención sus rasgos de agresividad consistentes en la presencia de esclerosis, atipia nuclear y pink atipia, infiltración de límites y de bordes quirúrgicos con metástasis a distancia, siendo su estadio de III.

**CASO Nº: 3 Nº DE BIOPSIA: 06 B 7574 NHC: 365782 F/N: 25/08/1947 F/I:**

29/06/2006

**EDAD:** 66 años **SEXO:** Mujer **ANTECEDENTES PERSONALES:** Alergia a Nolotil, sin otros antecedentes. **TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar variante células altas.

**TAMAÑO TUMORAL:** 4 x 2'5 cm en lóbulo tiroideo izquierdo.

**EXTENSIÓN:** Infiltra y rompe la cápsula tiroidea. **METÁSTASIS GANGLIONARES/A**

**DISTANCIA:** En el otro lóbulo (derecho) y cuatro metástasis en ganglios ipsilaterales.

**RECIDIVAS:** Metástasis ganglionares en 2009 (tres metástasis ganglionares en cadena yugular derecha anterior y 7 metástasis ganglionares en compartimento central en abril, dos metástasis más en linfadenectomía derecha y dos más en izquierda en noviembre).

2013: recidiva en otra adenopatía. **TNM:** pT2, pN1b, pM0. **ESTADIO:** IVA

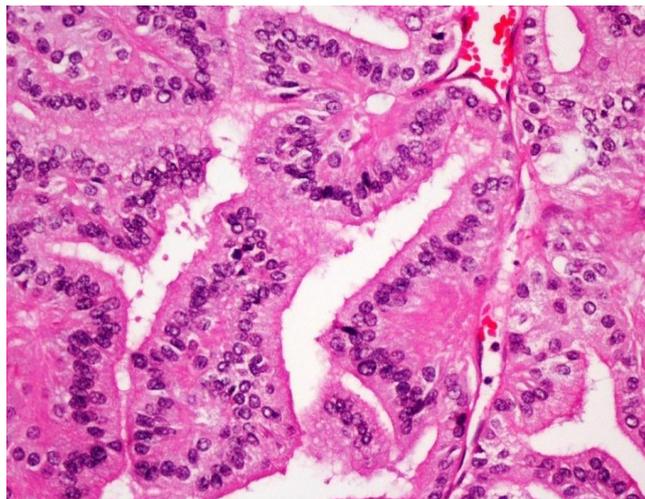


Fig. 3.1 Carcinoma papilar de células altas.

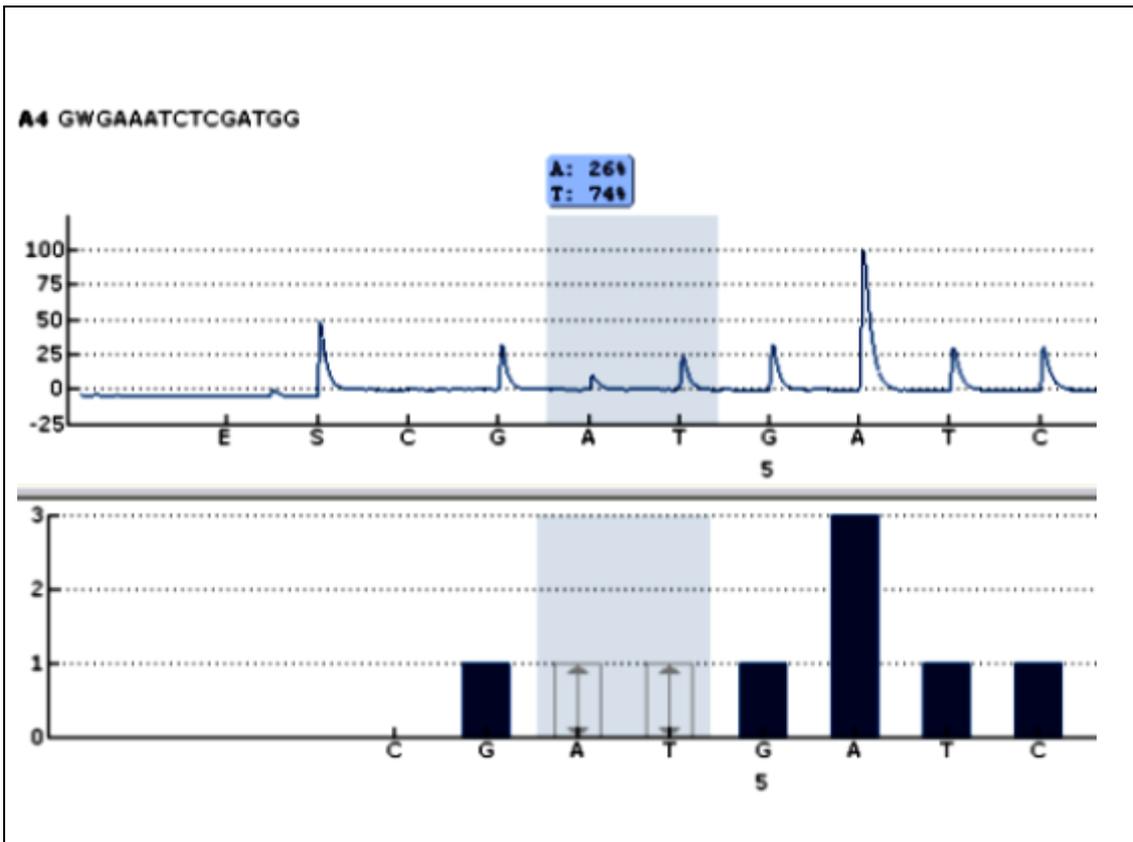


Fig. 3.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 26%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar de células altas con tendencia a columnar de gran tamaño (4cm), se encuentra encapsulado. Está mutado en un (26%) y presenta rasgos de agresividad consistentes en: esclerosis, núcleos atípicos, pink atipia e infiltración de los límites del tumor y bordes quirúrgicos. Su estadio es IVA.

**CASO Nº: 4 Nº DE BIOPSIA: 12 B 16046 NHC: 3182081 F/N: 27/01/1965 F/I:**  
13/12/2012

**EDAD: 48 SEXO: Mujer ANTECEDENTES PERSONALES:** Desnutrición calórico-proteica. Nefrectomía izquierda por tumor ureteral. LNH en la infancia tratado con quimio y radioterapia. Cardiopatía congénita sometida a cirugía de recambio valvular con prótesis biológica en 27/05/2011. Asma bronquial. DMNID. Esplenectomía. Pólipos nasales de tipo alérgico. Bocio multinodular.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar clásico con zonas de células altas y oxifílico.

**TAMAÑO TUMORAL:** 1'5 x 1'5 cm.

**EXTENSIÓN:** Lobectomía izquierda con bordes libres quirúrgicos. Lobectomía derecha negativa operada en segundo tiempo (19/03/2013).

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No. **RECIDIVAS:** No.

**TNM:** pT1b, pN0, pM0. **ESTADIO:** I

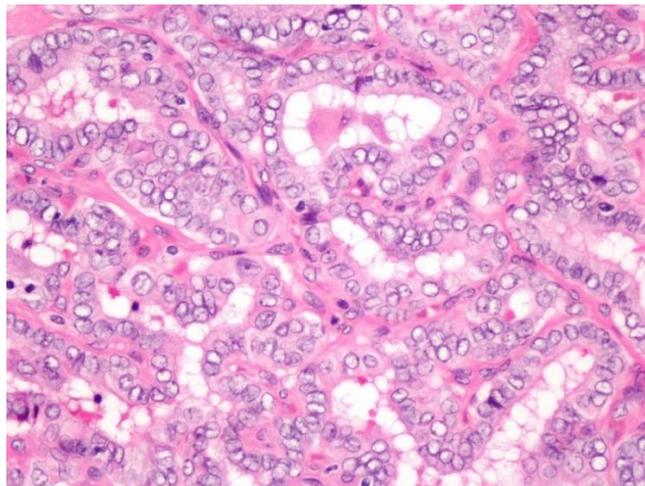


Fig. 4.1. Carcinoma papilar clásico.

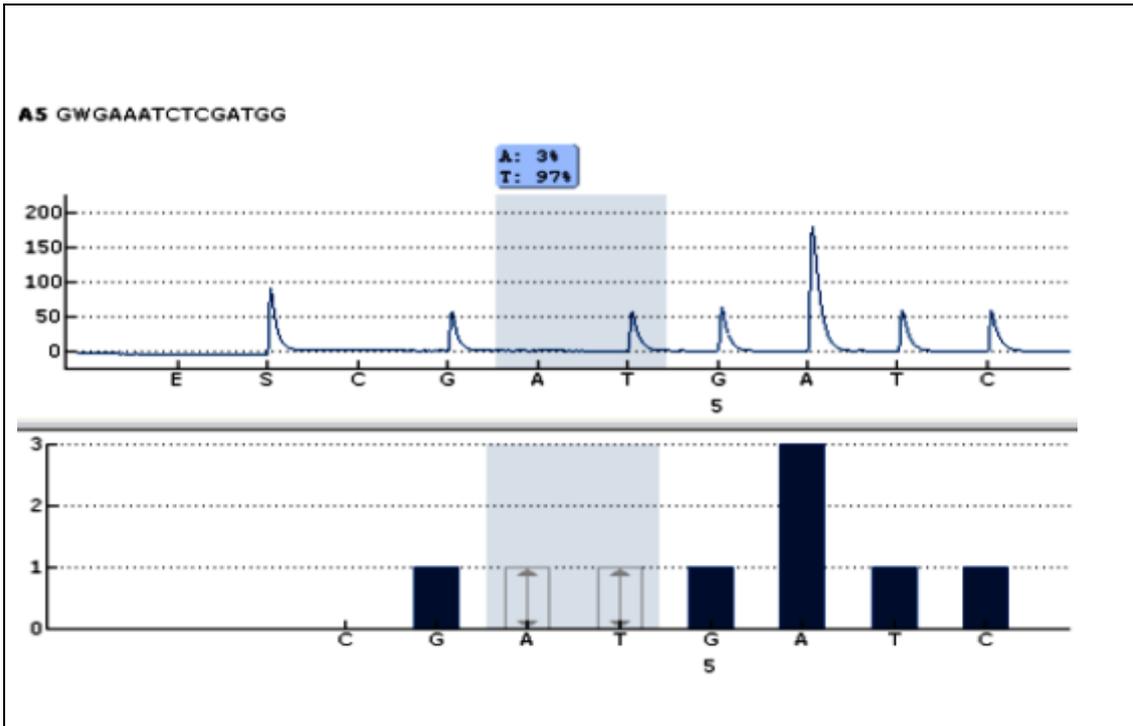


Fig. 4.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 3%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar clásico, con cierta tendencia a célula alta y eosinofilia. No aparece mutado (3%), siendo poco agresivo, pequeño tamaño (1,5 x1, 5 cm) y presenta encapsulación. Los núcleos son escasamente atípicos y muestra fibrosis.

**CASO Nº:** 5 **Nº DE BIOPSIA:** 12 B 2226 **NHC:** 190265 **F/N:** 25/04/1954

**F/I:** 06/03/2012 **EDAD:** 59 años **SEXO:** Mujer

**ANTECEDENTES PERSONALES:** Bocio multinodular. Adenoma paratiroideo superior derecho.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar clásico, encapsulado y quístico.

**TAMAÑO TUMORAL:** 1'2 x 1 x 0'9 cm.

**EXTENSIÓN:** Tiroidectomía total, nódulo.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No.

**RECIDIVAS:** No (2012). **TNM:** pT1b, pN0, pM0. **ESTADIO:** I

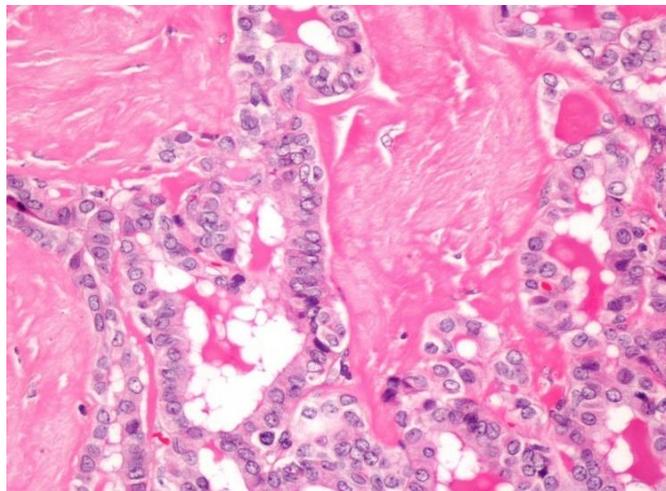


Fig. 5.1. Carcinoma papilar clásico.

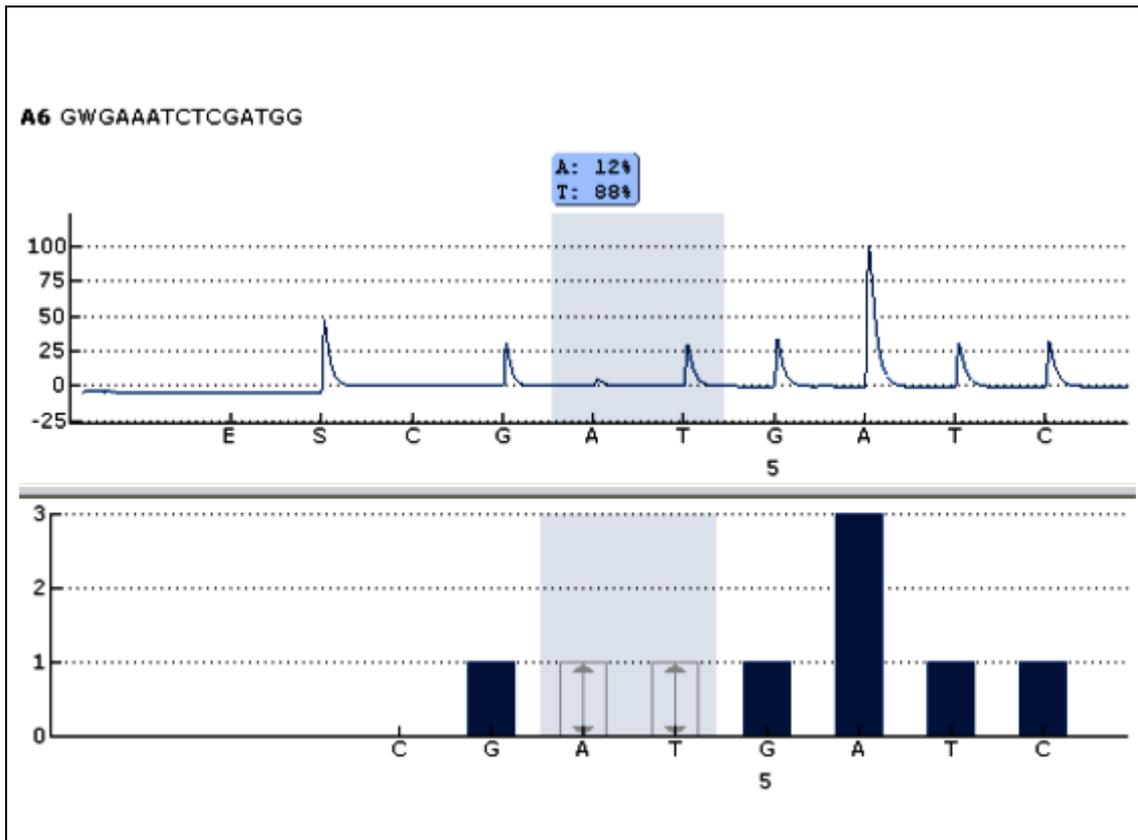


Fig. 5.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 12%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar clásico con áreas quísticas. Aparece mutado en un (12%) y está encapsulado y con disposición subcapsular glandular. Llama la atención la atipia nuclear y la ausencia de pink atipia, respeta los límites del tumor y los bordes quirúrgicos, siendo su estadio de I.

**CASO Nº: 6 Nº DE BIOPSIA: 07 B 14583 NHC: 254972 F/N: 03/04/1955**

**F/I: 19/12/2007 EDAD: 58 años SEXO: Mujer**

**ANTECEDENTES PERSONALES:** Bocio multinodular

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar clásico, quístico y encapsulado.

**TAMAÑO TUMORAL:** 2 x 1'5 cm.

**EXTENSIÓN:** Implante microscópico en LTD de 0'3 x 0'2 cm. Cápsula libre de infiltración tumoral.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No.

**RECIDIVAS:** 2013: no adenopatías laterales de aspecto patológico.

**TNM:** pT1b, pN0, pM0. **ESTADIO:** I

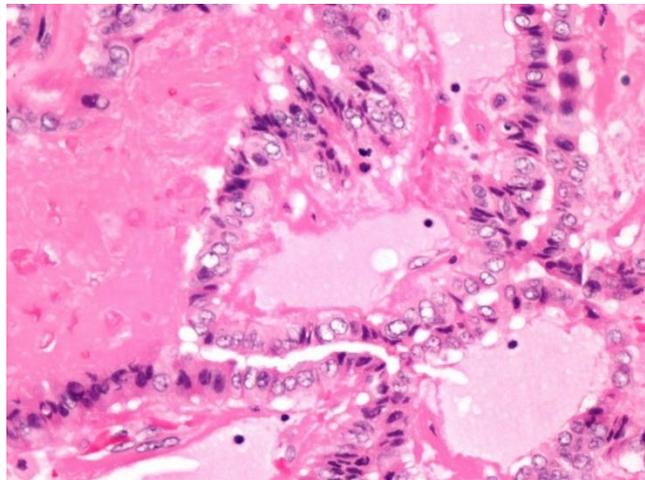


Fig. 6.1. Carcinoma papilar clásico - quístico.

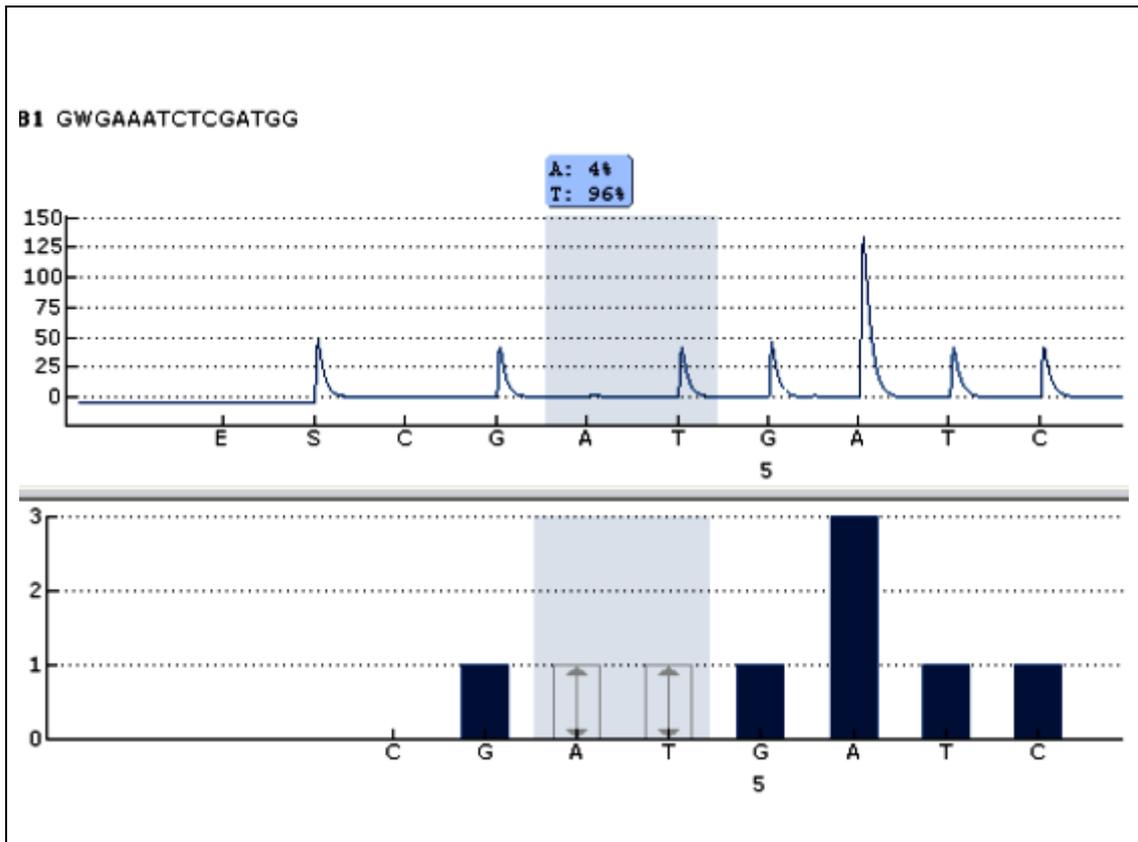


Fig. 6.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 4%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar clásico-quístico que no está mutado (4%), encapsulado, con núcleos atípicos, muestra fibrosis mientras que la esclerosis, la infiltración de bordes y límites del tumor está ausente. Su estadio es de I.

**CASO Nº: 7 Nº DE BIOPSIA: 09 B 8385 NHC: 472173 F/N: 13/08/1984**

**F/I: 10/07/2009 EDAD: 29 años SEXO: Mujer**

**ANTECEDENTES PERSONALES: Bocio multinodular.**

**TIPO HISTOLÓGICO: Carcinoma papilar clásico.**

**TAMAÑO TUMORAL: 1'6 x 1 cm.**

**EXTENSIÓN: Infiltra cápsula ganglionar y borde quirúrgico de resección.**

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA: Ganglionar.**

**RECIDIVAS: No hasta 2010, paciente de Fuerteventura.**

**TNM: pT1b, pN1, pM0. ESTADIO: I**

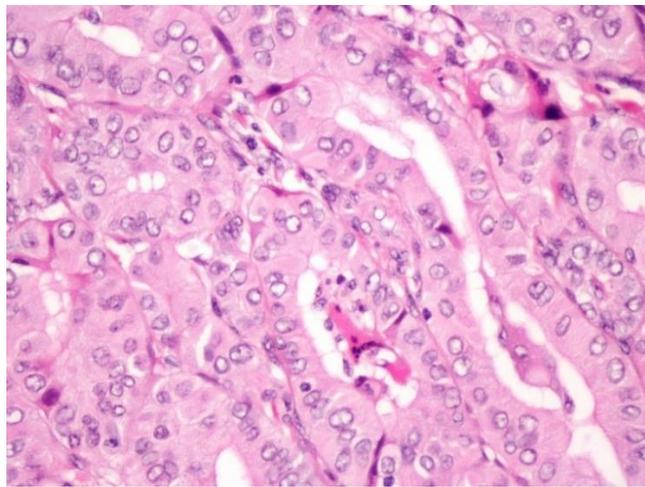


Fig. 7.1. Carcinoma papilar clásico, cambios nucleares nítidos.

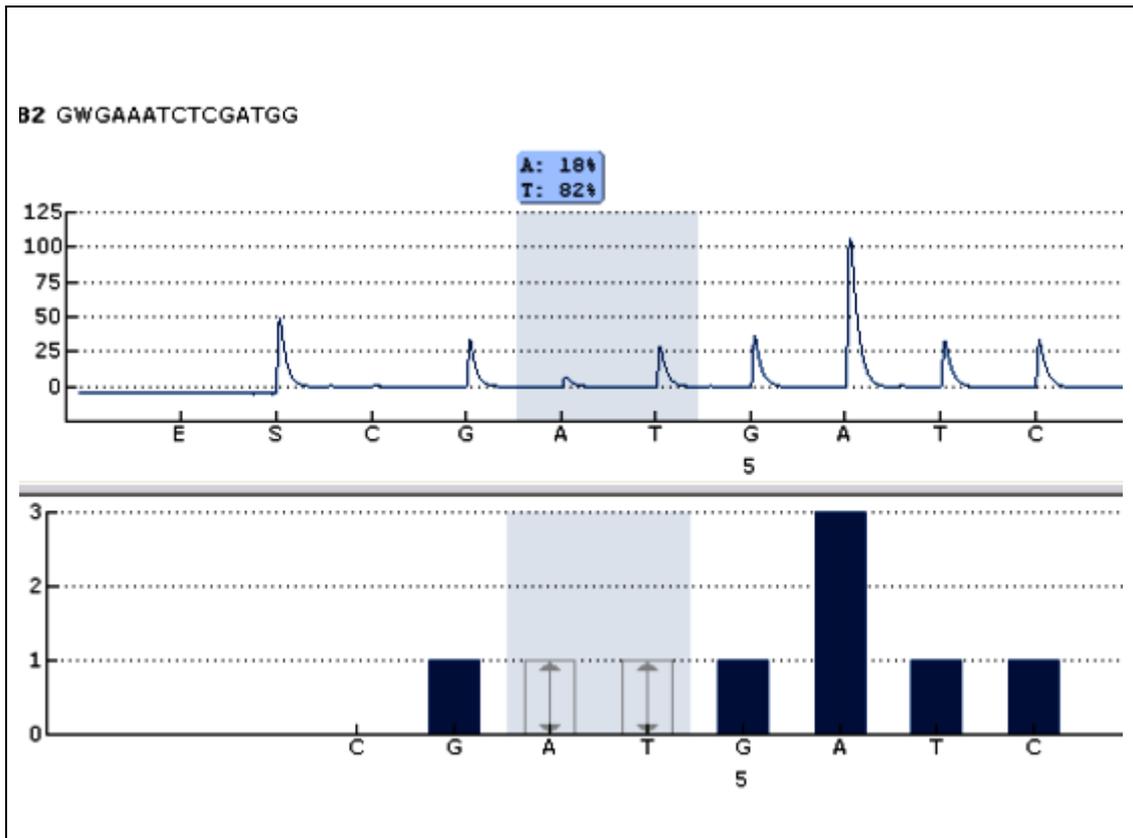


Fig. 7.2 Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 18%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar clásico con tendencia a célula alta y marcada esclerosis, aparece mutado (18%) y muestra signos agresivos consistentes en esclerosis, núcleos atípicos, pink atipia e infiltración de límites y bordes quirúrgicos del tumor, con disposición subcapsular. Su estadio es I.

**CASO Nº: 8 Nº DE BIOPSIA: 10 B 11564 NHC: 505657 F/N: 16/05/1966**

**F/I: 16/09/2010 EDAD: 47 años SEXO: Mujer**

**ANTECEDENTES PERSONALES:** Nódulos quísticos mamarios. Amigdalitis de repetición. **TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar marcadamente invasivo.

**TAMAÑO TUMORAL:** 5 x 2x 1cm, multinodular.

**EXTENSIÓN:** Infiltrante, tiroidectomía total con vaciamiento cervical.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** Ganglionares (positivos en los dos lados, seis en derecho y cinco en izquierdo), metástasis pulmonares.

**RECIDIVAS:** Enfermedad estable según criterios RECIST, en 2013, Tratado con sorafenib (inhibidor de tirosina quinasa). **TNM:** pT4, pN1b, M1. **ESTADIO:** II (menor de 45 años)

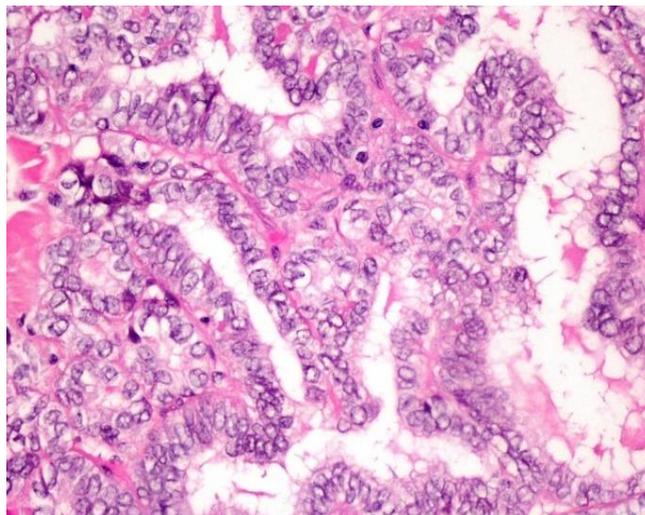


Fig. 8.1. PTC con rasgos atípicos y marcados cambios nucleares.

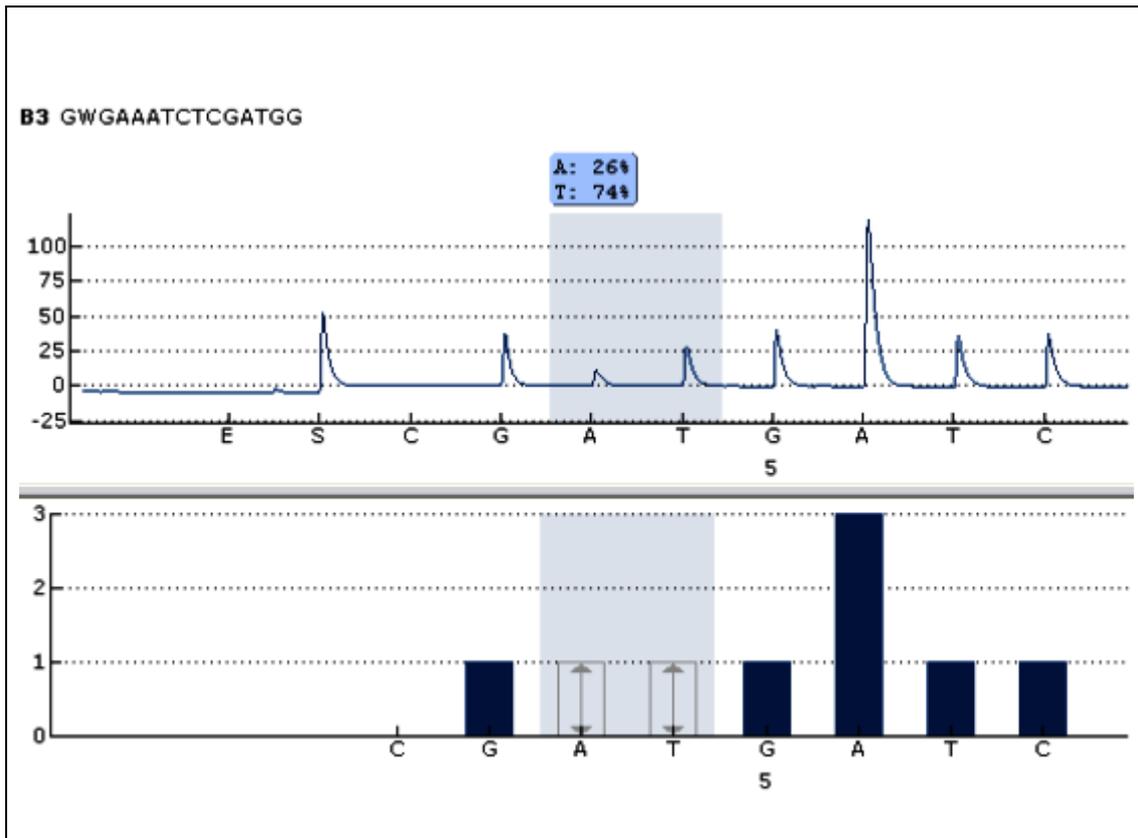


Fig. 8.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 26%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar clásico de gran tamaño (5cm) con predominio folicular y está mutado en un (26%). Siendo rasgos de agresividad la esclerosis, la atipia nuclear con pink atipia y la infiltración de los límites del tumor, infiltración de la capsula y partes blandas. Presenta ganglios positivos y metástasis a distancia ganglionares y pulmonares, siendo su estadio II.

**CASO Nº:** 9 **Nº DE BIOPSIA:** 13 B 5232 **NHC:** 427024 **F/N:** 19/11/1978

**F/I:** 09/05/2013 **EDAD:** 35 años **SEXO:** Varón

**ANTECEDENTES PERSONALES:** LNH B de célula grande, mediastínico tratado.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar clásico y quístico.

**TAMAÑO TUMORAL:** Más de 5 cm, en múltiples nódulos.

**EXTENSIÓN:** Afecta cápsula tiroidea, los dos lóbulos y bordes quirúrgicos afectos.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** Metástasis en cinco ganglios del vaciamiento derecho y seis ganglios positivos del izquierdo.

**RECIDIVAS:** No, hasta junio de 2013. **TNM:** pT4a, pN1b, pM0.

**ESTADIO:** I (menor de 45 años)

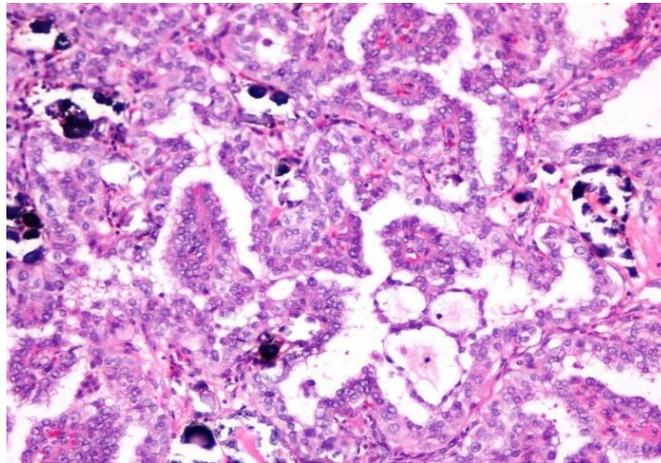


Fig. 9.1. CPT con abundantes cuerpos de psammoma.

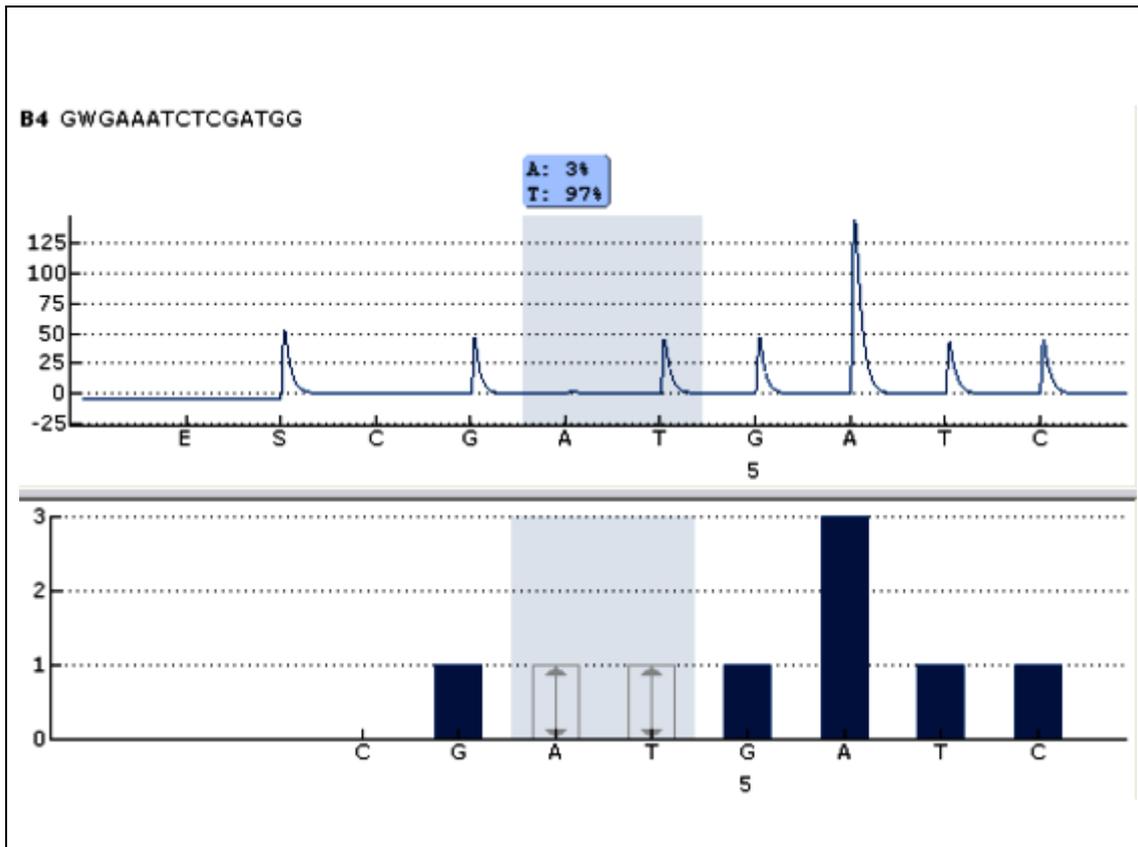


Fig. 9.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 3%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar variante clásico y quístico, de gran tamaño más de (5cm) y multicéntrico, con infiltración de los límites del tumor, de bordes quirúrgicos, presentando metástasis regionales y a distancia. Muestra esclerosi y fibrosis así como abundante cuerpos de psammoma. No mutado. Su estadio es I.

**CASO Nº:** 10 **Nº DE BIOPSIA:** 08 B 8026 **NHC:** 3181116 **F/N:** 11/07/1968

**F/I:** 17/07/2008 **EDAD:** 45 años **SEXO:** Mujer **ANTECEDENTES PERSONALES:**

HTA

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar de tiroides variante oncocítica tipo células de Hürtle con tiroiditis de Hashimoto asociada tipo "Warthin-like".

**TAMAÑO TUMORAL:** 1'5 x 1 cm.

**EXTENSIÓN:** Contacta con el margen quirúrgico de resección.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No. **RECIDIVAS:** No.

**TNM:** pT1b, pN0, pM0. **ESTADIO:** I (menor de 45 años)

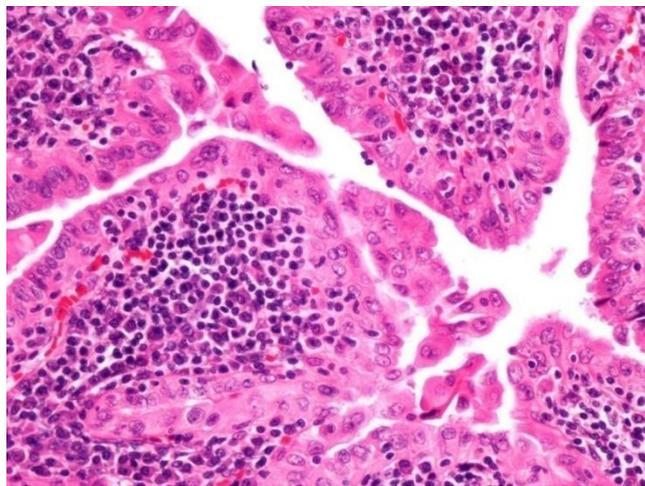


Fig. 10.1. Carcinoma papilar, oxifílico tipo Warthin-like.

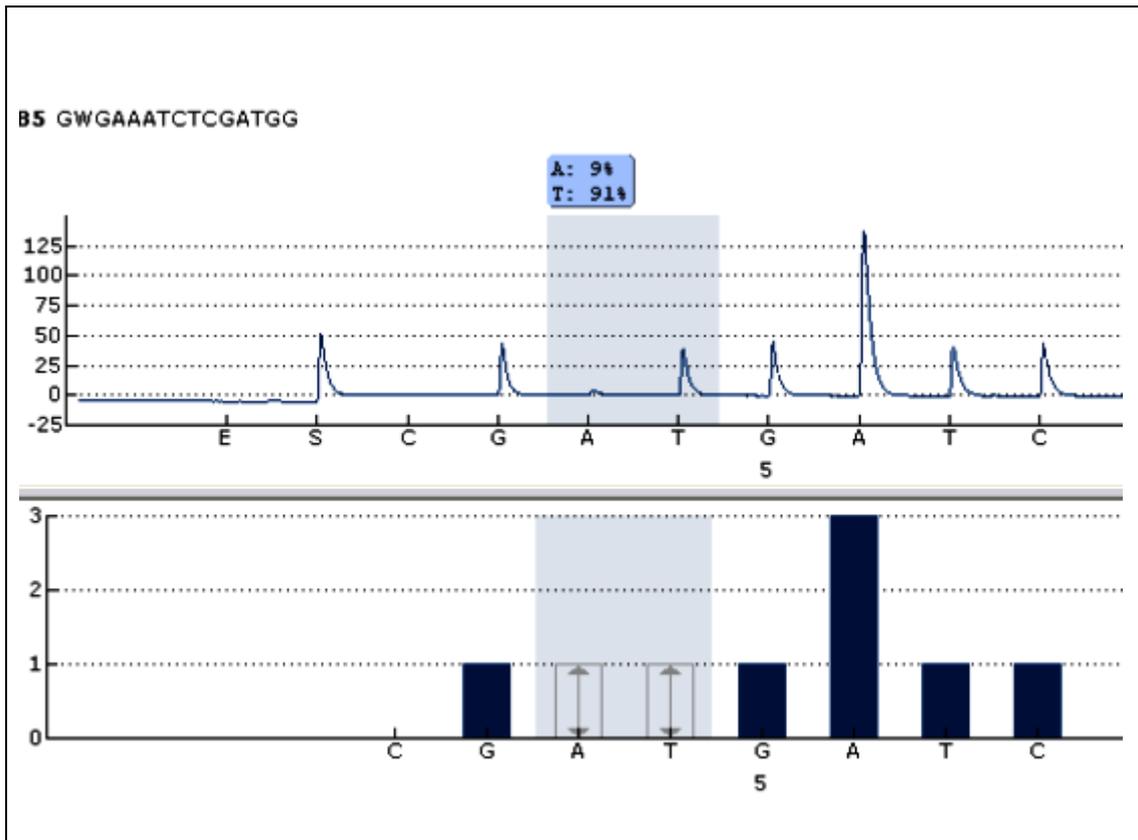


Fig. 10.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 9%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar oxifílico en una tiroiditis crónica linfocítica con infiltración linfocítica tumoral tipo Warthin-like, infiltra límites tumorales y bordes quirúrgicos. Su tamaño es pequeño (1,5 x 1 cm) y llama la atención cierta atipia citoplásmica con forma en raqueta con tendencia a pink atipia. Su estadio es I y no aparece mutado (9%).

**CASO Nº:** 11 **Nº DE BIOPSIA:** 06 B 10979 **NHC:** 160867 **F/N:** 27/08/1955

**F/I:** 02/10/2006 **EDAD:** 58 años **SEXO:** Varón.

**ANTECEDENTES PERSONALES:** Gonartrosis. HTA. Edema de Reinke.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar de tiroides. No encapsulado e infiltrante.

**TAMAÑO TUMORAL:** 2'5 x 2cm. **EXTENSIÓN:** Contacta e infiltra la cápsula glandular.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** Metástasis ganglionar linfáticas en tres adenopatías en istmo, seis yugulo-tínicas y siete yugulo-carotideas de trece.

**RECIDIVAS:** No, hasta 2012 sin alteraciones.

**TNM:** pT3, pN1b, pM0. **ESTADIO:** IVA

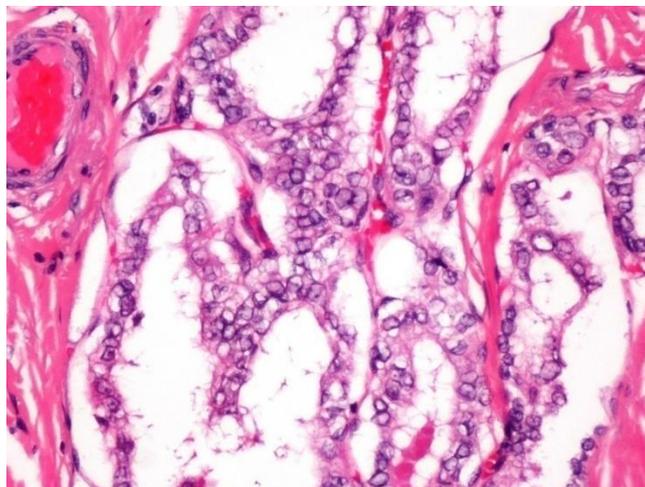


Fig. 11.1. Carcinoma papilar clásico.

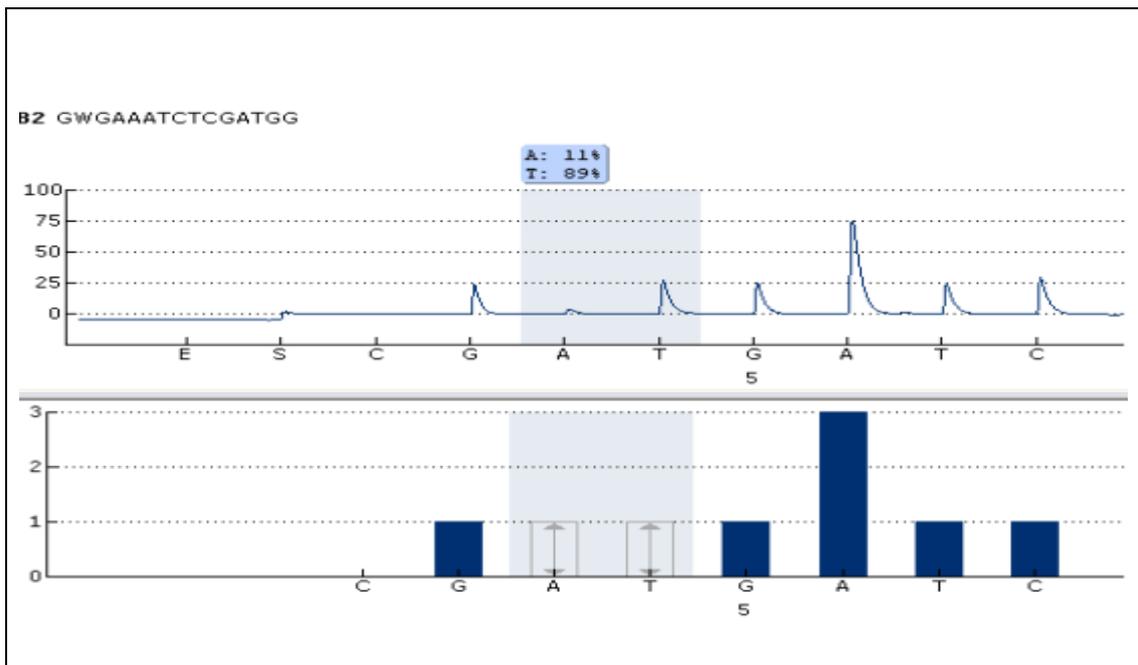


Fig. 11.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 11%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar clásico de pequeño tamaño (2,5 x 2cm) de disposición subcapsular. Infiltra límites tumorales y bordes quirúrgicos produciendo metástasis a distancia ganglionares. Se encuentra mutado en un (11%) y su estadio es IVA.

**CASO Nº:** 12 **Nº DE BIOPSIA:** 08 B 4337 **NHC:** 443414 **F/N:** 22/08/1955

**F/I:** 28/04/2008 **EDAD:** 58 años **SEXO:** Mujer

**ANTECEDENTES PERSONALES:** No antecedentes ni personales ni familiares de carcinoma.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar variante folicular.

**TAMAÑO TUMORAL:** 1 x 1 x 0'6 cm en lóbulo tiroideo izquierdo.

**EXTENSIÓN:** Multicéntrico, varios implantes, con las que contacta e infiltra localmente tejidos blandos periféricos.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No. **RECIDIVAS:** No.

**TNM:** pT1a, pN0, pM0. **ESTADIO:** I

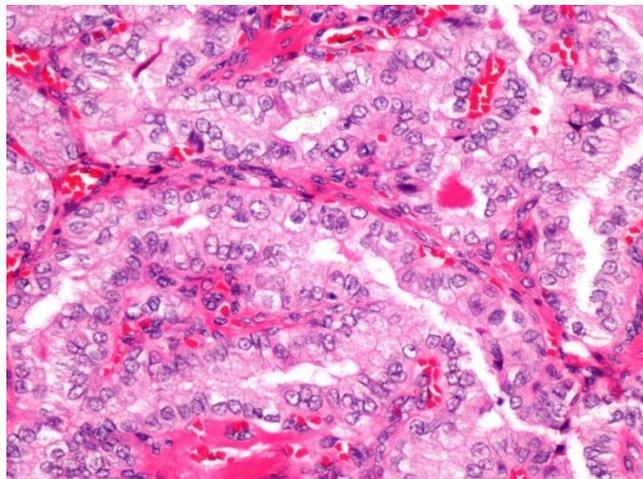


Fig. 12.1. Carcinoma papilar variante folicular.

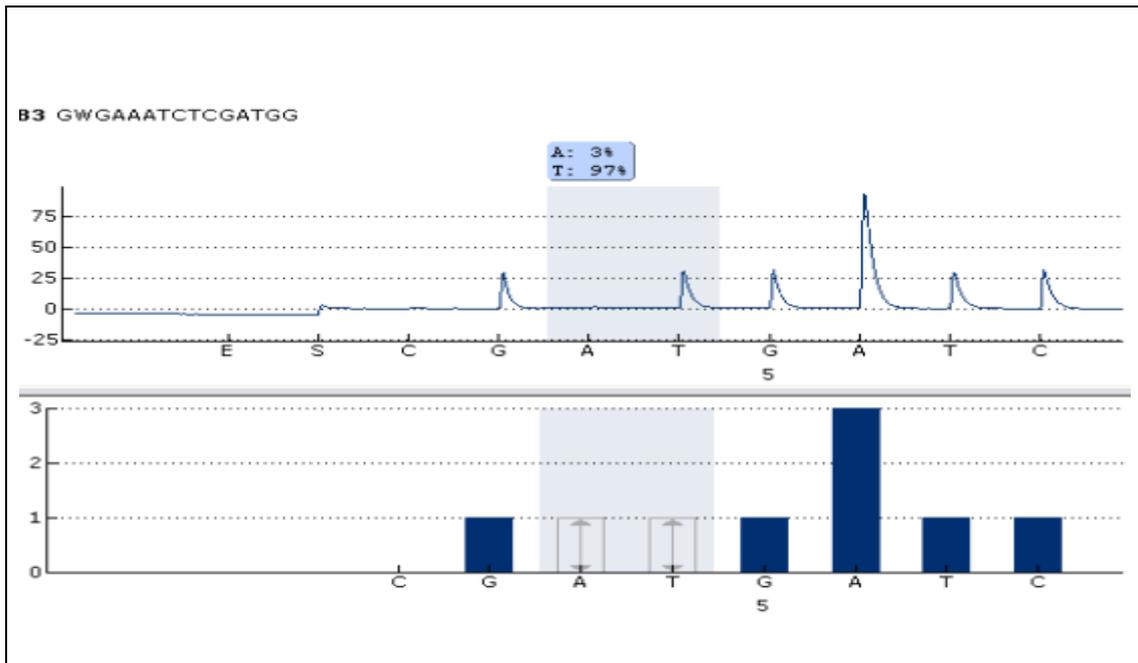


Fig. 12.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 3%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar variante folicular, tamaño mayor de 1 (1 x 1cm) y disposición subcapsular. Es infiltrante, los bordes quirúrgicos están afectados. Carece de metástasis ganglionares y a distancia. No aparece mutado (3%). Sin embargo presenta marcada multicentricidad. Su estadio es I.

**Nº CASO:** 13 **Nº DE BIOPSIA:** 08 B 12274 **NHC:** 212880 **F/N:** 19/07/1931

**F/I:** 28/10/2008 **EDAD:** 82 años **SEXO:** Mujer **ANTECEDENTES PERSONALES:**

Enfermedad de Bowen en brazo izquierdo, bocio de rápido crecimiento.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar de tiroides de células altas con desdiferenciación y áreas desmoplásicas. **TAMAÑO TUMORAL:** Más de 5 cm.

**EXTENSIÓN:** Infiltra parénquima muscular pretiroideo.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No consta

**RECIDIVAS:** éxitus el 25 de noviembre de 2008. **TNM:** pT4b, pN0, pM0.

**ESTADIO:** IVB – IVC

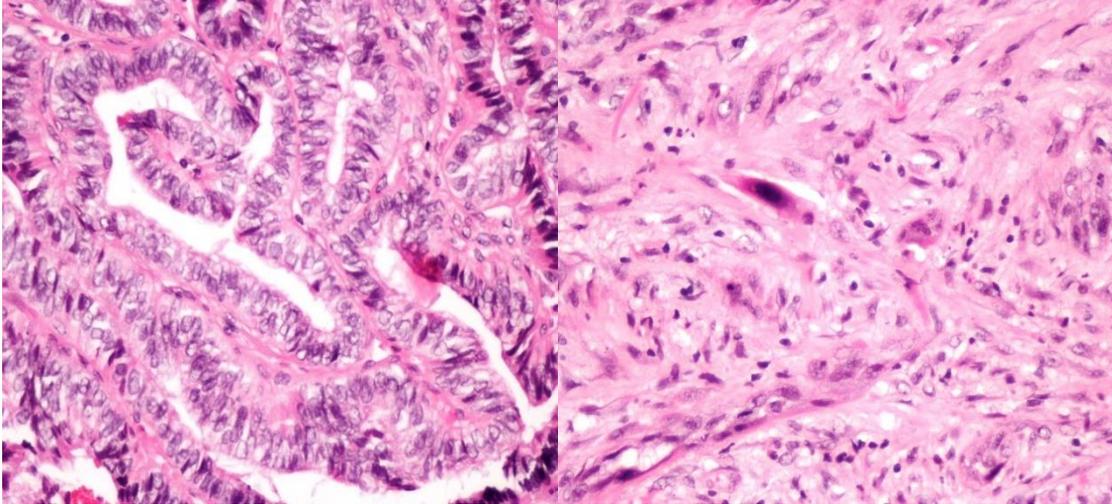


Fig. 13.1. Carcinoma papilar, células altas.

Fig. 13.2. Carcinoma papilar, zona desdiferenciada.

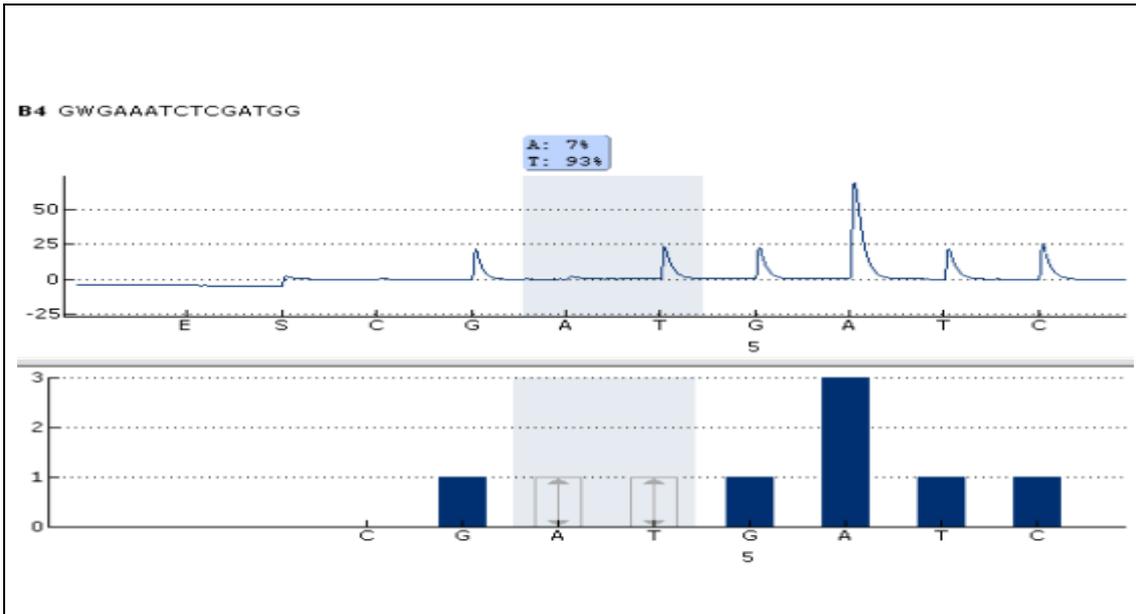


Fig. 13.3. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 7%).

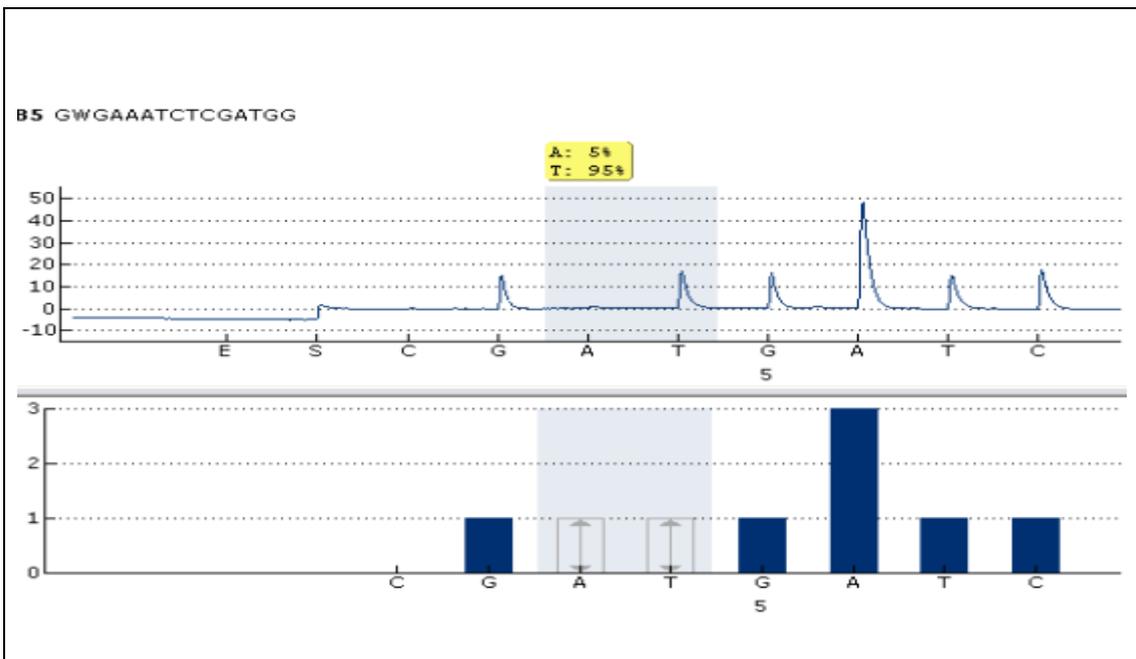


Fig. 13.4. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 5%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar de células altas con tendencia a columnares, con abundantes signos de agresividad, con esclerosis, núcleos atípicos, infiltración de los límites del tumor y bordes quirúrgicos y con pink atipia ( Fig 13.1). Su estadio es IVC. Presenta un cambio de desdiferenciación con transformación desmoplásica que alcanza el grado de carcinoma indiferenciado (Fig.13.2). A pesar de todo, tanto la forma diferenciada como la desdiferenciada no presentan mutación (7%) y (5%) respectivamente.

**Nº CASO:** 14 **Nº DE BIOPSIA:** 08 13085 **NHC:** 286982 **F/N:** 28/08/1971

**F/I:** 21/11/2008 **EDAD:** 42 años **SEXO:** Mujer

**ANTECEDENTES PERSONALES:** Apendicectomizada.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar de tiroides variante clásica y esclerosante.

**TAMAÑO TUMORAL:** 1'5 x 1'5 cm.

**EXTENSIÓN:** Cápsula tiroidea libre y bordes de resección libres.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No.

**RECIDIVAS:** No (hasta 2012). **TNM:** pT1b, pN0, pM0. **ESTADIO:** I

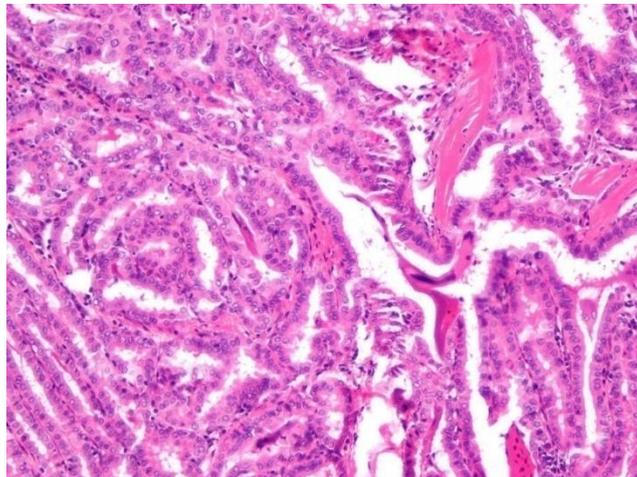


Fig. 14.1. Carcinoma papilar clásico con fibrosis.

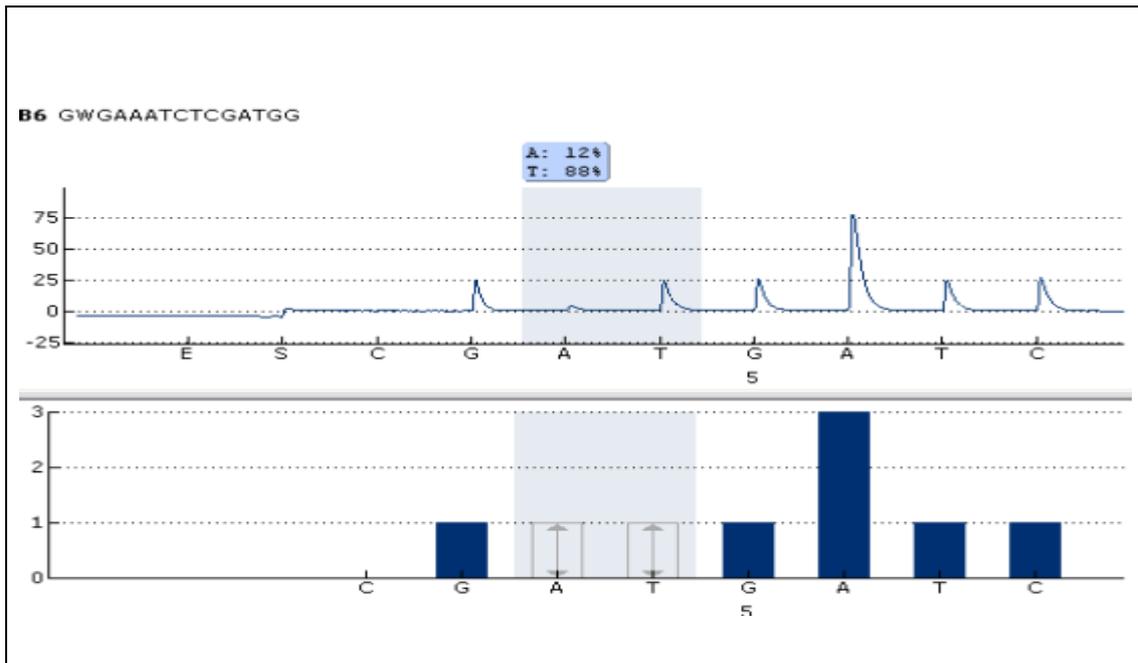


Fig. 14.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 12%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar clásico con fibrosis, núcleo atípico, moderada infiltración de límites, pink atipia leve, con un estadio I. Llama la atención el componente inflamatorio presente en las ares de infiltración próxima a la capsula glandular, por lo que se le considera subcapsular. Aparece mutado en un (12%).

**Nº CASO:** 15 **Nº DE BIOPSIA:** 09 B 12397 **NHC:** 3318765 **F/N:** 06/07/1977

**F/I:** 13/10/2009 **EDAD:** 36 **SEXO:** Mujer

**ANTECEDENTES PERSONALES:** Sin interés.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar variante folicular (18), adenoma folicular (16) con zonas atípicas (17)

**TAMAÑO TUMORAL:** Carcinoma de 1 x 1 cm y adenoma de 2'5 x 2 cm.

**EXTENSIÓN:** Encapsulado, dos nódulos en LTD y otro en istmo.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No **RECIDIVAS:** No (2010, paciente de Fuerteventura). **TNM:** pT1a, pN0, pM0. **ESTADIO:** I

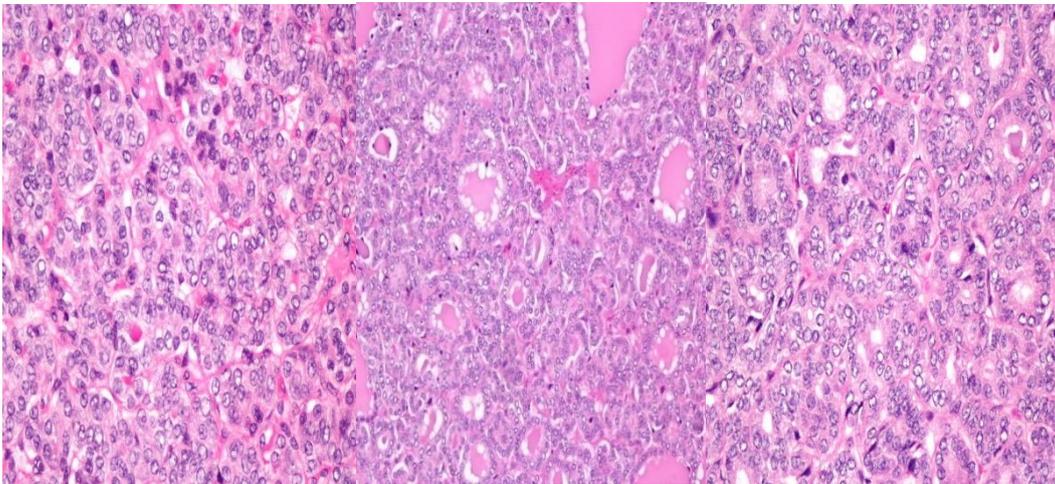


Fig. 15.1. Adenoma.

Fig. 15.2. Adenoma folicular.

Fig. 15.3. Carcinoma papilar.

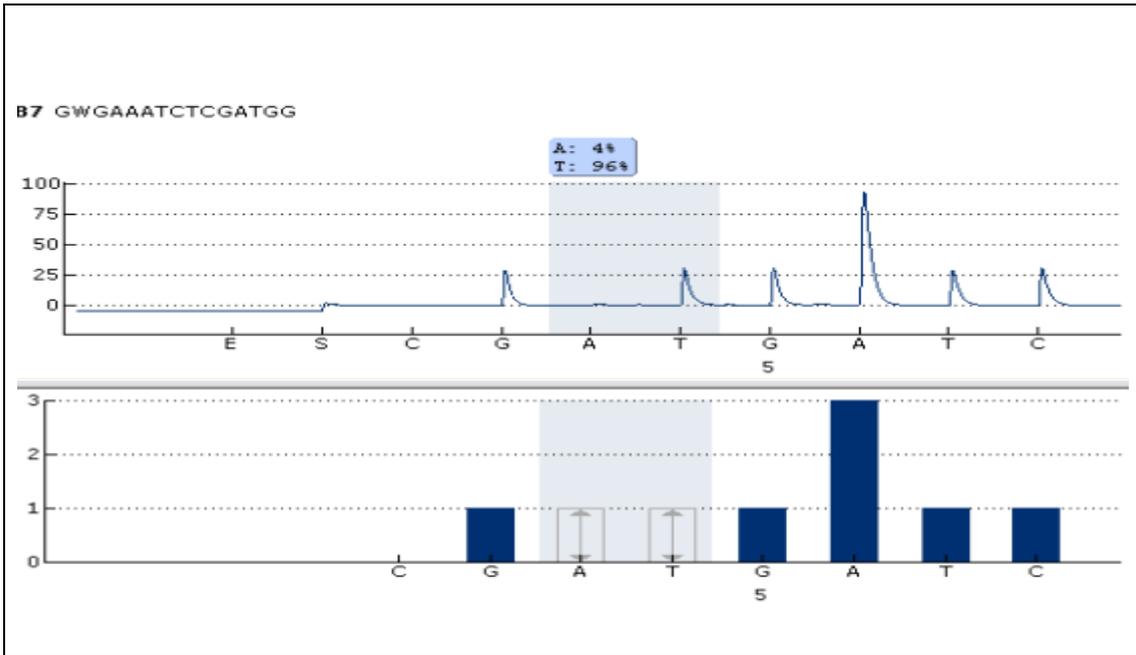


Fig. 15.4. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 4%).

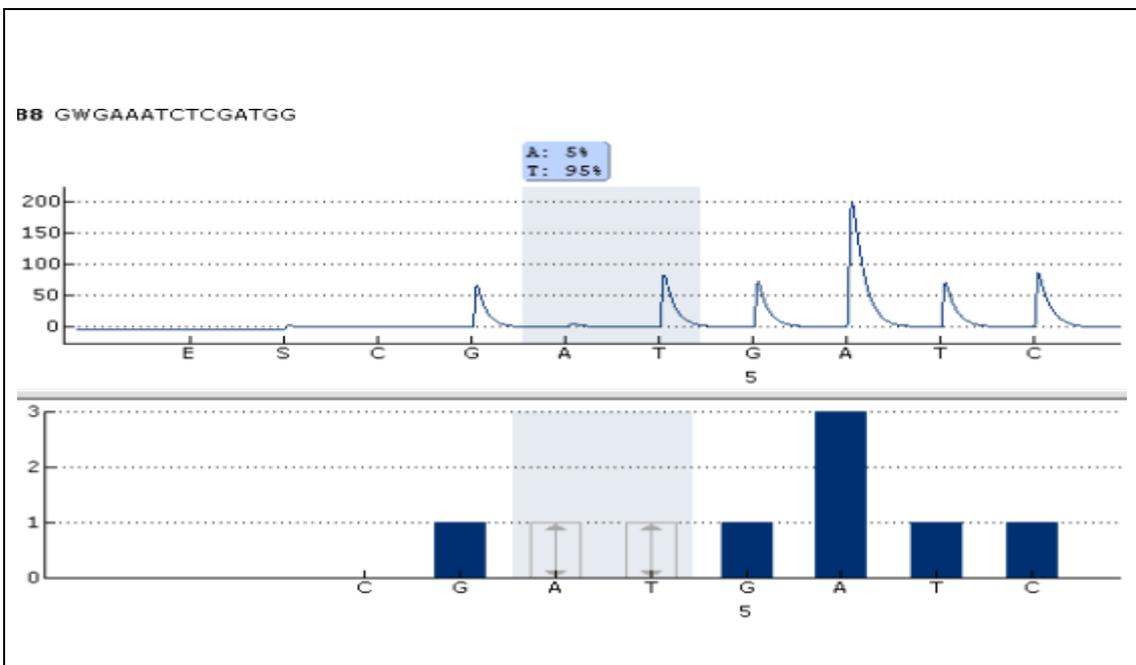


Fig. 15.5. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 5%).

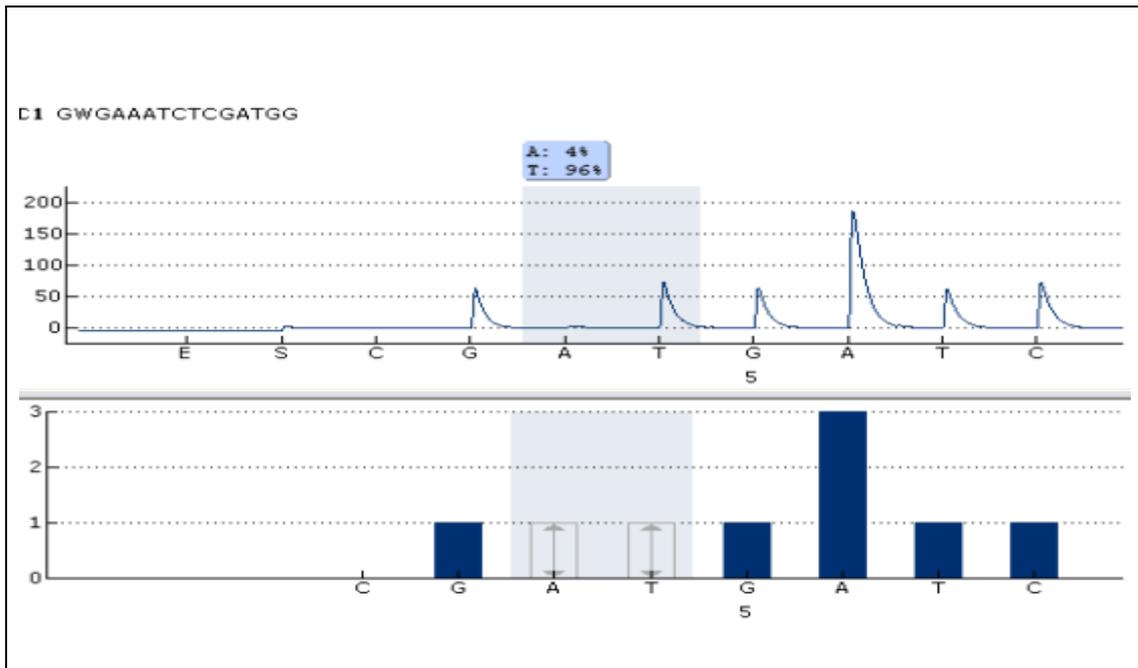


Fig. 15.6. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 4%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar variante folicular con núcleos atípicos, fibrosis sin evidencia de pink atipia. Aparece bien delimitado y encapsulado, estando ausente la mutación (4%) (Fig.15.3). El lóbulo contralateral y en el Istmo se detectan dos lesiones foliculares sin núcleos atípicos y bien delimitada la primera, compatible con un adenoma folicular, no estando mutado (Fig.15.1). La otra lesión, de mayor tamaño se corresponde con otro adenoma de similares características con áreas de núcleos claros y atípicos muy parecido al carcinoma descrito en primer lugar, que no aparece igualmente mutado (4%) (fig.15.2).

**CASO Nº:** 16 **Nº DE BIOPSIA:** 10 B 3017 **NHC:** 3355300 **F/N:** 16/11/1972

**F/I:** 26/03/2010 **EDAD:** 41 **SEXO:** Mujer **ANTECEDENTES PERSONALES:** Madre con hipotiroidismo primario. No hábitos tóxicos, ni otros de interés.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar variante folicular con zonas Warthin-like.

**TAMAÑO TUMORAL:** 2 x 2 cm.

**EXTENSIÓN:** Bordes quirúrgicos libres. Tiroidectomía izquierda en segundo tiempo, libre de neoplasia. **METÁSTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No

**RECIDIVAS:** No. **TNM:** pT1b, pN0, pM0. **ESTADIO:** I

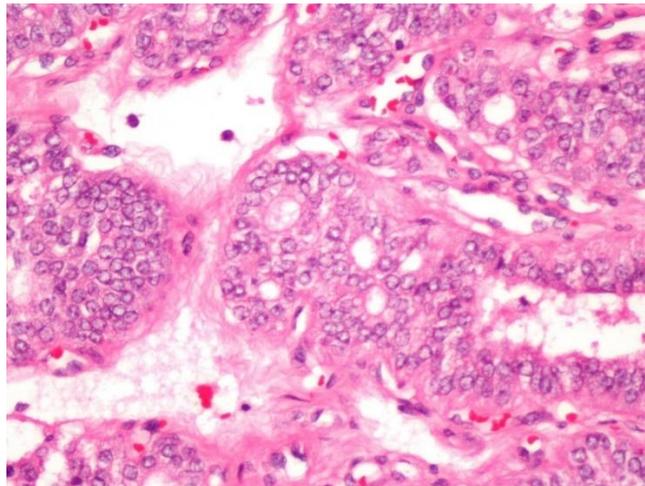


Fig. 16.1. Carcinoma papilar variante folicular.

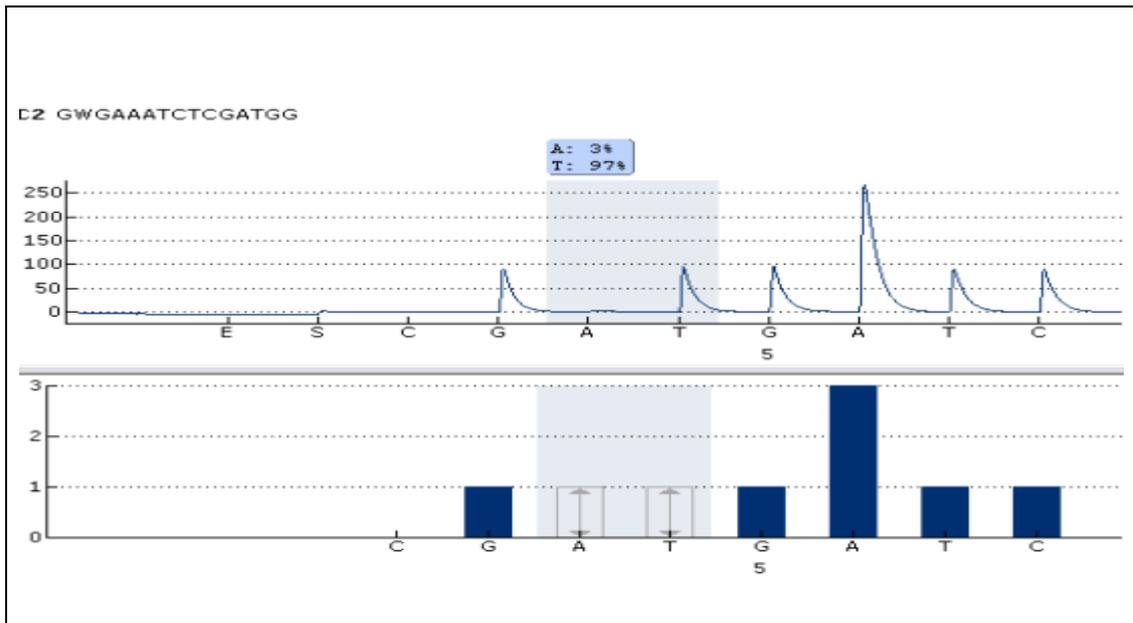


Fig. 16.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 3%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar variante folicular que muestra núcleos atípicos y pink atipia. Aparece bien delimitado y encapsulado siendo su tamaño de (2cm), sin cambios infiltrativos ni esclerosantes, muestra fibrosis (Fig.16.1). Su estadio es I. No se encuentra mutado (3%).

**CASO Nº:** 17 **Nº DE BIOPSIA:** 10 B 13491 **NHC:** 287793 **F/N:** 31/03/1944

**F/I:** 11/11/2010 **EDAD:** 69 años **SEXO:** Mujer

**ANTECEDENTES PERSONALES:** Carcinoma de mama derecha. Cataratas bilaterales. Quistes de ovario.

**TIPO HISTOLÓGICO:** 20. Carcinoma papilar clásico - microcarcinoma, encapsulado, con focos de calcificación. 21. Neoplasia folicular de células de Hürtle.

**TAMAÑO TUMORAL:** 0'8 x 0'8 cm. **EXTENSIÓN:** Encapsulado.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No.

**RECIDIVAS:** No (gammagrafía ósea negativa en 2.013) **TNM:** pT1a, pN0, pM0.

**ESTADIO:** I

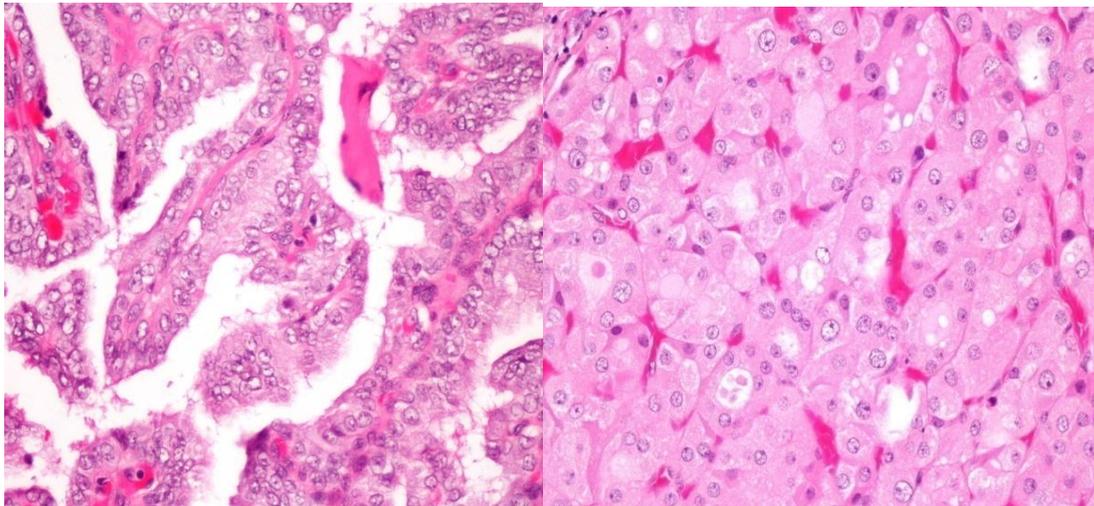


Fig. 17.1. Carcinoma papilar – microcarcinoma.

Fig. 17.2. Zona de carcinoma papilar oxifílico.

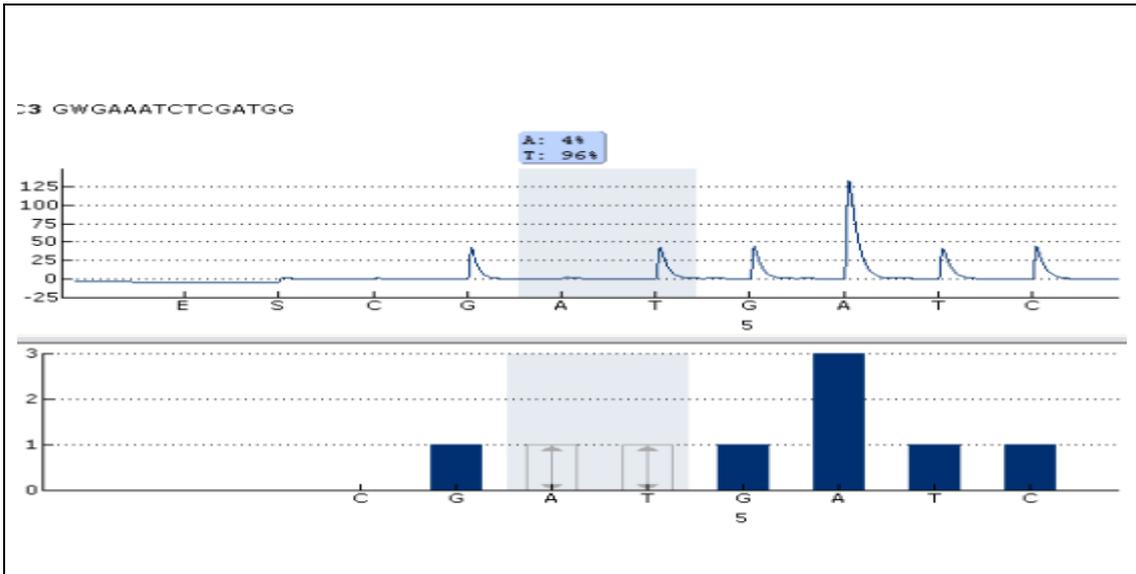


Fig. 17.3. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 4%).

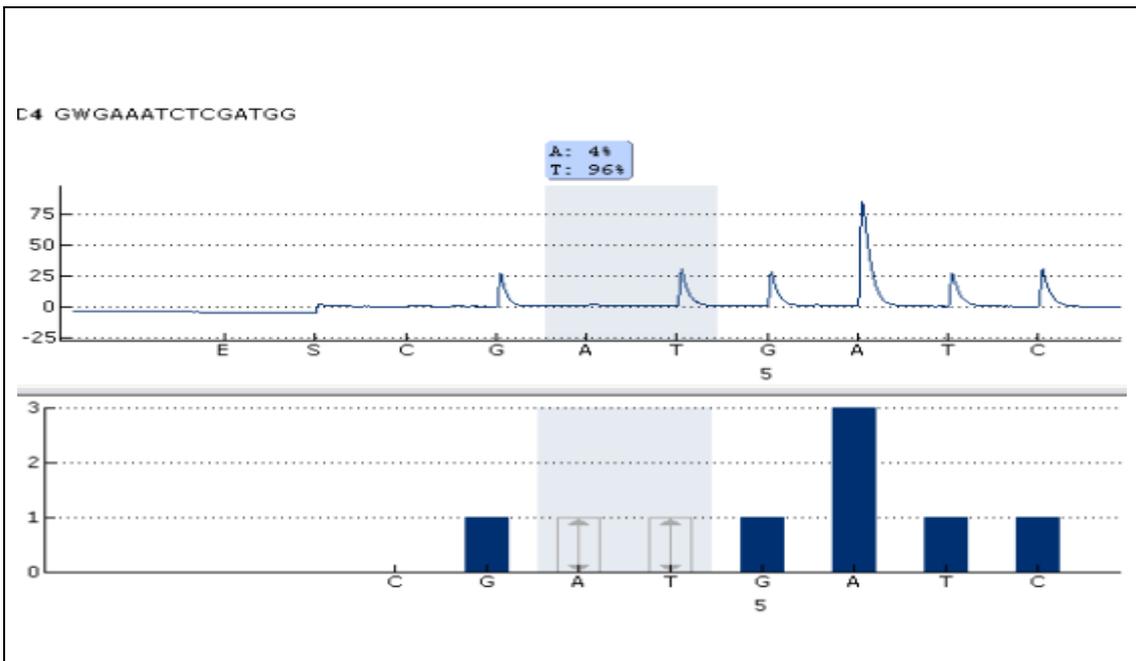


Fig. 17.4. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 4%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar de pequeño tamaño (0,8cm), incidental y subcapsular. Aparece encapsulado, los núcleos son atípicos con pink atipia y fibrosis no detectándose la esclerosis, siendo su estadio I (Fig. 17.1). El tumor no aparece mutado (4%). El tumor se acompaña en otro foco glandular de una neoplasia folicular de células de Hürthle, que no aparece mutado (4%) (Fig.17.2).

**CASO Nº:** 18 **Nº DE BIOPSIA:** 10 B 16448 **NHC:** 61794 **F/N:** 29/05/1970

**F/I:** 12/01/2011 **EDAD:** 43 **SEXO:** Mujer **ANTECEDENTES PERSONALES:**  
NMAC. Hipotiroidismo en tratamiento. Síndrome de Turner.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar clásico en LTD. Lobectomía izquierda:  
microimplante por carcinoma papilar variante folicular en zona intralobular izquierda.

**TAMAÑO TUMORAL:** 0'8 x 0'8 cm

**EXTENSIÓN:** Encapsulado e infiltrante, contacta con margen quirúrgico.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** Ganglio linfático (+) laterocervical  
izquierdo en 2013. **RECIDIVAS:** Ganglionar el 02/07/2013. Gammagrafía ósea  
negativa 2013. **TNM:** pT1a, pN1a, pM0. **ESTADIO:** I (menor de 45 años)

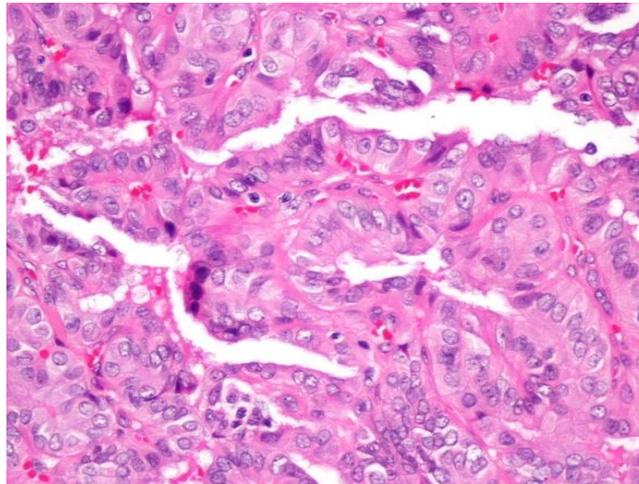


Fig. 18.1. Carcinoma papilar clásico con atipia eosinofílica.

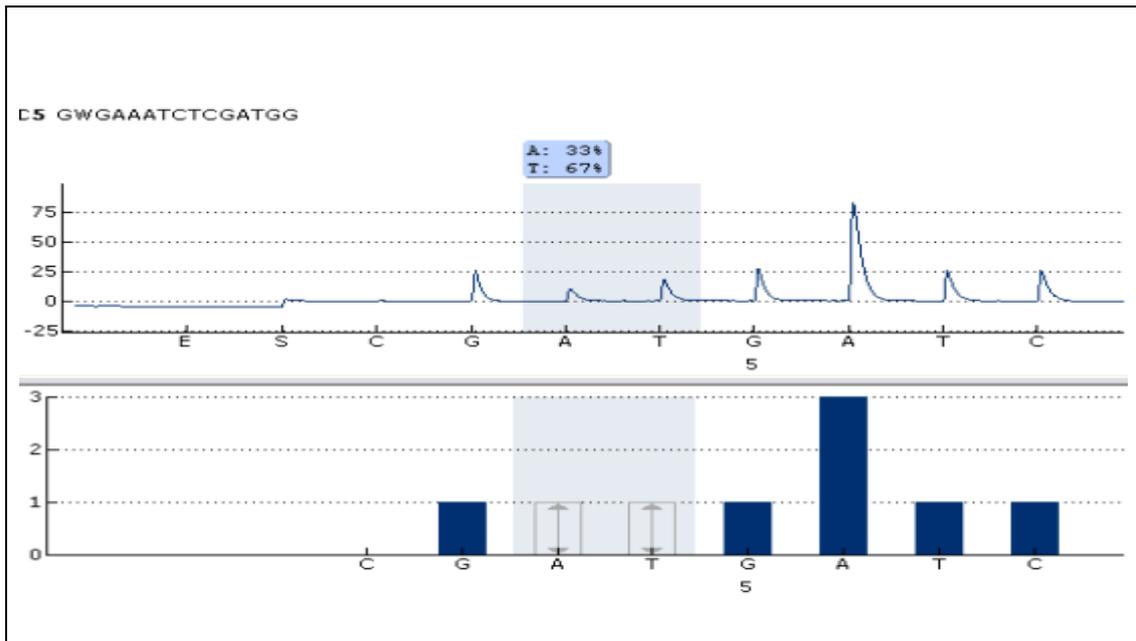


Fig. 18.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 33%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar clásico, subcapsular y encapsulado, con atipia moderada nuclear y leve esclerosis. Por otra parte presenta fibrosis con pink atipia. (Fig.18.1).Se considera un microcarcinoma por su tamaño, mostrando infiltración de límites de bordes quirúrgicos, con metástasis linfática siendo su estadio I. Con todos estos signos su mutación es del (33%).

**CASO Nº:** 19 **Nº DE BIOPSIA:** 10 B 16510 **NHC:** 3027482 **F/N:** 03/06/1964

**F/I:** 13/01/2011 **EDAD:** 49 años **SEXO:** Mujer **ANTECEDENTES PERSONALES:**  
Sin interés.

**TIPO HISTOLÓGICO:** N. 23: Carcinoma papilar variante clásica, encapsulado, quístico e infiltrante. N. 24: tumor de células de Hürtle, oxifílico, nodular y encapsulado

**TAMAÑO TUMORAL:** N.23: 2'5 x 2'5 cm. N.24: 5 x 3'5 x 3'5 cm.

**EXTENSIÓN:** Encapsulados. **METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No.

**RECIDIVAS:** No. Gammagrafía negativa en 2011. **TNM:** pT2, pN0, pM0.

**ESTADIO:** II

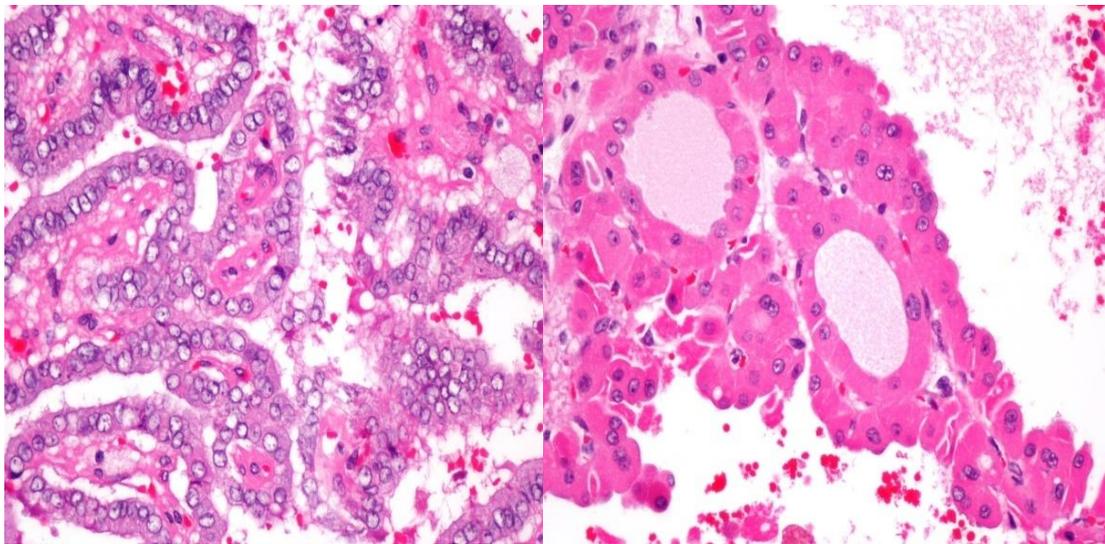


Fig. 19.1. Carcinoma papilar clásico quístico. Fig. 19.2. Zona carcinoma papilar oxifílico.

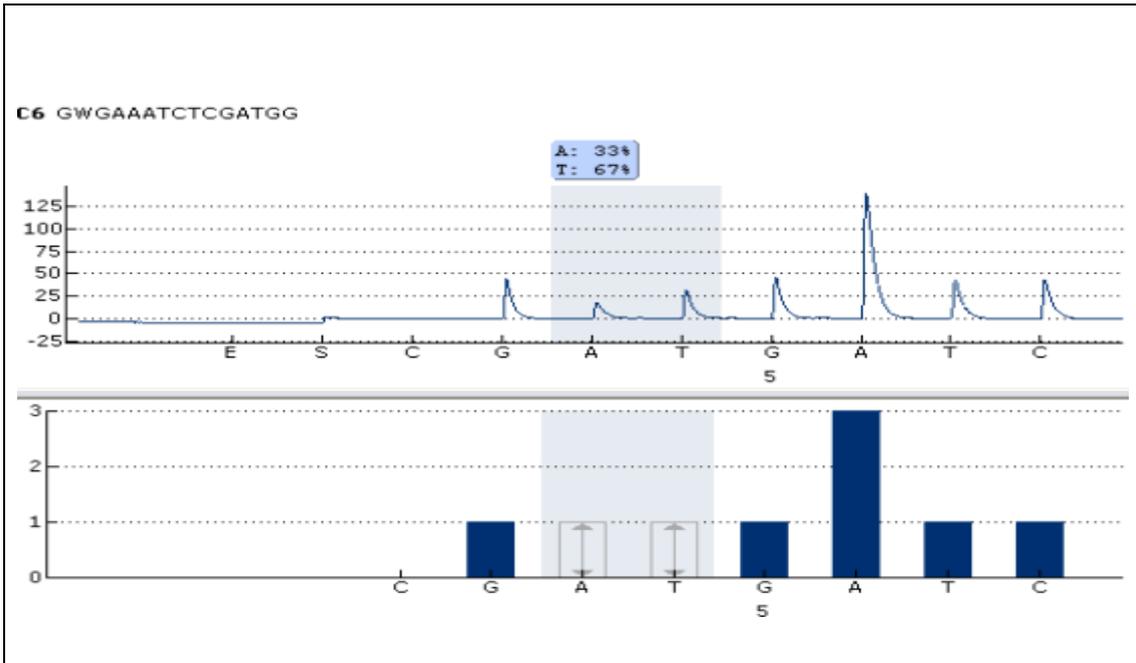


Fig. 19.3. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 33%).

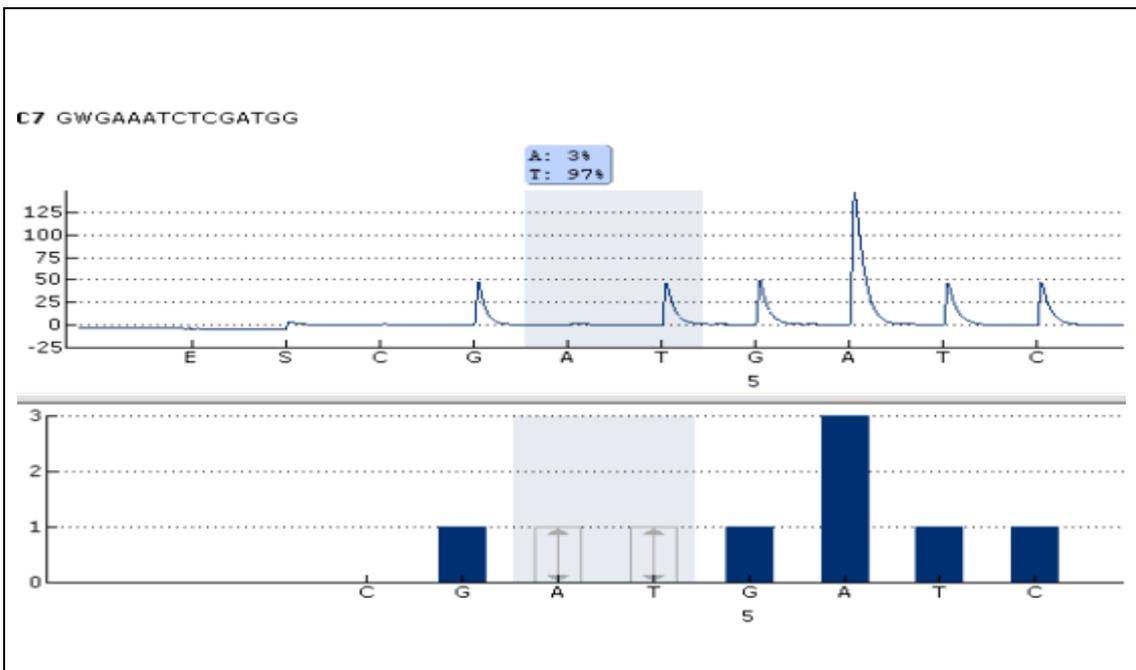


Fig. 19.4. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 3%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar variante clásica con xantomatosis intrapapilar y áreas quísticas. Aparece encapsulado y bien delimitado. Presenta núcleos atípicos, infiltración de bordes y la pink atipia es leve, mostrando cuerpos de psammoma. (Fig. 19.1). Su estadio es II. El tumor tiene una mutación del (33%).

El tumor se acompaña de una lesión papilar de células oxifílicas con rasgos nucleares de atipia leve, (Fig.19.2). Siendo una lesión de gran tamaño (5 x 3,5cm), la cual no aparece mutada (3%)

**CASO Nº:** 20 **Nº DE BIOPSIA:** 11 B 3564 **NHC:** 300131 **F/N:** 02/12/1978 **F/I:** 01/04/2011 **EDAD:** 35 años **SEXO:** Mujer **ANTECEDENTES PERSONALES:** Sin interés.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar variante células altas en lóbulo derecho.

**TAMAÑO TUMORAL:** 2 x 1 cm.

**EXTENSIÓN:** Infiltra cápsula glandular, borde quirúrgico libre.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** Metástasis en ganglio de compartimento central derecho.

**RECIDIVAS:** Adenopatías latero-cervicales derechas, con metástasis en un ganglio linfático de seis, en julio de 2013.

**TNM:** pT1b, pN1b, pM0. **ESTADIO:** I (menor de 45 años).

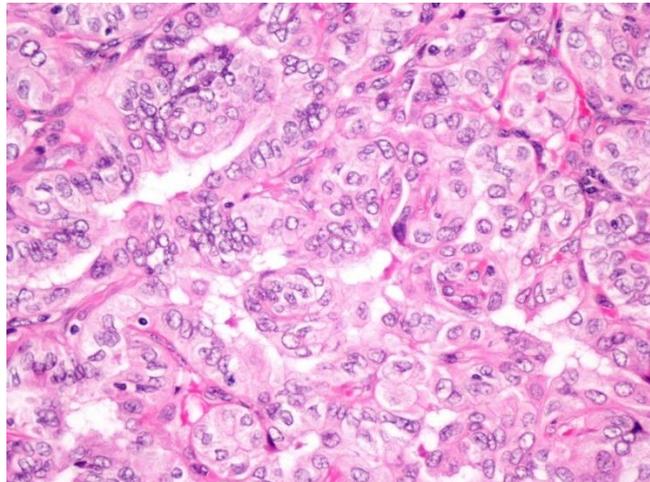


Fig. 20.1. Carcinoma papilar células altas.

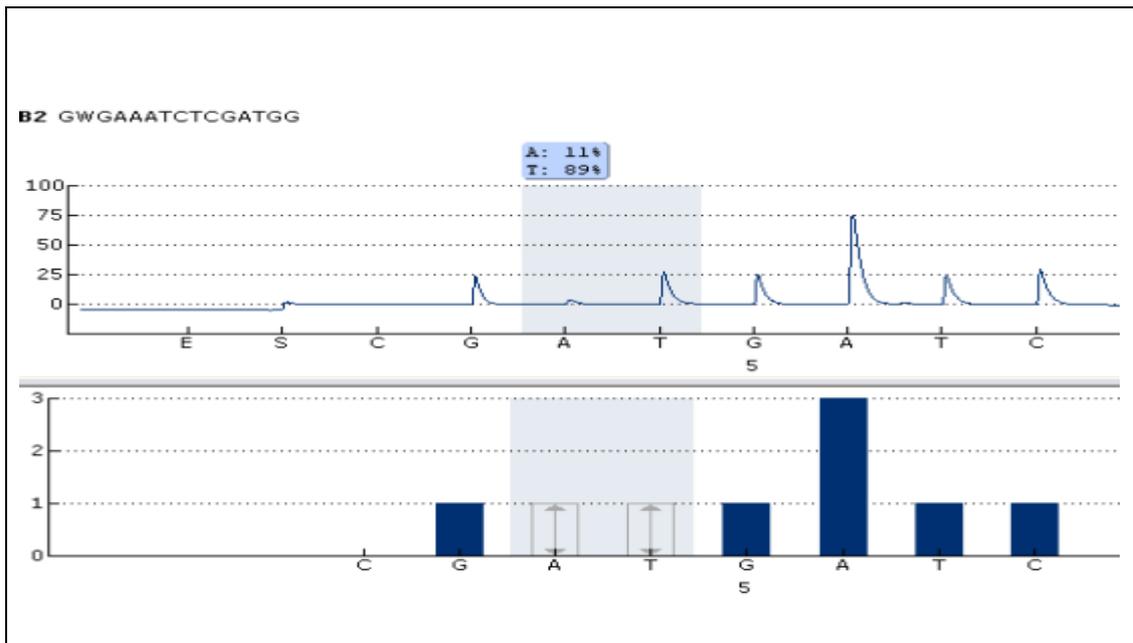


Fig. 20.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 11%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar de células altas con esclerosis, núcleo atípico, infiltración de límites, pink atipia y ocupación de bordes quirúrgicos. (Fig. 20.1). Presenta además metástasis ganglionar linfática, siendo su estadio I. El tumor está mutado en un (11%).

**CASO Nº:** 21 **Nº DE BIOPSIA:** 11 B 14197 **NHC:** 52710 **F/N:** 29/10/197

**F/I:** 02/11/2011 **EDAD:** 40 años **SEXO:** Varón

**ANTECEDENTES PERSONALES:** Sin interés.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar con xantomatosis intrapapilar.

**TAMAÑO TUMORAL:** 1'8 x 1'8 cm.

**EXTENSIÓN:** Infiltración local de cápsula del tumor, no de cápsula glandular ni tejidos adyacentes.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No.

**RECIDIVAS:** No. **TNM:** pT1b, pN0, pM0. **ESTADIO:** I

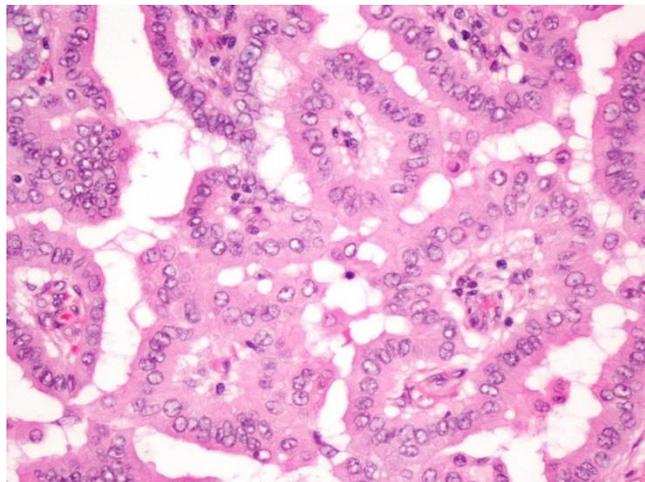


Fig. 21.1. Carcinoma papilar clásico con xantomatosis intrapapilar.

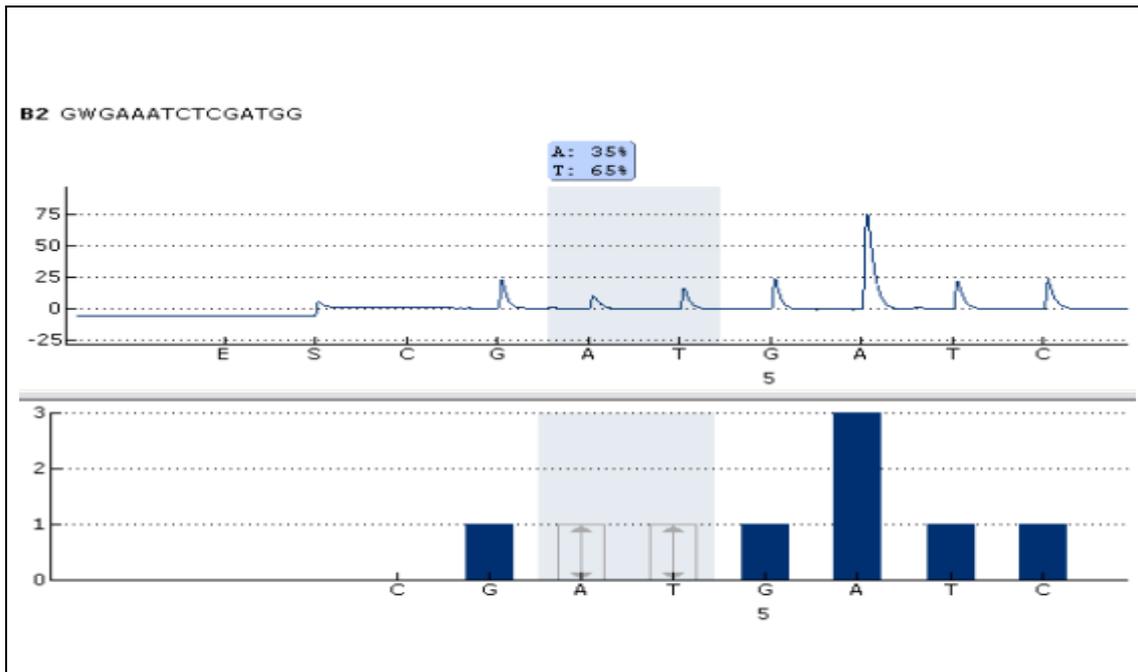


Fig. 21.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 35%).

**DESCRIPCIÓN:** Se trata de un carcinoma papilar clásico en el que se muestra leves lesiones atípicas nucleares y xantomatosis intrapapilar. Está mutado. Varón de 38 años, muestra fibrosis e infiltra bordes. Su estadio es I con escasa mitosis. Con un tamaño menor de 2 cm. Aparece encapsulado. Muestra histiocitos espumosos intrapapilares.

**CASO Nº:** 22 **Nº DE BIOPSIA:** 11 B 13538 **NHC:** 215642 **F/N:** 23/11/1934

**F/I:** 03/11/2011 **EDAD:** 79 años **SEXO:** Mujer **ANTECEDENTES PERSONALES:**

HTA en tratamiento, sarcoidosis pulmonar y bocio multinodular.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar de células de Hürtle encapsulado.

Incidental. **TAMAÑO TUMORAL:** 1 x 0'7 cm.

**EXTENSIÓN:** Encapsulado, intralobular tiroideo.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No.

**RECIDIVAS:** No. En octubre de 2013, lobectomía tiroidea derecha con bocio.

**TNM:** pT1a, pN0, pM0. **ESTADIO:** I

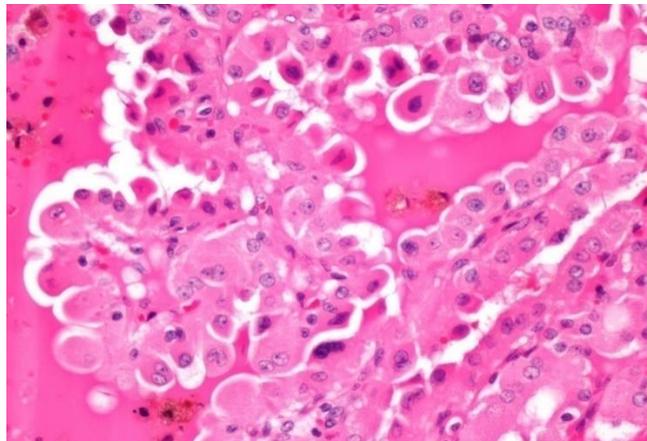


Fig. 22.1. Carcinoma papilar oxifilico.

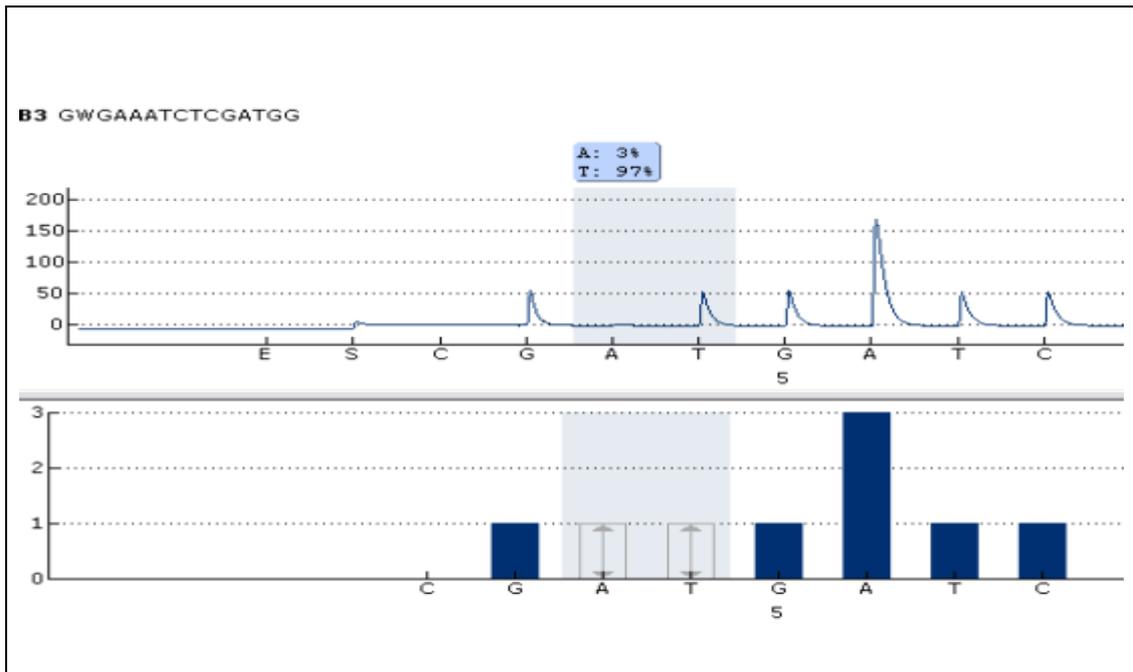


Fig. 22.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 3%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma oxifílico, bien delimitado y en parte encapsulado que muestra pink y escasa atipia nuclear. Presenta áreas quísticas con pigmento de hemosiderina por punción. Imágenes en tachuela y células gigantes multinucleadas, no está mutado y su tamaño es de 1 x 0,7 cm. Se muestra como incidental. Está bien delimitado y su rasgo más característico es la atipia.

**CASO Nº:** 23 **Nº DE BIOPSIA:** 12 B 14098 **NHC:** 179627 **F/N:** 29/08/1948

**F/I:** 14/11/2012 **EDAD:** 65 años **SEXO:** Varón **ANTECEDENTES PERSONALES:**

Sin interés.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar de tiroides variante macrofolicular encapsulado en adenoma folicular en LTD.

**TAMAÑO TUMORAL:** Menor de 1 cm.

**EXTENSIÓN:** Encapsulado.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No.

**RECIDIVAS:** No (LTI sin alteraciones en 2012). Ecografía en noviembre de 2013 negativa. **TNM:** pT1a, pN0, pM0. **ESTADIO:** I

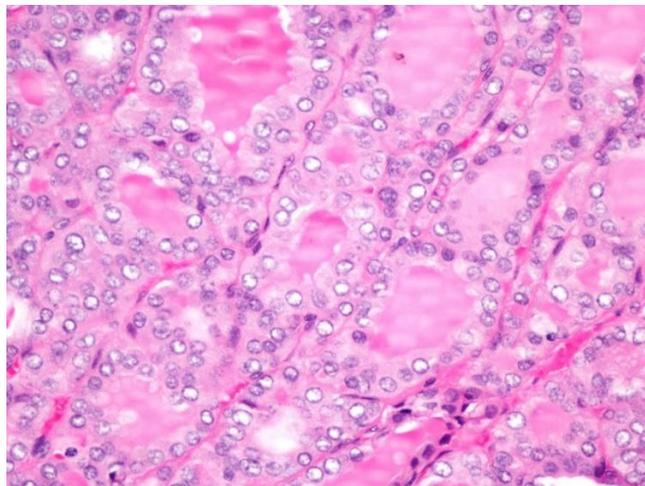


Fig. 23.1. Carcinoma papilar –macrofolicular.

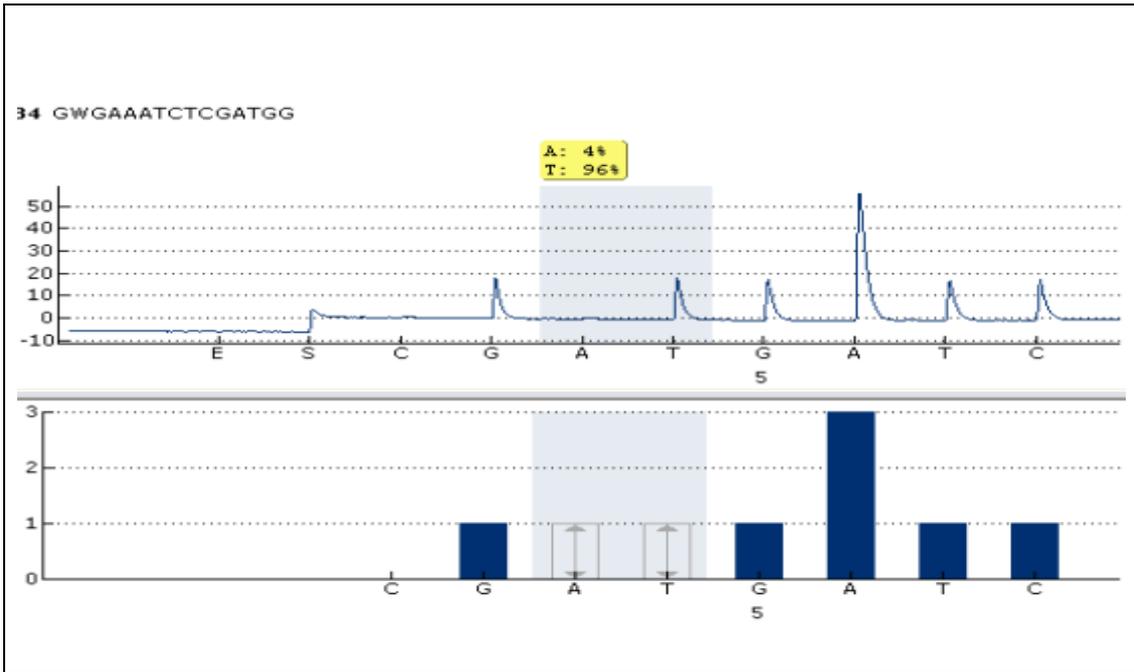


Fig. 23.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 4%).

**Descripción:** Se trata de una lesión atípica nuclear con rasgos macrofoliculares. Dentro de un área de aspecto adenomatoso. El tamaño es menor de 1cm., está encapsulado, y el estadio es I. El resultado de la secuenciación es de 4%, por lo que se considera no mutado.

**CASO Nº:** 24 **Nº DE BIOPSIA:** 12 B 17072 **NHC:** 168168 **F/N:** 29/04/1958

**F/I:** 27/12/2012 **EDAD:** 55 años **SEXO:** Mujer. **ANTECEDENTES PERSONALES:**

Sin interés. Lobectomía tiroidea izquierda en 1999 por bocio.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar encapsulado variante folicular de células de Hürtle. **TAMAÑO TUMORAL:** 1'2 x 1'2 cm.

**EXTENSIÓN:** Encapsulado.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No. **RECIDIVAS:** No.

**TNM:** pT1b, pN0, pM0. **ESTADIO:** I.

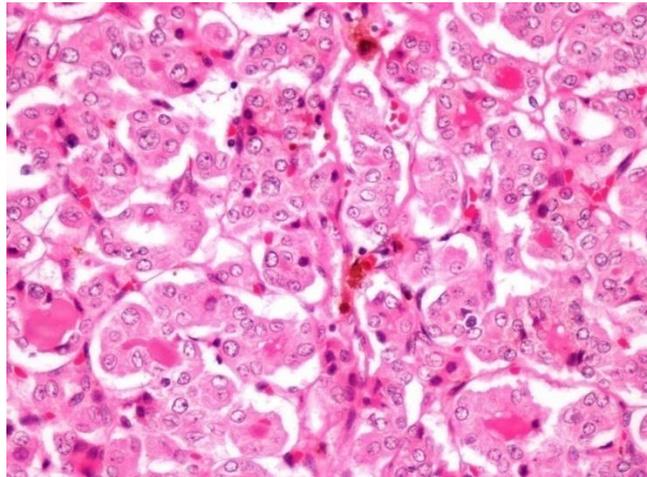


Fig. 24.1. Carcinoma papilar oxifilico.

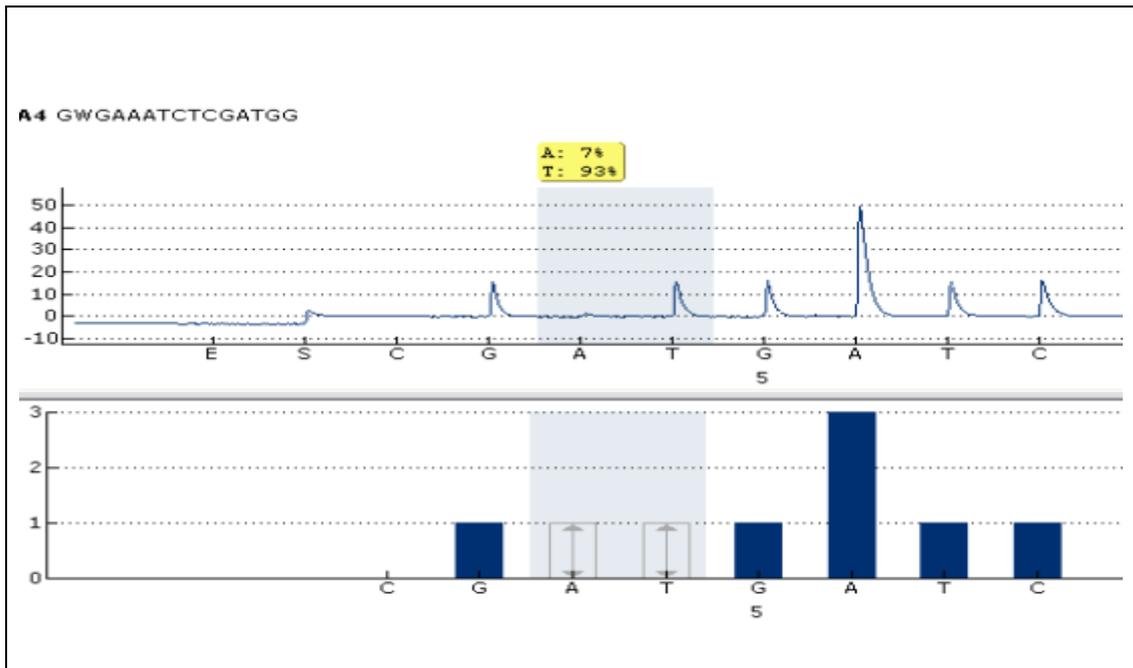


Fig. 24.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 7%).

**Descripción:** Se trata de una lesión oxifílica con rasgos nucleares de carcinoma papilar. Encapsulado, incidental sin fibrosis ni esclerosis y sin pink, muestra un porcentaje de mutación del 7%, siendo negativo.

**CASO Nº:** 25 **Nº DE BIOPSIA:** 12 B 17447 **NHC:** 535783 **F/N:** 28/03/1978

**F/I:** 10/01/2013 **EDAD:** 35 años **SEXO:** Mujer **ANTECEDENTES PERSONALES:**

Riesgo cardiovascular moderado, madre con enfermedad de tiroides. Obesidad.

Asma bronquial. Procedente de Fuerteventura.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar tipo clásico, encapsulado en LTI. LTD normal. **TAMAÑO TUMORAL:** 3 x 2'7 cm.

**EXTENSIÓN:** No extratiroidea. **METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:**

No.

**RECIDIVAS:** No (vive sana en 2013) **TNM:** pT2, pN0, pM0. **ESTADIO:** I.

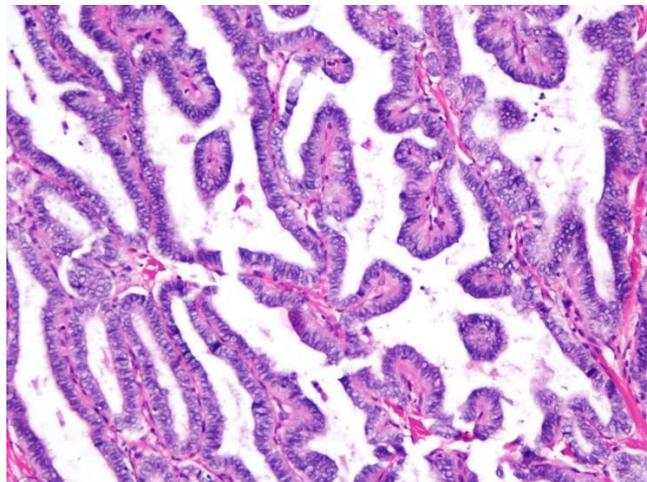


Fig. 25.1. Carcinoma papilar clásico.

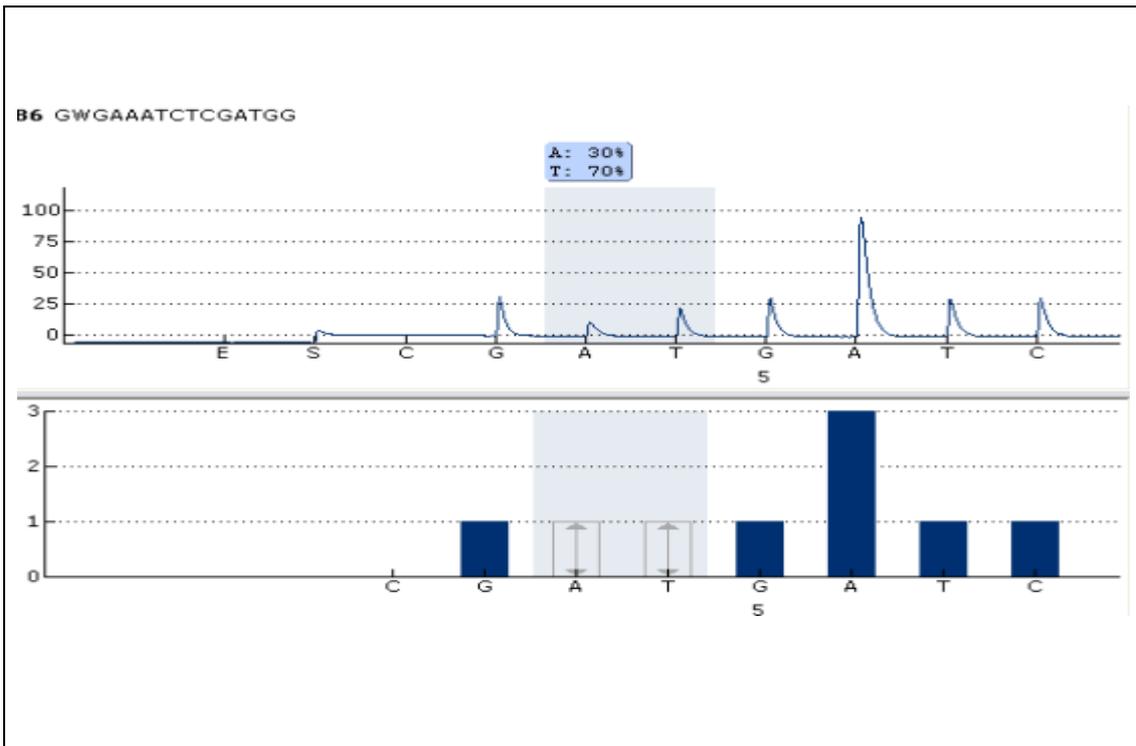


Fig. 25.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 30%).

**Descripción:** Se trata de un tumor papilar clásico que aunque tiene un estadio I presenta un tamaño pT2. Presenta pink atipia leve, con atipia nuclear, tendente a columnar. Carece de esclerosis pero muestra fibrosis intersticial. Presenta una mutación del (30%). Lo más característico son los signos de infiltración de la capsula tumoral y glandular.

**CASO Nº:** 26 **Nº DE BIOPSIA:** 13 B 156 **NHC:** 550857 **F/N:** 14/02/1957

**F/I:** 24/01/2013 **EDAD:** 56 años **SEXO:** Varón. **ANTECEDENTES PERSONALES:** HTA, síndrome prostático, depresión. Hepatomegalia esteatósica con dos LOES que pueden corresponder a hemangiomas.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar variante folicular en LTD.

**TAMAÑO TUMORAL:** 1'1 x 1cm.

**EXTENSIÓN:** Bordes quirúrgicos libres. Lobectomía izquierda sin alteraciones.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No. **RECIDIVAS:** No.

**TNM:** pT1a, pN0, pM0. **ESTADIO:** I.

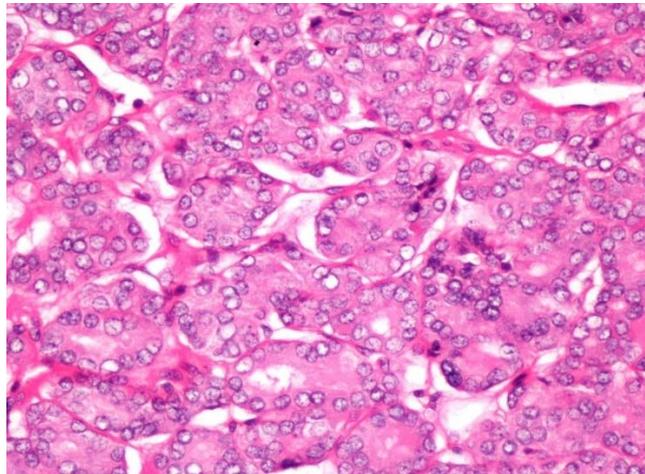


Fig. 26.1. Carcinoma papilar variante folicular.

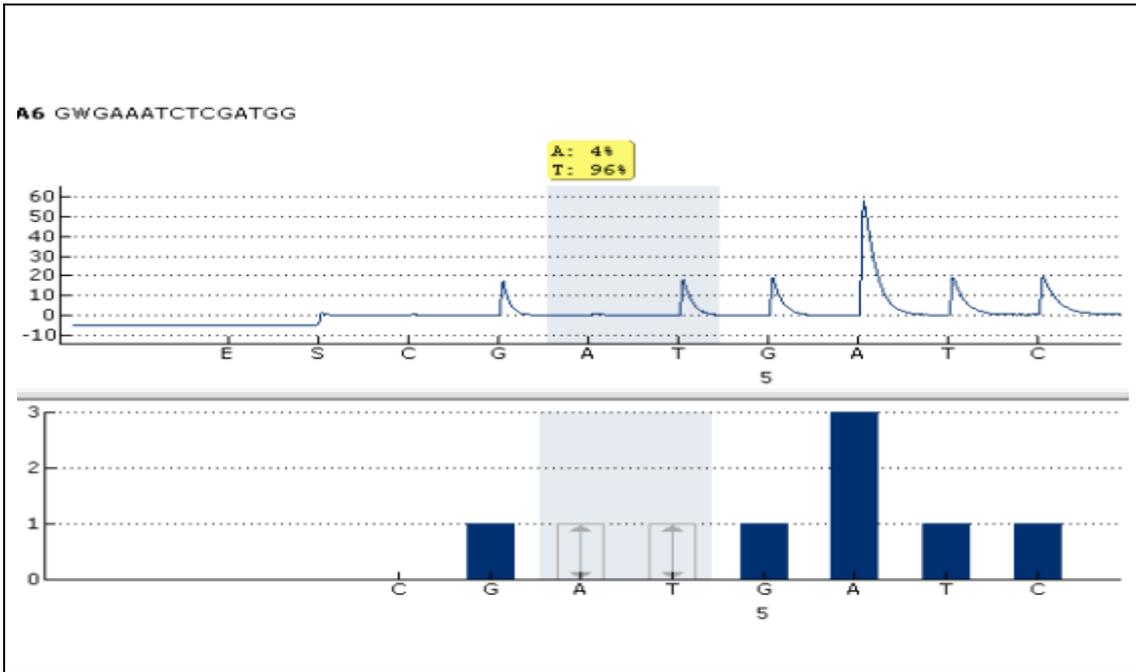


Fig. 26.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 4%).

**Descripción:** Se trata de un tumor incidental subcapsular con atipia nuclear leve, aunque muestra pseudoinclusiones, irregularidad de los núcleos e inclusiones verdaderas en bastantes células. Lo más llamativo es su disposición subcapsular. No se encuentra mutado.

**CASO Nº: 27 Nº DE BIOPSIA: 13 B 6971 NHC: 250427 F/N: 27/01/1956**

**F/I: 10/06/2013 EDAD: 57 años SEXO: Mujer.**

**ANTECEDENTES PERSONALES: HTA, ansiedad, hernia discal y vértigos.**

**TIPO HISTOLÓGICO: Microcarcinoma papilar atípico de tipo incidental u oculto.**

**TAMAÑO TUMORAL: 0'2 x 0'2 cm.**

**EXTENSIÓN: Intraparenquimatoso.**

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA: No.**

**RECIDIVAS: No. TNM: pT1a, pN0, pM0. ESTADIO: I.**

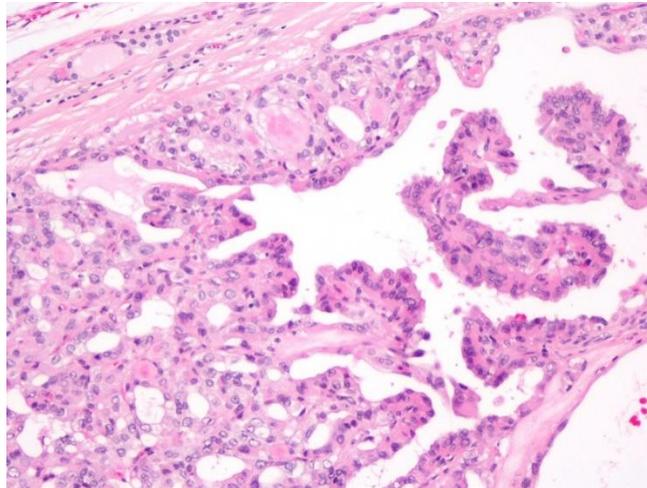


Fig. 27.1. Carcinoma papilar incidental en bocio coloide.

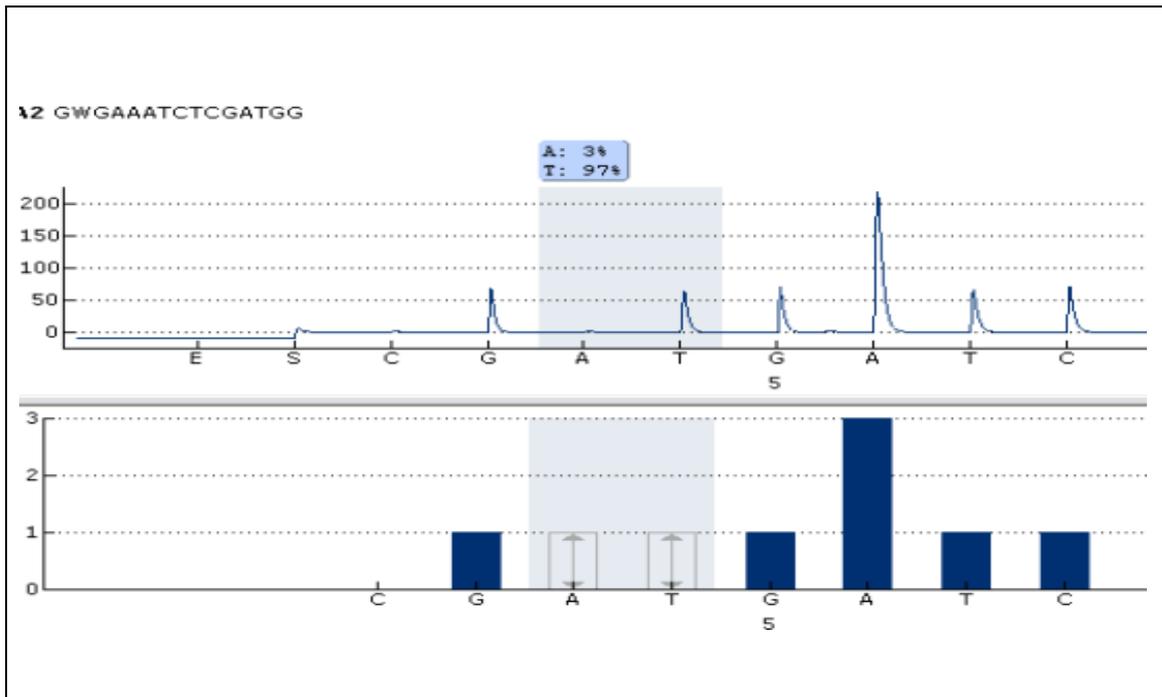


Fig. 27.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 3%).

**Descripción:** Se trata de una lesión incidental dentro de un bocio coloide. Muestra atipia nuclear moderada. No se encuentra mutado.

**CASO Nº:** 28 **Nº DE BIOPSIA:** 13 B 7563 **NHC:** 176270 **F/N:** 31/03/1969

**F/I:** 31/05/2013 **EDAD:** 44 años **SEXO:** Mujer

**ANTECEDENTES PERSONALES:** HTA, hiperlipidemia. Bocio multinodular.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar variante folicular en LTI. En LTD: carcinoma papilar en seis lesiones distintas intraparenquimatosas.

**TAMAÑO TUMORAL:** 1'1 x 1 cm. **EXTENSIÓN:** Bordes quirúrgicos libres.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No. **RECIDIVAS:** No.

**TNM:** pT1a, pN0, pM0. **ESTADIO:** I.

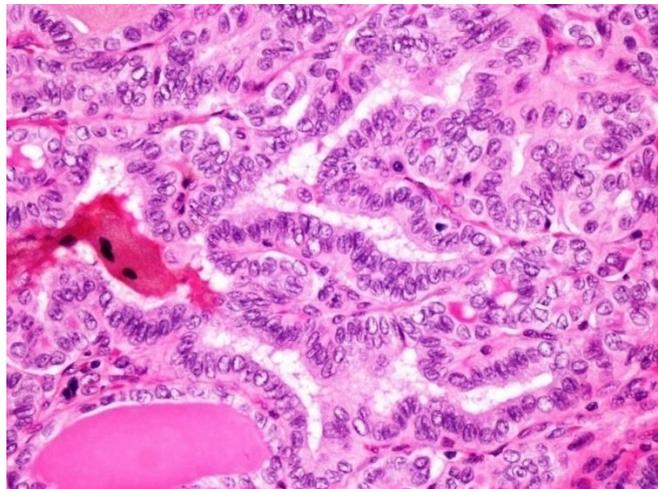


Fig. 28.1. Carcinoma papilar variante folicular, zona papilar.

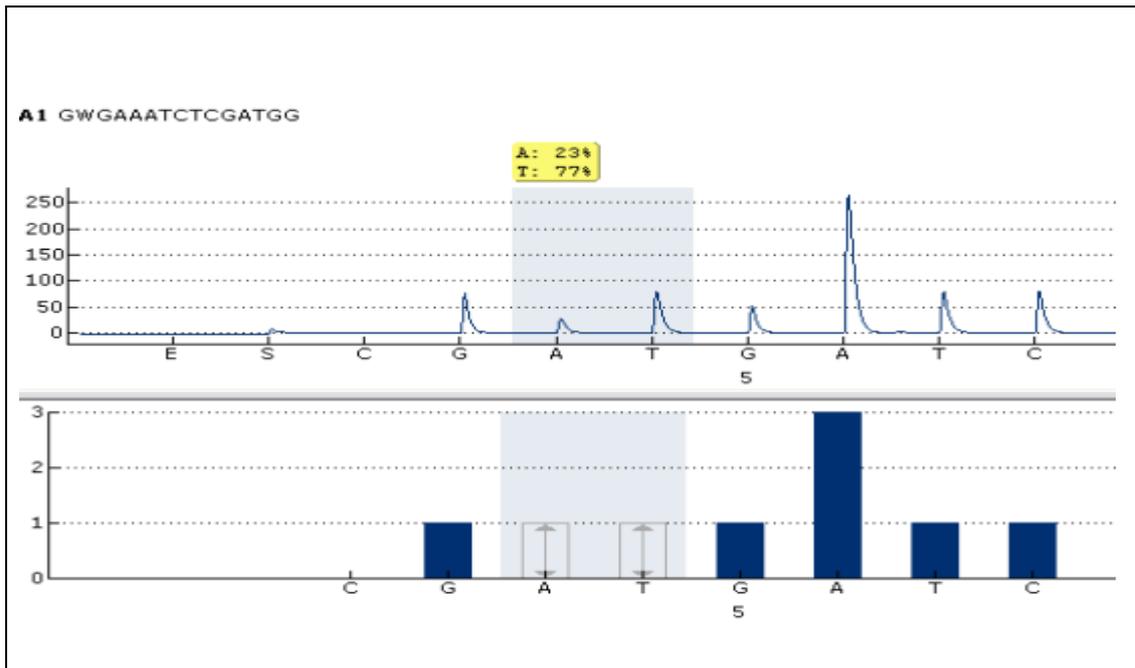


Fig. 28.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 23%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar variante folicular con zonas papilares con menos del 10%. Muestra signos de atipia moderada, no hay esclerosis, pero si fibrosis, llama la atención la presencia de seis implantes tumorales. La agresividad de éste se manifiesta en los múltiples implantes. El resultado de la secuenciación del gen BRAF es del 23%, por lo que lo consideramos mutado.

**CASO Nº:** 29 **Nº DE BIOPSIA:** 13 B 9031 **NHC:** 126128 **F/N:** 16/06/1968

**F/I:** 09/07/2013 **EDAD:** 45 años **SEXO:** Varón.

**ANTECEDENTES PERSONALES:** Ex ADVP. Bronquiectasias bilaterales.

Tuberculosis laríngea y pulmonar diagnosticada en 2012 y tratada. Carcinoma epidermoide supraglótico, con metástasis en ganglio linfático cervical derecho.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar variante quística, en LTD.

**TAMAÑO TUMORAL:** 0'4 x 0'5 cm.

**EXTENSIÓN:** Intraparenquimatoso (tiroidectomía total).

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** Sí (ganglio linfático cervical derecho positivo). **RECIDIVAS:** No. **TNM:** pT1a, pN1, pM0. **ESTADIO:** I.

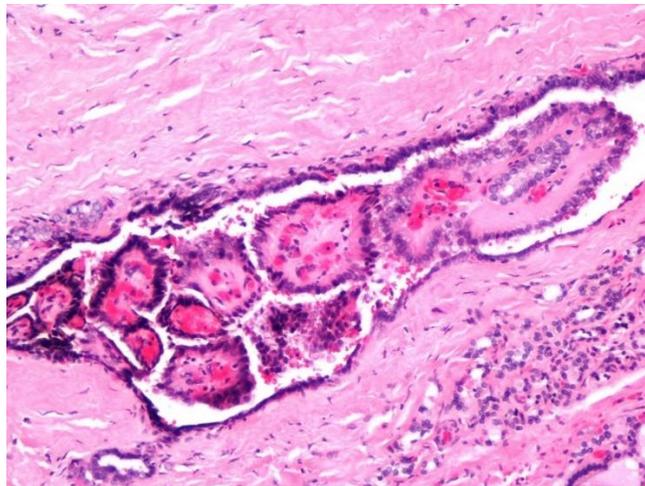


Fig. 29.1. Carcinoma papilar clásico – quístico.

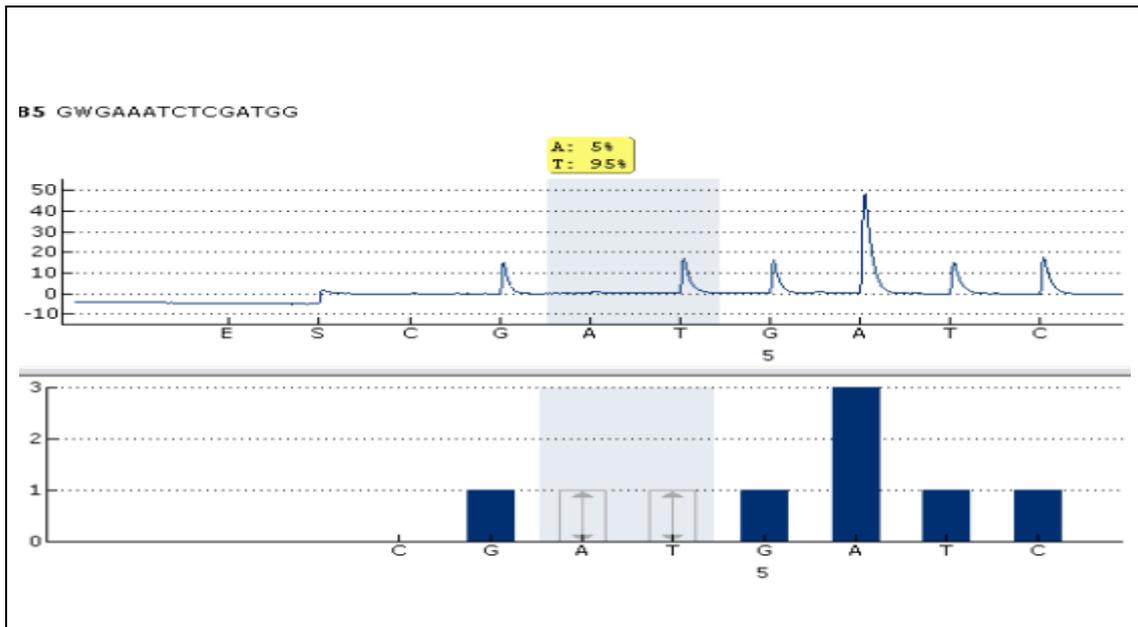


Fig. 29.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 5%)

**Descripción:** Se trata de un caso excepcional que debuta con metástasis ganglionar linfática cervical. Se practicó posterior tiroidectomía total, detectándose esta lesión incidental de 0,5cm. El tumor tiene aspecto clásico-quístico subcapsular, muestra atipia nuclear, rasgos infiltrantes y fibrosis. Carece de mutación.

**CASO Nº: 30 Nº DE BIOPSIA: 13 B 9428 NHC: 343387 F/N: 31/01/1966**

**F/I: 13/07/2013 EDAD: 47 años SEXO: Mujer. ANTECEDENTES PERSONALES:**  
Sin interés. **TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar (microcarcinoma) en LTD.

**TAMAÑO TUMORAL:** 0'7 cm de diámetro

**EXTENSIÓN:** Intraparenquimatoso.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No.

**RECIDIVAS:** No. **TNM:** pT1a, pN0, pM0. **ESTADIO:** I.

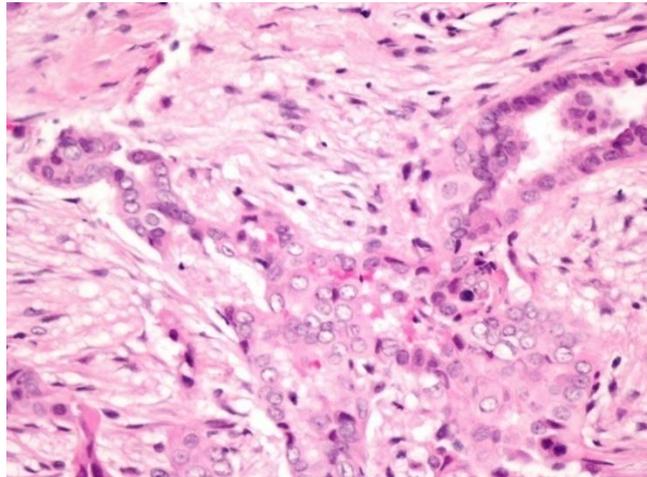


Fig. 30.1. Microcarcinoma papilar con esclerosis.

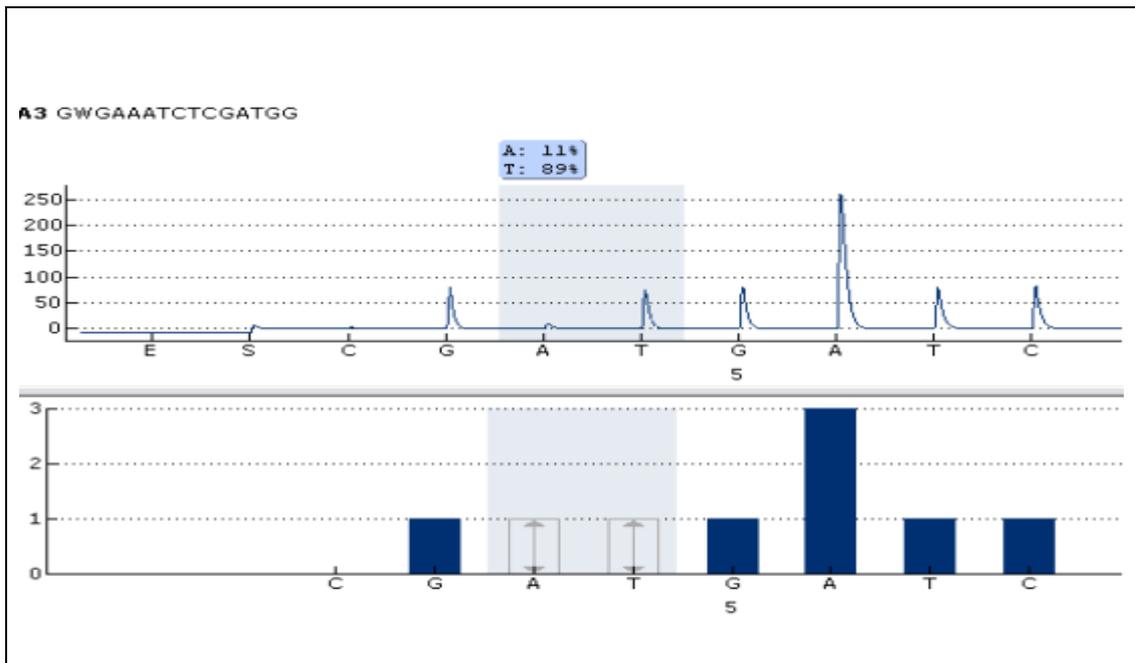


Fig. 30.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 11%).

**Descripción:** Se trata de un microcarcinoma incidental papilar, ubicado subcapsularmente y con abundante esclerosis desmoplásica, infiltra periféricamente alcanzando la capsula glandular sin rebasarla. Tiene atipia nuclear e infiltra bordes. A pesar de su pequeño tamaño, infiltra cápsula, y tiene características atípicas. El resultado de la mutación BRAF es positivo, mutado en un 11%.

**CASO Nº:** 31 **Nº DE BIOPSIA:** 05 B 4916 **NHC:** 349048 **F/N:** 30/04/1974

**F/I:** 10/05/2005 **EDAD:** 30 años **SEXO:** Mujer **ANTECEDENTES PERSONALES:**

Sin interés

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar clásico con cuerpos de psammoma y patrón multicéntrico **TAMAÑO TUMORAL:** 1'2 x 1'2 cm.

**EXTENSIÓN:** No rebasa cápsula ni parénquima muscular externo de lóbulo izquierdo. **METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** Metástasis ganglionar linfática en tres adenopatías en lóbulo izquierdo.

**RECIDIVAS:** No **TNM:** T1b, pN1, pM0. **ESTADIO:** I

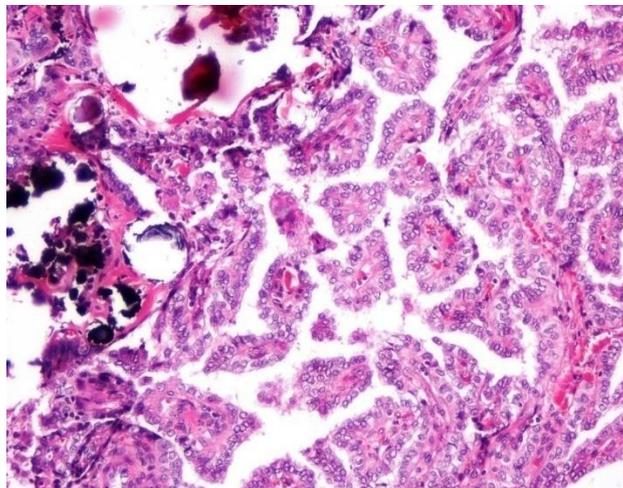


Fig. 31.1. Carcinoma papilar clásico con cuerpos de psammoma.

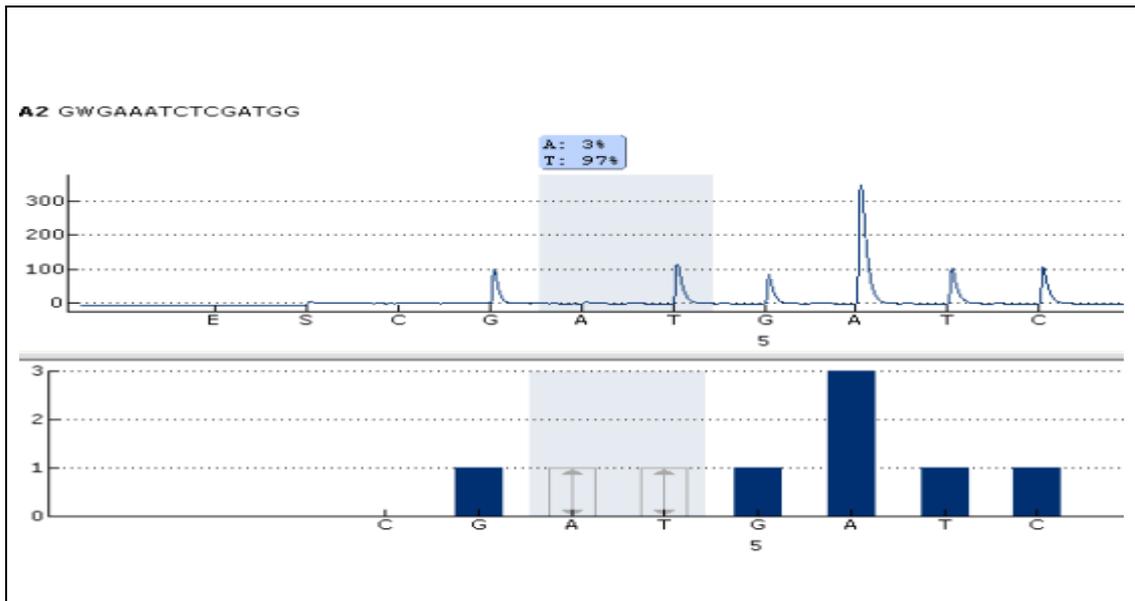


Fig. 31.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 3%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar clásico con atipia nuclear, cuerpos de psammoma y disposición multicéntrica. Muestra infiltración periférica y fibrosis tumoral. Está encapsulado aunque infiltra dicha capsula. A pesar de estas características la neoplasia no presenta BRAF mutado.

**CASO Nº:** 32 **Nº DE BIOPSIA:** 05 B 11359 **NHC:** 351909 **F/N:** 14/04/1968

**F/I:** 06/10/2005 **EDAD:** 37 años **SEXO:** Mujer **ANTECEDENTES PERSONALES:**

Sin interés. **TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar infiltrante. **TAMAÑO**

**TUMORAL:** 3 x 2'5 x 1'5 cm. **EXTENSIÓN:** Lóbulo tiroideo izquierdo, infiltra cápsula y tejido adiposo conjuntivo y muscular estriado vecino. Infiltración perineural. Foco en lóbulo tiroideo derecho de 0'2 cm que no alcanza cápsula. **METÁSTASIS**

**GANGLIONARES/A DISTANCIA:** En vaciamiento, siete ganglios positivos de 54

aislados en 2005. En 2006 tres ganglios linfáticos positivos a nivel cervico-mediastínico y mediastínico. En 2008 de nuevo metástasis ganglionares que se

extirparon. **RECIDIVAS:** Lesiones dudosas en PET-TAC en pulmón derecho e izquierdo en 2007, 2008 y 2010. En 2012 se realiza un nuevo PET-TAC con lesión

en segmento anteroapical de LSD sugestivo de metástasis pulmonar y adenopatías hipermetabólicas en mediastino. Se decidió nuevo tratamiento con 131-I. Post-tratamiento RCT negativo. Actitud conservadora desde marzo de 2014. **TNM:** pT3,

pN1, pM1. **ESTADIO:** II.

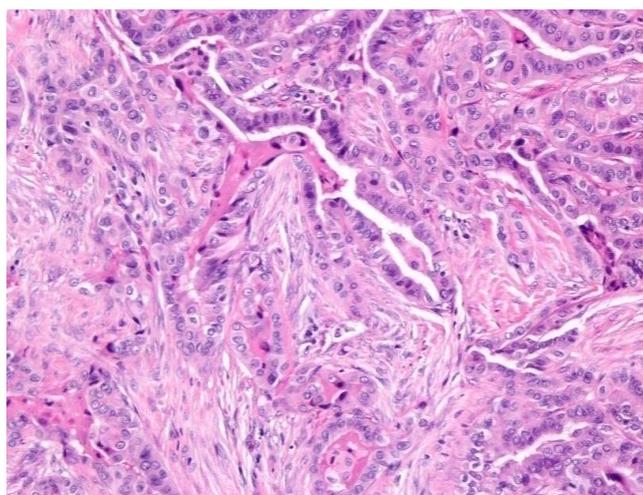


Fig. 32.1. Carcinoma papilar infiltrante y esclerosante.

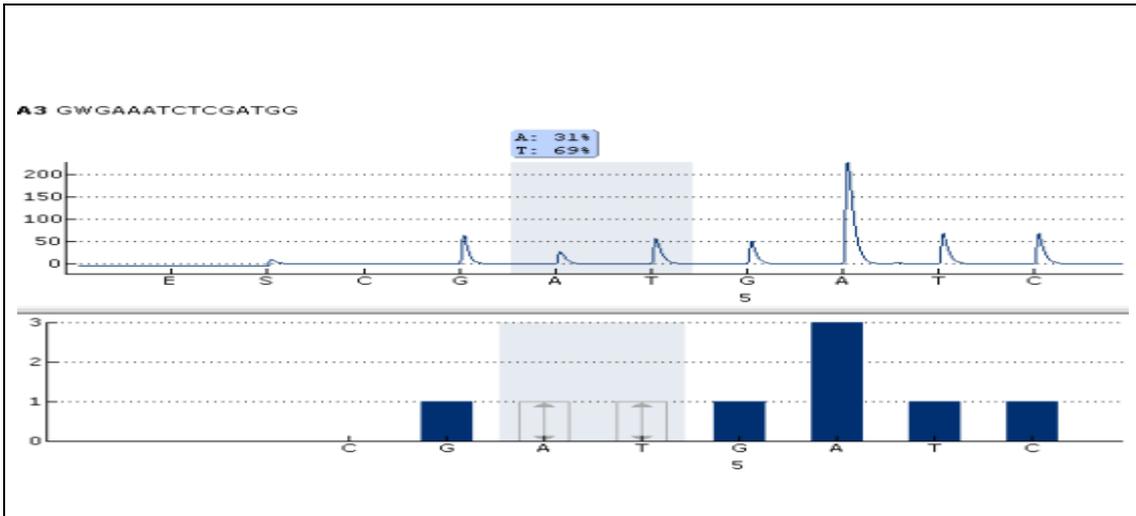


Fig. 32.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 31%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar infiltrante que rebasa la capsula glandular y tejidos blandos cervicales. Muestra invasión ganglionar linfática cervical con recidivas ganglionares mediastínicas dos años después. Siete años después muestra metástasis pulmonares detectadas por PET-TAC. Su TNM es: pT3, pN1b, pM1. Su mala evolución coincide con una mutación de 31%. Tiene esclerosis con desmoplasia, atipia nuclear, infiltración de bordes, recidivas y en estadio es II TNM. Tiene pink atipia.

**CASO Nº:** 33 **Nº DE BIOPSIA:** 05 B 13826 **NHC:** 40796 **F/N:** 26/11/1959

**F/I:** 16/12/2005 **EDAD:** 46 años **SEXO:** Mujer **ANTECEDENTES PERSONALES:**

Adenocarcinoma parotídeo izquierdo en la infancia, tratado con cirugía y radioterapia externa. Bocio nodular tiroideo.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar, variante esclerosante, no encapsulado.

**TAMAÑO TUMORAL:** 1'1 x 0'9 x 1'5 cm. **EXTENSIÓN:** No infiltra ni rebasa cápsula.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No.

**RECIDIVAS:** En 2006, lobectomía derecha con implante de carcinoma papilar de 0'7 x 0'5 cm que no alcanza borde capsular ganglionar externo. Hasta 2013 controles negativos. **TNM:** pT1b, pN0, pM0. **ESTADIO:** I.

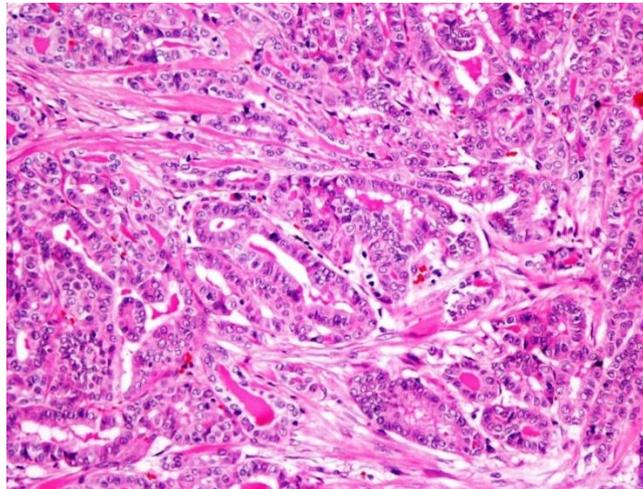


Fig. 33.1. Carcinoma papilar esclerosante.

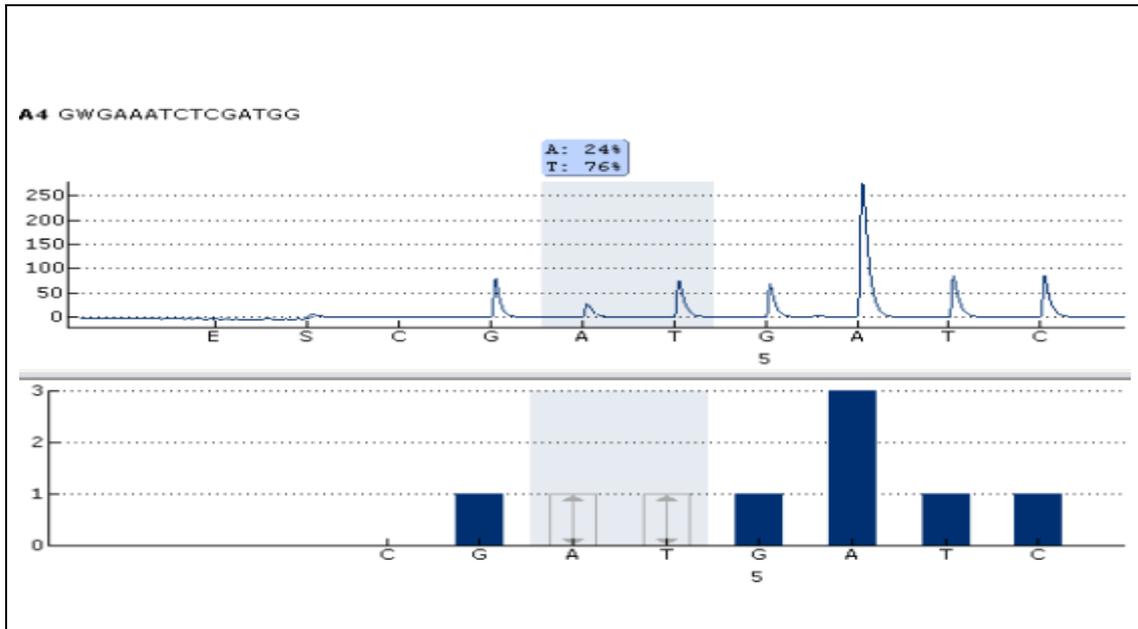


Fig. 33.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 24%)

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar subcapsular y esclerosante con atipia nuclear, pink atipia e infiltración. Un año después en la lobectomía contralateral se halló un implante de 0,7 x 0,5 cm. Muestra una mutación del 24%.

**CASO Nº:** 34 **Nº DE BIOPSIA:** 05 B 14094 **NHC:** 21270 **F/N:** 05/02/1971

**F/I:** 26/12/2005 **EDAD:** 34 años **SEXO:** Varón **ANTECEDENTES PERSONALES:** Osteomielitis en la infancia. Escoliosis **TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar variante macrofolicular. **TAMAÑO TUMORAL:** 4'5 x 3'7 x 3 cm.

**EXTENSIÓN:** Infiltra lóbulo derecho, parte de istmo y nódulo retro lobular derecho, de dudoso origen adenopático. Infiltra cápsula glandular en diferentes zonas sin llegar a rebasarla por completo. **METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No

**RECIDIVAS:** No **TNM:** pT3, pN0, pM0. **ESTADIO:** I (menor de 45 años).

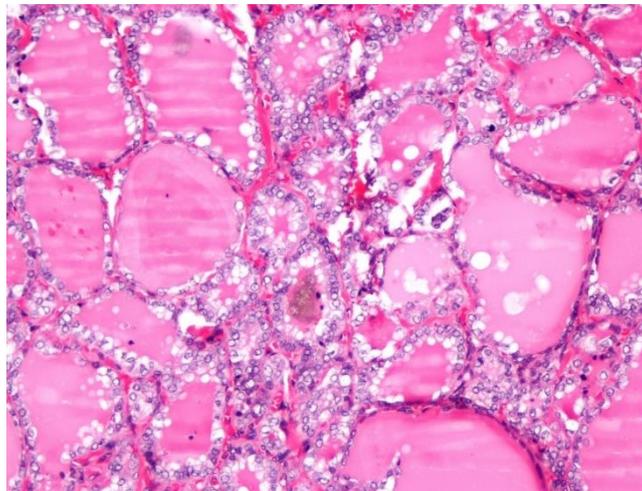


Fig. 34.1. Carcinoma papilar macrofolicular.

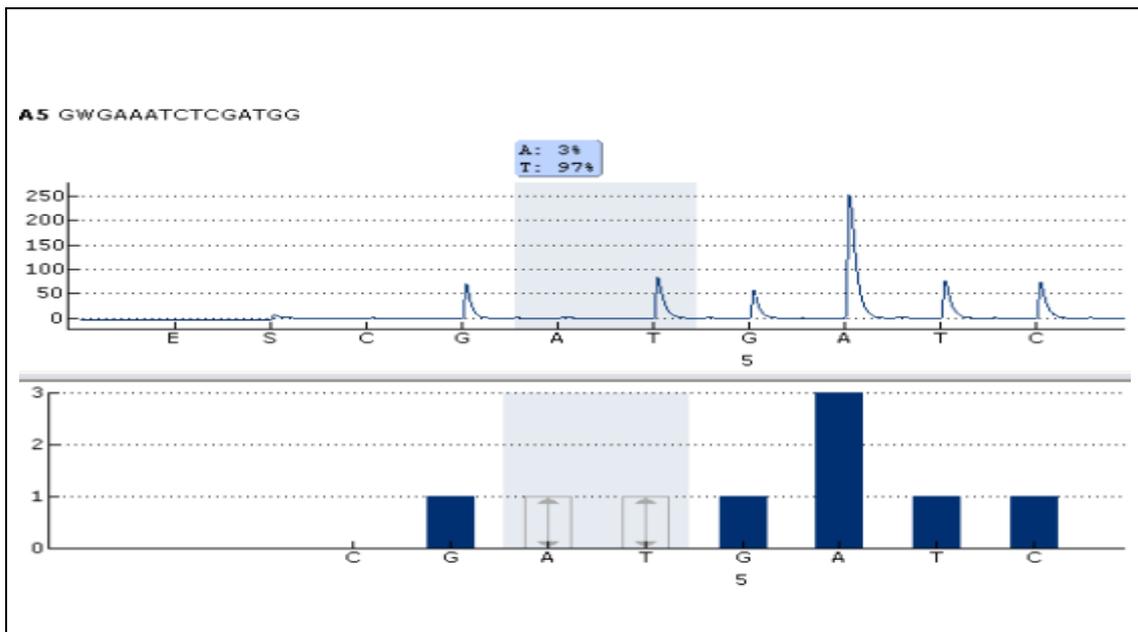


Fig. 34.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 3%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar macrofolicular de 4,5 x 3,7 cm. Muestra signos infiltrantes periféricos sin rebasar la capsula glandular. Presenta núcleos atípicos siendo negativa la esclerosis y la pink atipia. No se encuentra mutado

**CASO Nº:** 35 **Nº DE BIOPSIA:** 06 B 10536 **NHC:** 370626 **F/N:** 15/04/1928

**F/I:** 18/09/2006 **EDAD:** 78 años **SEXO:** Mujer **ANTECEDENTES PERSONALES:**

HTA, riesgo cardiovascular moderado, obesidad, ACV isquémico. **TIPO**

**HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar variante folicular. **TAMAÑO TUMORAL:** 6 x 5 x 3 cm. Ocupa la totalidad del lóbulo tiroideo derecho.

**EXTENSIÓN:** Infiltra cápsula, tejido muscular cervical y cartílago laríngeo.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** Adenopatía cervical positiva en 2006, en 2008 cuatro nódulos cervicales derechos positivos para carcinoma papilar.

**RECIDIVAS:** Metástasis pulmonares en 2011. En 2012 se realiza gammagrafía para descartar metástasis óseas, siendo ésta negativa. Vive en 2014. **TNM:** pT4a, pN1, pM1. **ESTADIO:** IVC.

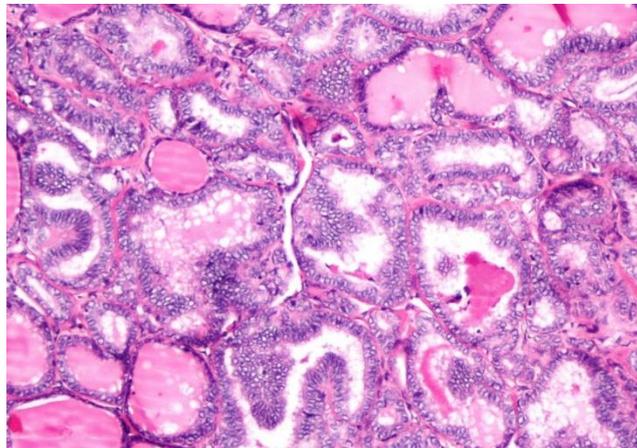


Fig. 35.1. Carcinoma papilar variante folicular.

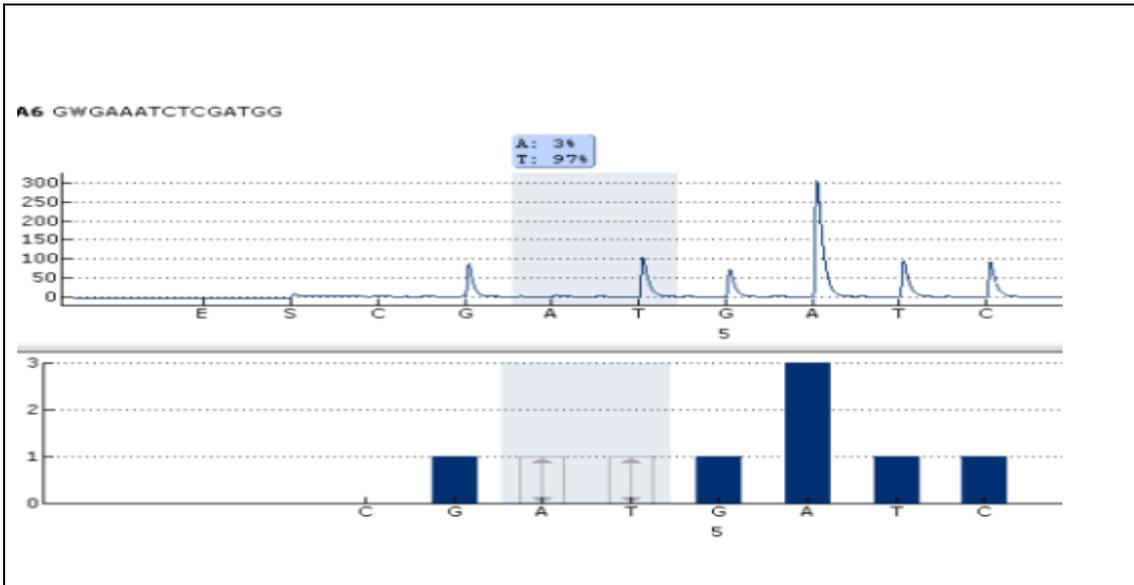


Fig. 35.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 3%).

**Descripción:** Se trata de carcinoma papilar variante folicular con focos papilares en una extensión menor del 10%. Muestra atipia nuclear evidente y pink atipia focal y leve. Infiltra bordes y tiene fibrosis marcada con escasa desmoplasia. Llamen la atención las figuras de mitosis, así como el tamaño tumoral, la invasión de tejidos blandos y la laringe. Presenta adenopatías positivas ganglionares linfáticas, así como metástasis pulmonares hace cuatro años. Siendo su estadio TNM: IVC. No está mutado.

**CASO Nº:** 36 **Nº DE BIOPSIA:** 06 B 10964 **NHC:** 264487 **F/N:** 13/05/1930 **F/I:**

02/10/2006

**EDAD:** 76 años **SEXO:** Mujer **ANTECEDENTES PERSONALES:** Mieloma múltiple en tratamiento con poliquimioterapia. Plaquetopenia. Enfermedad de Crohn. Enfermedad de Parkinson. **TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar macrofolicular, quístico y encapsulado. **TAMAÑO TUMORAL:** 3 x 1'5 cm

**EXTENSIÓN:** Cápsula infiltrada con implantes periféricos que no afectan la cápsula tiroidea glandular. **METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No. Exitus en 2007.

**RECIDIVAS:** No. **TNM:** pT2, pN0, pM0. **ESTADIO:** II

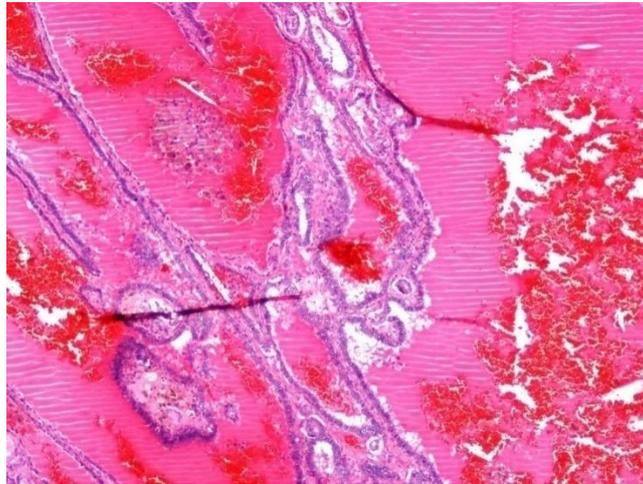


Fig. 36.1. Carcinoma papilar macrofolicular.

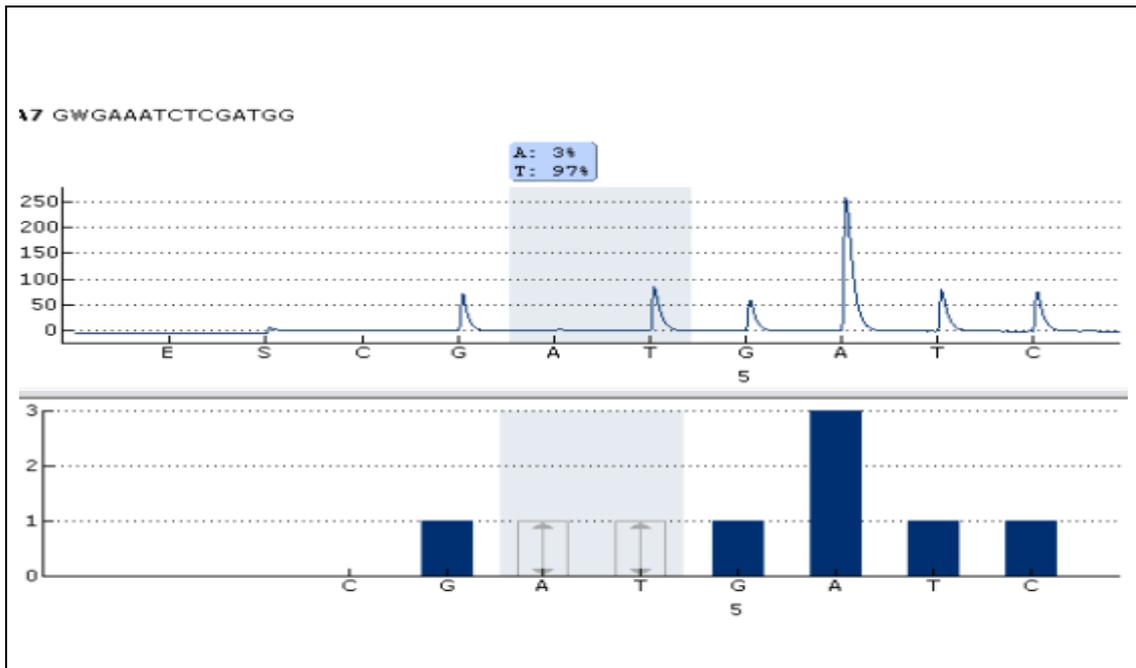


Fig. 36.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 3%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar variante macrofolicular con atipia nuclear e infiltración de bordes tumorales. No muestra pink atipia y llama la atención del tamaño del tumor siendo este de 3 x 1,5cm. No está mutado.

**CASO Nº:** 37 **Nº DE BIOPSIA:** 06 B 11590 **NHC:** 253493 **F/N:** 13/11/1965

**F/I:** 18/10/2006 **EDAD:** 40 años **SEXO:** Mujer **ANTECEDENTES PERSONALES:**  
HTA esencial.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar quístico y macrofolicular.

**TAMAÑO TUMORAL:** 4 x 2'5 cm.

**EXTENSIÓN:** Localizado en lóbulo tiroideo izquierdo, sin alcanzar la cápsula, dos implantes en lóbulo tiroideo derecho.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No. **RECIDIVAS:** No.

**TNM:** pT3, pN0, pM0. **ESTADIO:** III.

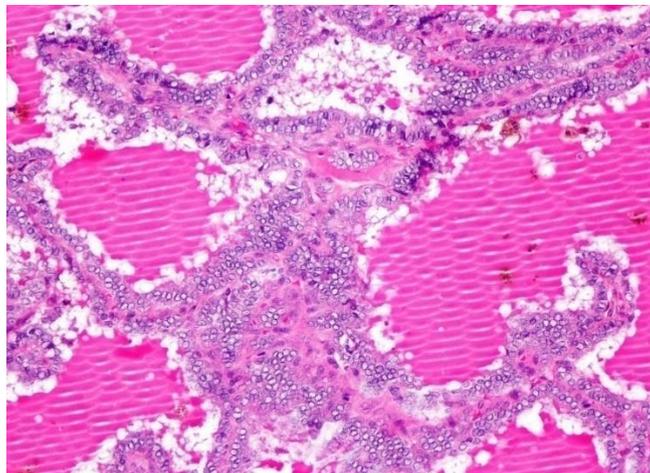


Fig. 37.1. Carcinoma papilar macrofolicular

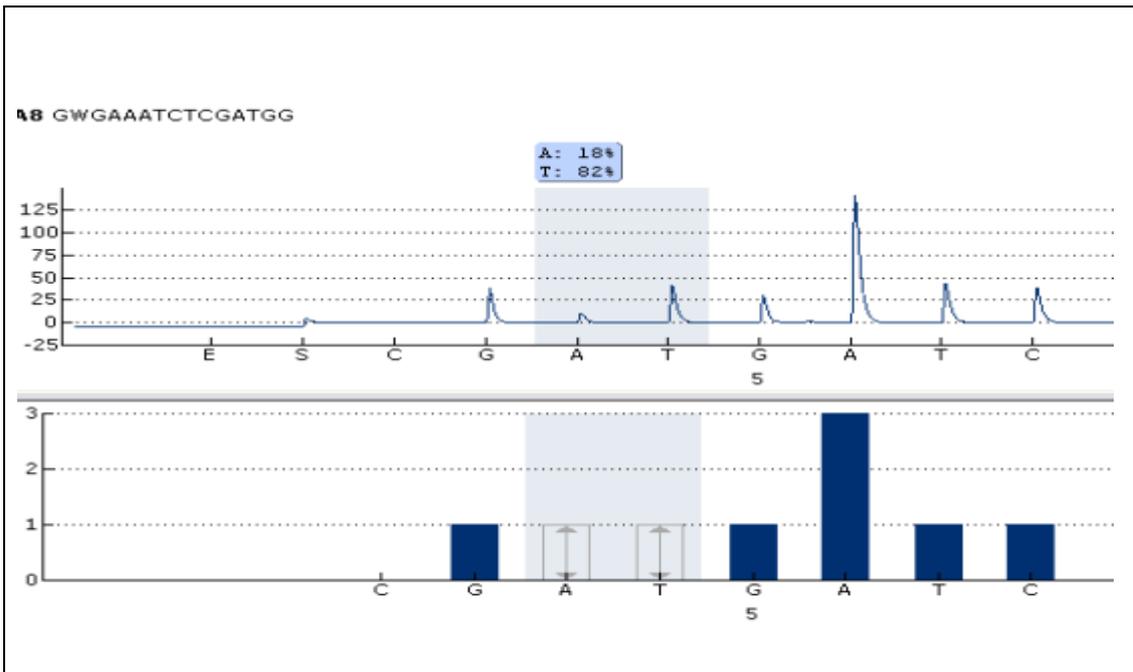


Fig. 37.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 18%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar variante macrofolicular y quístico con infiltración tumoral e implantes tumorales contralateral. Presenta atipia nuclear y fibrosis. Llama la atención el tamaño del tumor 4 x 2,5cm. Siendo su estadio TNM III. Se encuentra mutado, siendo su rasgo más característico la atipia nuclear, la infiltración y el tamaño.

**CASO Nº:** 38 **Nº DE BIOPSIA:** 07 B 3195 **NHC:** 178703 **F/N:** 26/01/1953

**F/I:** 18/04/2007 **EDAD:** 54 años **SEXO:** Mujer **ANTECEDENTES PERSONALES:**

Histerectomía. Bocio multinodular.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar de tiroides variante clásica.

**TAMAÑO TUMORAL:** 1'5 x 1 cm.

**EXTENSIÓN:** Focos multicéntricos, contacta e infiltra cápsula externa glandular.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** Metástasis en cinco adenopatías, la mayor de 1'5 x 0'5 cm. Y la menor de 0'2 x 0'2 cm. Metástasis ganglionares en 2011, y 2012. **RECIDIVAS:** Sí, en lecho tiroideo en 2012. Vive en 2014.

**TNM:** pT2, pN1, pM0. **ESTADIO:** III.

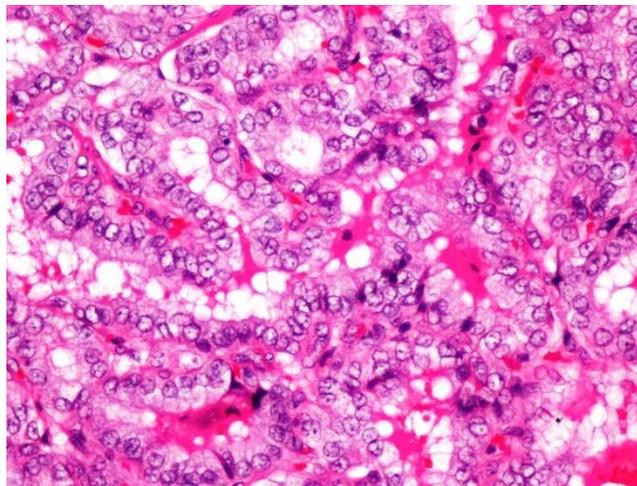


Fig. 38.1. Carcinoma papilar clásico.

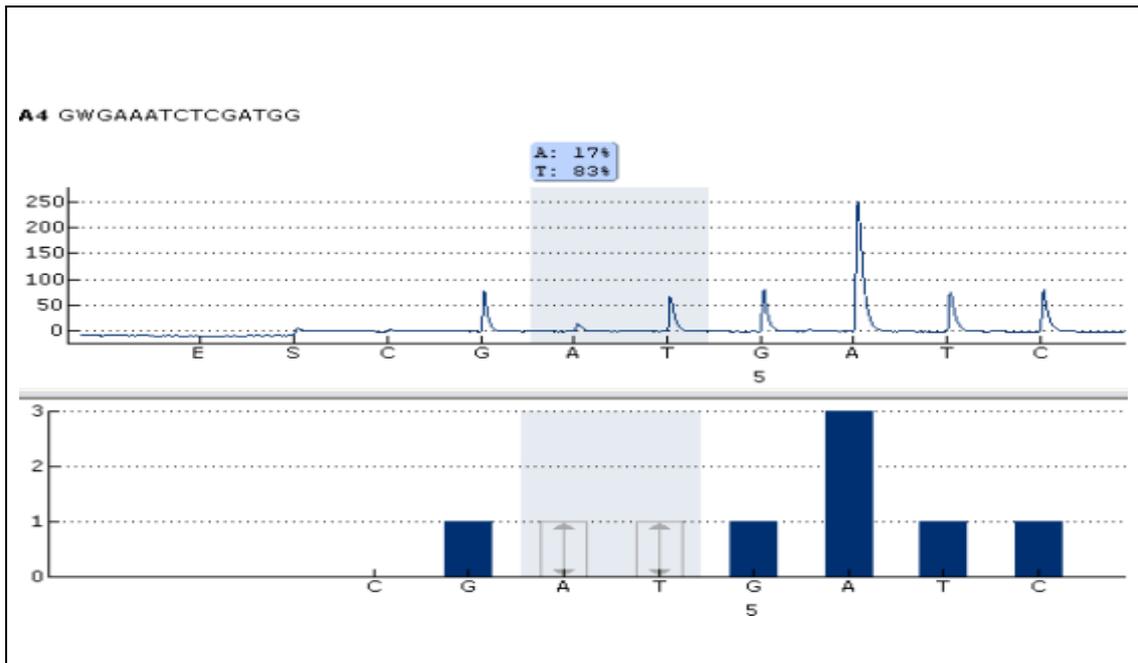


Fig. 38.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 17%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar clásico y quístico, que presenta una mutación del 17%. Presenta una marcada multicentricidad y fibrosis. Muestra atipia nuclear marcada y la pink atipia está ausente. Tiene metástasis regionales linfáticas y una recidiva cinco años después. Su estadio TNM es III.

**CASO Nº:** 39 **Nº DE BIOPSIA:** 07 B 6045 **NHC:** 179808 **F/N:** 12/12/1964

**F/I:** 22/06/2007 **EDAD:** 42 años **SEXO:** Mujer **ANTECEDENTES PERSONALES:**

Sin interés. **TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar de células de Hürthle, variante quística y encapsulado. **TAMAÑO TUMORAL:** 2'1 x 2 x 1'8 cm.

**EXTENSIÓN:** Lóbulo tiroideo derecho, sin alcanzar cápsula ni márgenes de resección. En lóbulo tiroideo izquierdo, en segunda intervención, hay un carcinoma papilar de células de Hürthle que mide 0'7 x 0'5 cm que sí infiltra la cápsula y márgenes de resección. **METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No.

**RECIDIVAS:** Si. **TNM:** pT3, pN0, pM0. **ESTADIO:** III.

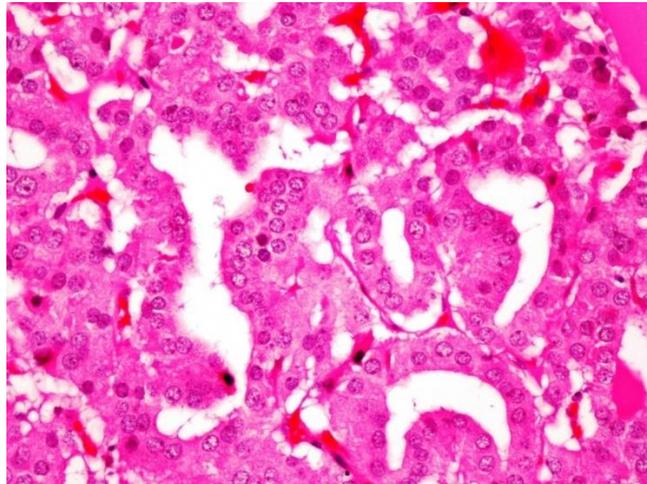


Fig. 39.1. Carcinoma papilar de células oxifílicas.

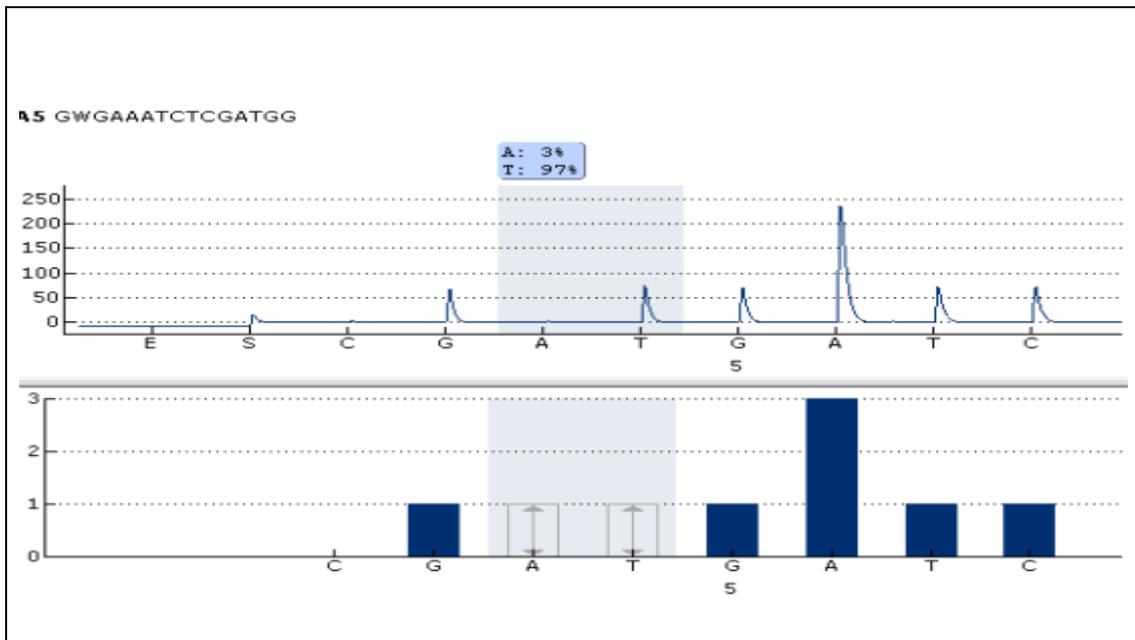


Fig. 39.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 3%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar de células de Hürthle, carece de esclerosis, los núcleos son levemente atípicos y existe fibrosis. Está encapsulado. No está mutado.

**CASO:** 40 **Nº DE BIOPSIA:** 07 B 10279 **NHC:** 115554 **F/N:** 01/04/1940

**F/I:** 13/09/2007 **EDAD:** 67 años **SEXO:** Mujer **ANTECEDENTES PERSONALES:** LNH en tratamiento. Legrado uterino. **TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar de células de Hürthle con zonas de variante folicular. **TAMAÑO TUMORAL:** 2 x 1'8 cm.

**EXTENSIÓN:** En lóbulo izquierdo, sin infiltrar cápsula. Implante en LTD no infiltrando cápsula. **METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No.

**RECIDIVAS:** Sí en 2008, recidiva en lecho tiroideo residual. Nov- 2013 sigue viva.

**TNM:** pT1b, pN0, pM0. **ESTADIO:** I.

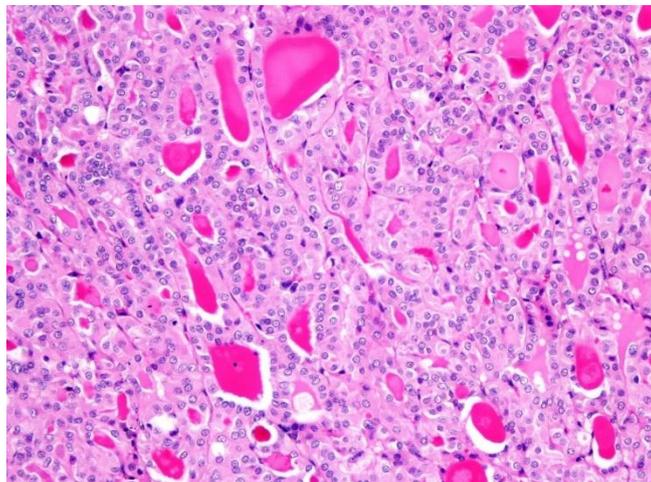


Fig. 40.1. Carcinoma papilar oxifílico.

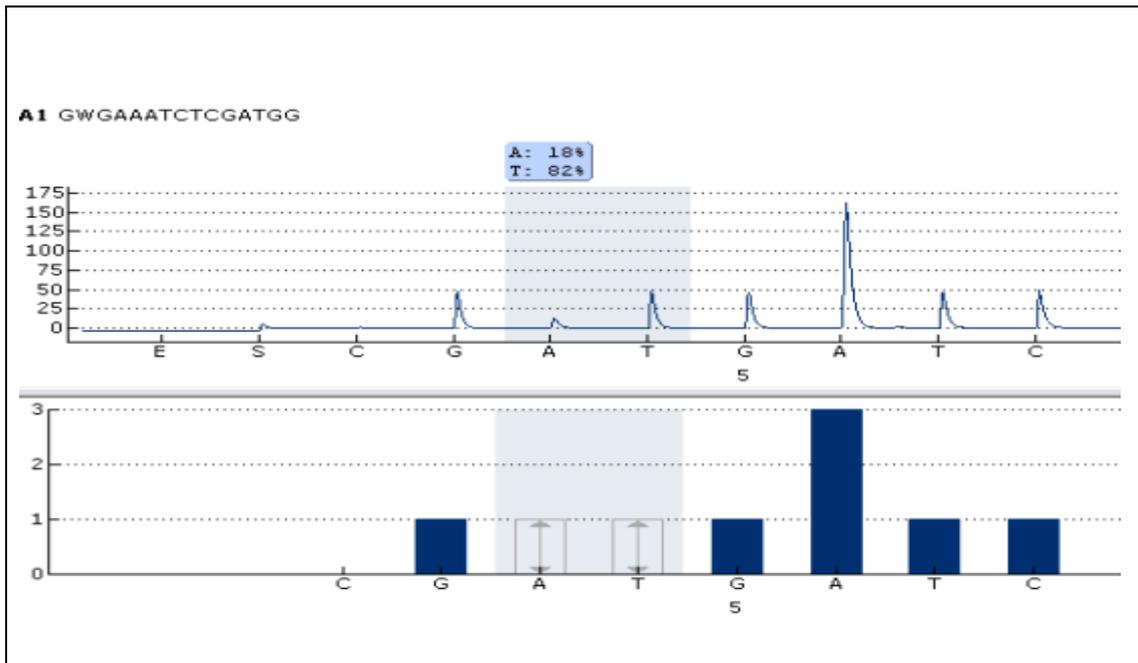


Fig. 40.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 18%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar oxifílico, encapsulado, con un tamaño de 2,8 x 1,8 cm. Se encuentra mutado en un porcentaje del 18%. La atipia nuclear es leve pero si presenta pink atipia. El tumor presenta rasgos de fibrosis y tiene bordes tumorales infiltrados.

**CASO Nº:** 41 **Nº DE BIOPSIA:** 07 B 11419 **NHC:** 423159 **F/N:** 08/01/1959

**F/I:** 09/10/2007 **EDAD:** 48 años **SEXO:** Hombre **ANTECEDENTES PERSONALES:**

Bocio multinodular. DMNID en tratamiento con ADO. Enfermedad de Graves.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar variante células altas, con zonas esclerosantes. **TAMAÑO TUMORAL:** 4 x 3'5 x 3 cm.

**EXTENSIÓN:** En lóbulo derecho, infiltra parénquima tiroideo vecino, cápsula externa y ocupa tejidos blandos periféricos, incluido el músculo estriado. Implante en lóbulo tiroideo izquierdo. **METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No.

**RECIDIVAS:** No. **TNM:** pT3, pN0, pM0. **ESTADIO:** III.

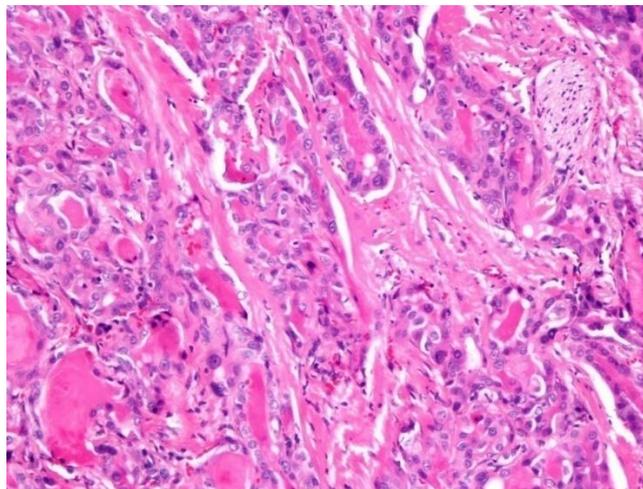


Fig. 41.1. Carcinoma papilar de células altas y esclerosante.

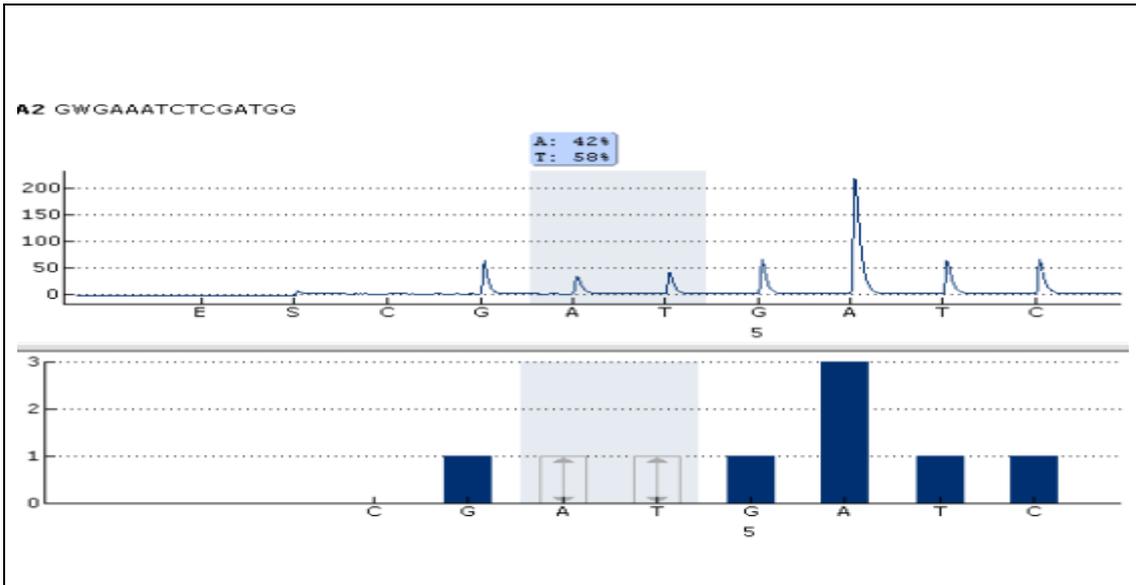


Fig. 41.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 42%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar de células altas con esclerosis, atipia nuclear e infiltración de los límites tumorales y bordes quirúrgicos. Tiene un estadio TNM III y un tamaño de 4 x 3,5 cm. Tiene pink atipia y se encuentra mutado en un 42%.

**CASO Nº:** 42 **Nº DE BIOPSIA:** 07 B 14584 **NHC:** 356188 **F/N:** 31/01/1934

**F/I:** 21/12/2007 **EDAD:** 73 años **SEXO:** Mujer.

**ANTECEDENTES PERSONALES:** HTA, hepatitis sin filiar, tuberculosis pulmonar.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar de tiroides tipo sólido e infiltrante.

**TAMAÑO TUMORAL:** 2'5 x 2'5 cm.

**EXTENSIÓN:** Lóbulo derecho, e izquierdo, infiltra cápsula, tejidos blandos y músculo esquelético cervical. Tráquea infiltrada.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No. **RECIDIVAS:** No.

**TNM:** pT3, pN0, pM0. **ESTADIO:** III.

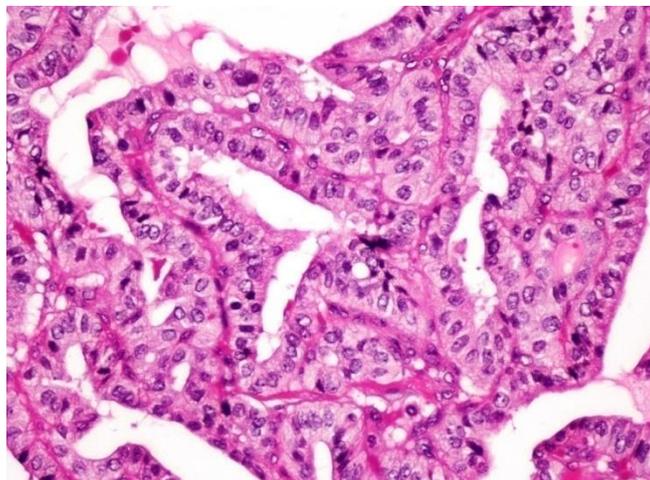


Fig. 42.1. Carcinoma papilar de células altas.

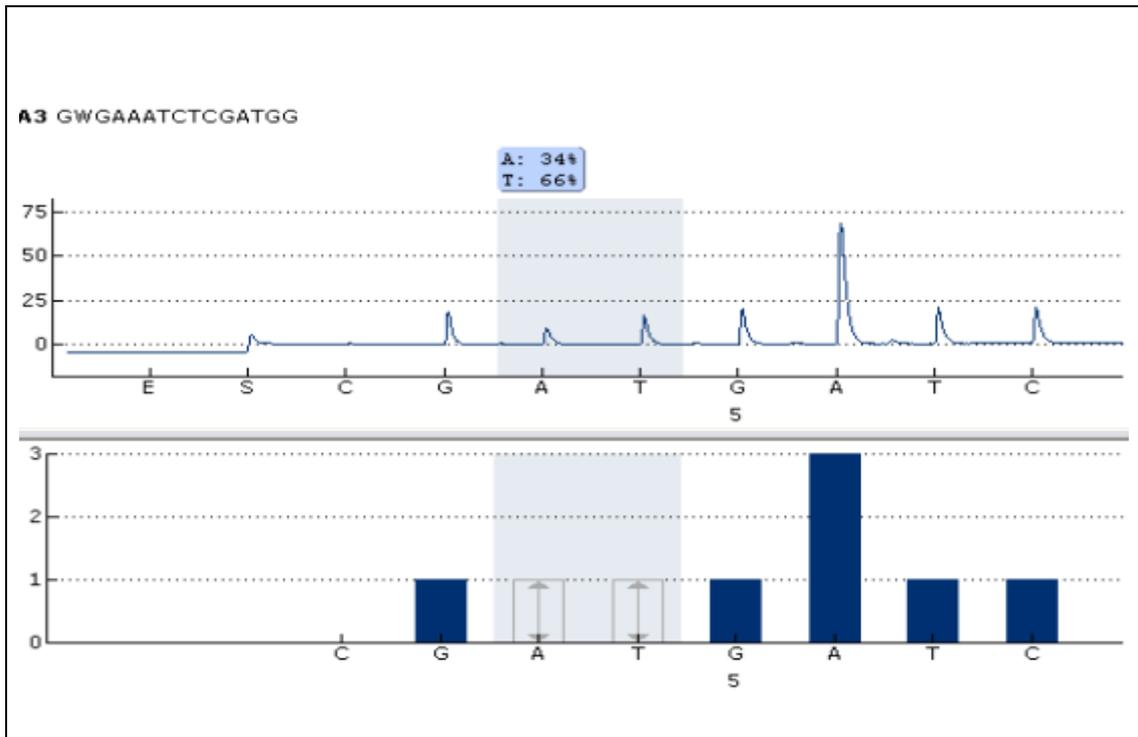


Fig. 42.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 34%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar de células altas con esclerosis y pink atipia. Infiltra límites del tumor y bordes quirúrgicos, así con partes blandas cervicales y musculo esquelético. Su estadio TNM es III. Se encuentra mutado en un 34%.

**CASO Nº:** 43 **Nº DE BIOPSIA:** 08 B 9081 **NHC:** 446184 **F/N:** 18/03/1968

**F/I:** 30/07/2008 **EDAD:** 40años **SEXO:** Hombre

**ANTECEDENTES PERSONALES:** Sin interés.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar de tiroides intraquístico.

**TAMAÑO TUMORAL:** 2 cm de diámetro mayor.

**EXTENSIÓN:** Lóbulo izquierdo, infiltración cápsula, márgenes de resección libres.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** Metástasis en adenopatía tiro-tímica, y en yugular izquierda. En vaciamiento ganglionar metástasis en cuatro de treinta ganglios linfáticos aislados. **RECIDIVAS:** No. **TNM:** pT1b pN1b, pM0.

**ESTADIO:** I.

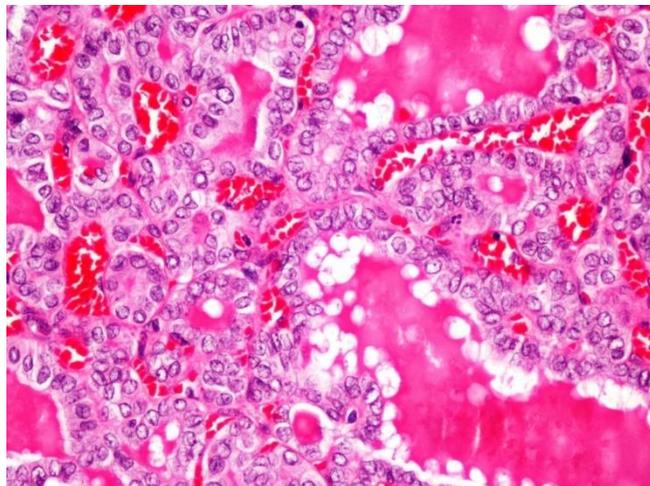


Fig. 43.1. Carcinoma papilar clásico.

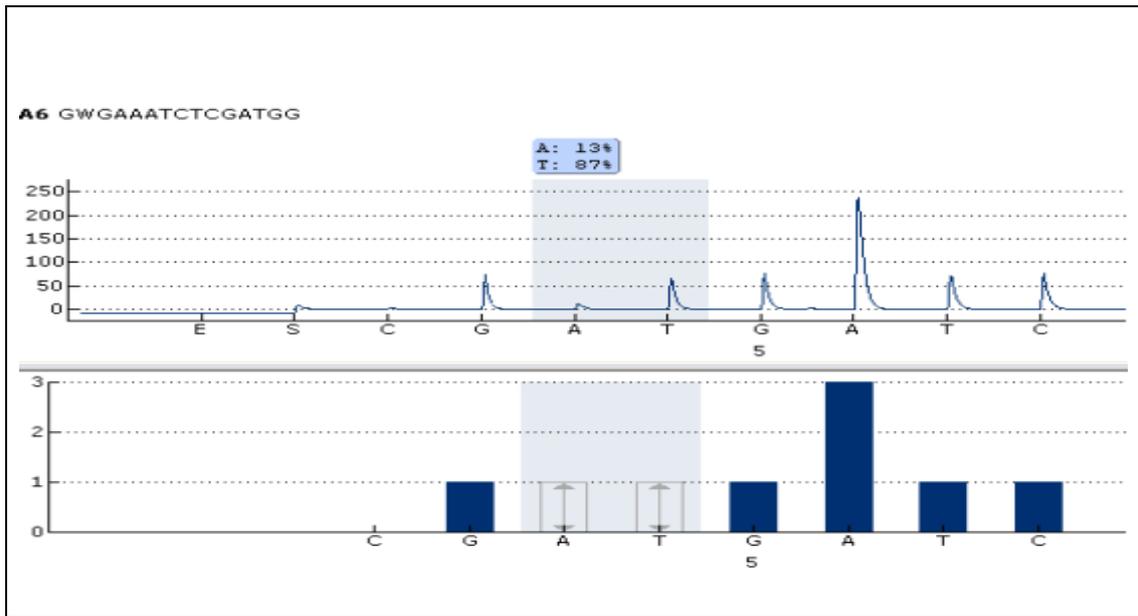


Fig. 43.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 13%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar clásico con leve mutación (13%).

Carece de esclerosis, los núcleos son algo atípicos y muestra infiltración de los bordes del tumor. No tiene pink atipia.

**CASO Nº:** 44 **Nº DE BIOPSIA:** 08 B 8.226 **NHC:** 344814 **F/N:** 28/12/1964

**F/I:** 24/07/2006 **EDAD:** 42 años **SEXO:** Mujer.

**ANTECEDENTES PERSONALES:** mamoplastia reductora.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Microcarcinoma papilar encapsulado.

**TAMAÑO TUMORAL:** 0'9 x 0'5 cm.

**EXTENSIÓN:** Lóbulo izquierdo, márgenes de resección libres.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No. **RECIDIVAS:** No.

**TNM:** pT1a, pN0, pM0. **ESTADIO:** I.

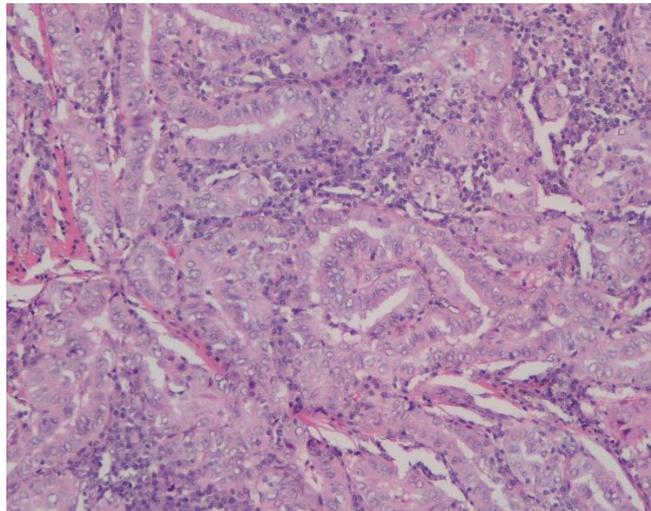


Fig. 44.1. Carcinoma micropapilar.

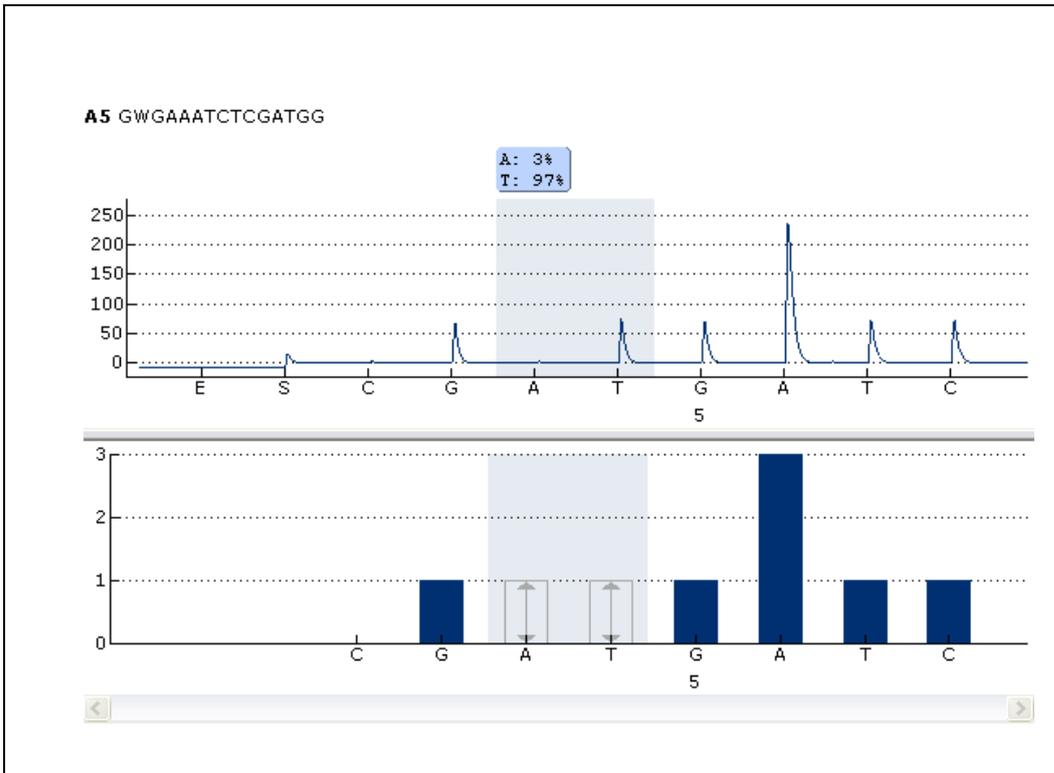


Fig. 44.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 3%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma micropapilar, encapsulado, sin infiltración de márgenes, con buena evolución sin recidivas ni metástasis a distancia. No presenta mutación con un porcentaje de la misma del 3%.

**CASO Nº:** 45 **Nº DE BIOPSIA:** 09 B 916 **NHC:** 359231 **F/N:** 27/12/1960

**F/I:** 19/02/2009 **EDAD:** 48 años **SEXO:** Mujer **ANTECEDENTES PERSONALES:**  
Fumadora, resto sin interés.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar nodular y encapsulado. Tipo incidental.

**TAMAÑO TUMORAL:** 1 x 0'7 cm.

**EXTENSIÓN:** Encapsulado en lóbulo tiroideo derecho. Bordes quirúrgicos libres.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No. **RECIDIVAS:** No.

**TNM:** pT1a, pN0, pM0. **ESTADIO:** I.

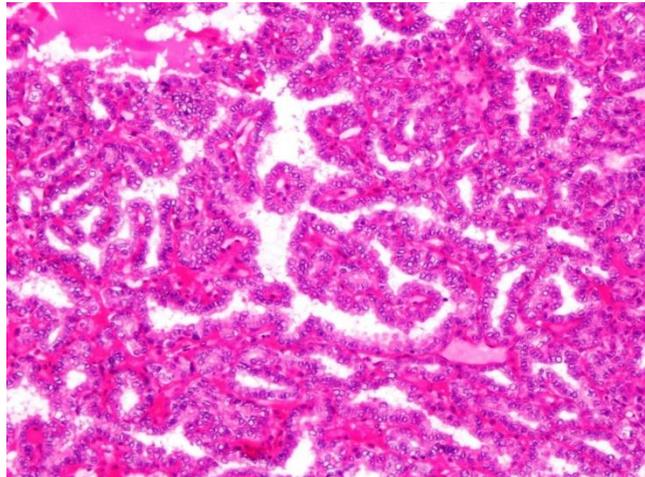


Fig. 45.1. Microcarcinoma papilar.

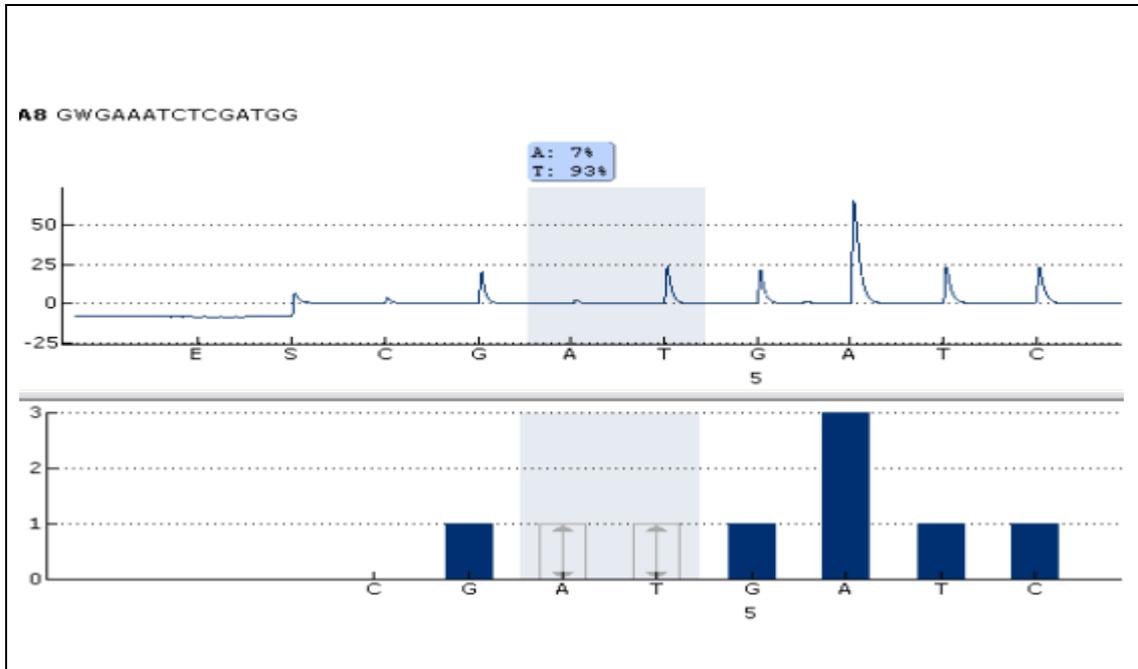


Fig. 45.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 7%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar microcarcinoma incidental, encapsulado. No está mutado. La atipia nuclear es leve.

**CASO Nº:** 46 **Nº DE BIOPSIA:** 09 B 3064 **NHC:** 269613 **F/N:** 10/11/1965

**F/I:** 26/03/2009 **EDAD:** 43 años **SEXO:** Mujer **ANTECEDENTES PERSONALES:**

Hidrocefalia. Doble anexectomía. Intervenida de hernia hiatal, apendicectomía.

Fumadora. **TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar de tiroides incidental e infiltrante. **TAMAÑO TUMORAL:** 0'8 x 0'7cm.

**EXTENSIÓN:** Lóbulo izquierdo, con implante tumoral de 0'6 x 0'5 cm en el mismo

lóbulo. Bordes quirúrgicos libres. **METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:**

No. **RECIDIVAS:** No. **TNM:** pT1a, pN0, pM0. **ESTADIO:** I.

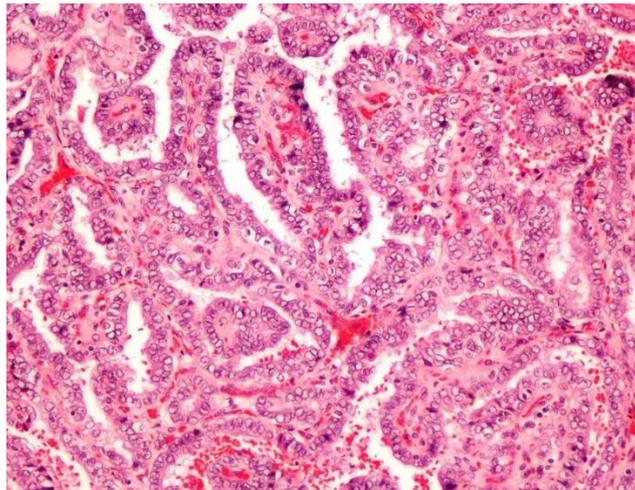


Fig. 46.1. Microcarcinoma papilar.

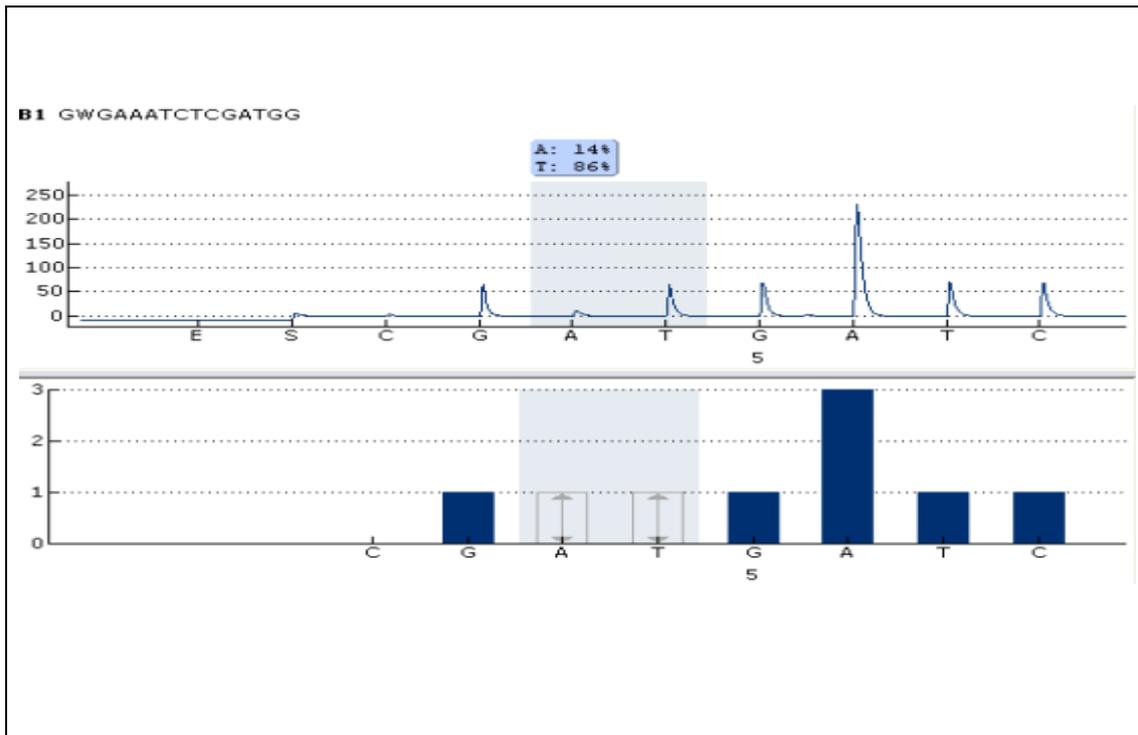


Fig. 46.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 14%).

**Descripción:** Se trata de un microcarcinoma incidental con un microimplante contralateral. Los núcleos atípicos y carece de esclerosis, está bien delimitado e infiltra levemente los límites del tumor. Su estadio es I. Presenta fibrosis y no tiene pink atipia. Aparece mutado en un (14%).

**CASO Nº:** 47 **Nº DE BIOPSIA:** 09 B 7743 **NHC:** 201114 **F/N:** 23/01/1942

**F/I:** 10/07/2009 **EDAD:** 67 años **SEXO:** Mujer

**ANTECEDENTES PERSONALES:** Meningioma benigno, pólipos intestinales, HTA.  
Colelitiasis. Obesidad.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar de tiroides tipo oculto e incidental.

**TAMAÑO TUMORAL:** 0'5 x 0'4 cm.

**EXTENSIÓN:** Lóbulo tiroideo izquierdo, cápsula y bordes quirúrgicos libres.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No. **RECIDIVAS:** No.

**TNM:** pT1a, pN0, pM0. **ESTADIO:** I.

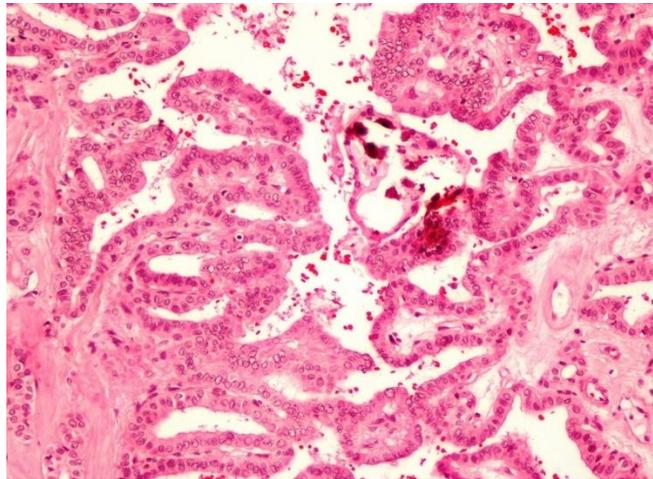


Fig. 47.1. Microcarcinoma papilar con cuerpos de psammoma.

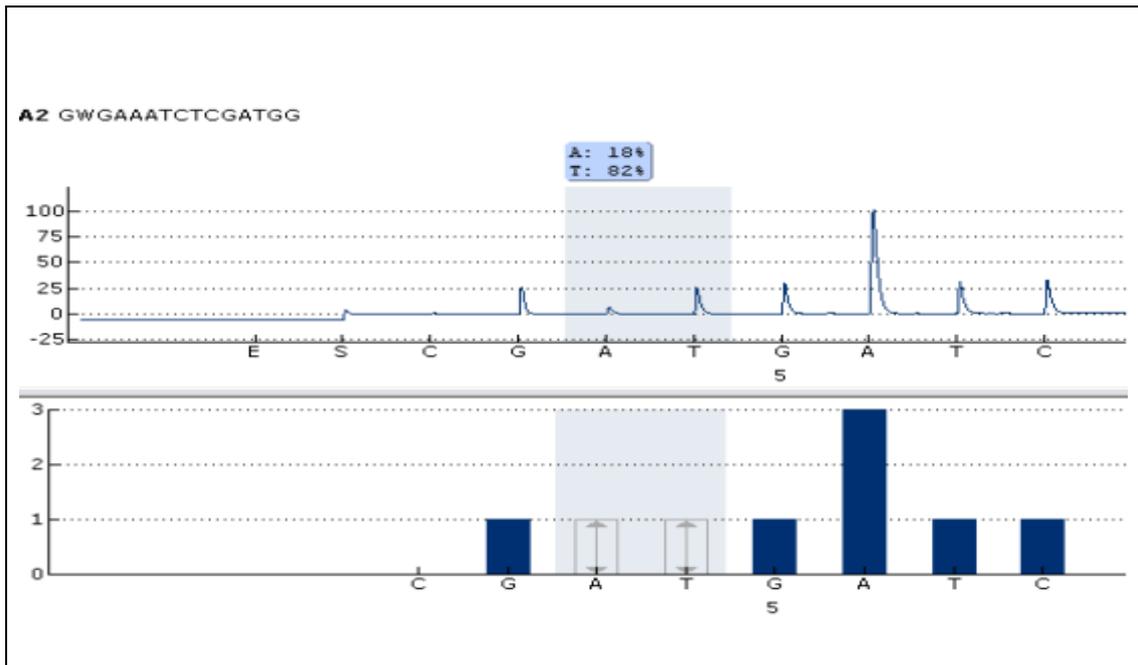


Fig. 47.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 18%)

**Descripción:** Se trata de un microcarcinoma papilar incidental y oculto con tendencia a quístico, con rasgos quísticos. Está encapsulado, la atipia nuclear es escasa aunque tiene pseudoinclusiones, no infiltra bordes, aunque se detecta cierta pink atipia, así como cuerpos de psammoma. Se encuentra mutado en un (18%).

**CASO Nº:** 48 **Nº DE BIOPSIA:** 09 B 13121 **NHC:** 485214 **F/N:** 22/10/1958

**F/I:** 30/10/2009 **EDAD:** 51 años **SEXO:** Mujer

**ANTECEDENTES PERSONALES:** Sin interés. **TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar variante clásica.

**TAMAÑO TUMORAL:** 5 x 4'5 cm.

**EXTENSIÓN:** Localizado en lóbulo tiroideo derecho, afecta bordes quirúrgicos, y tejidos blandos cervicales. Lóbulo tiroideo izquierdo con implante tumoral de 0'4 x 0'3 cm. **METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** Metástasis ganglionar en una adenopatía laterocervical izquierda.

**RECIDIVAS:** En 2011, masa en cartílago cricoides hasta tráquea positiva, en 2011. Radioterapia en 2012, actualmente en tratamiento paliativo. **TNM:** pT4a, pN1b, pM0. **ESTADIO:** IVA.

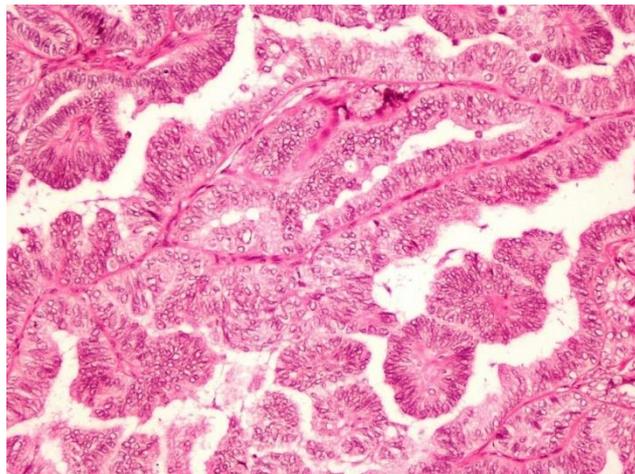


Fig. 48.1. Carcinoma papilar de células altas con zonas de patrón columnar.

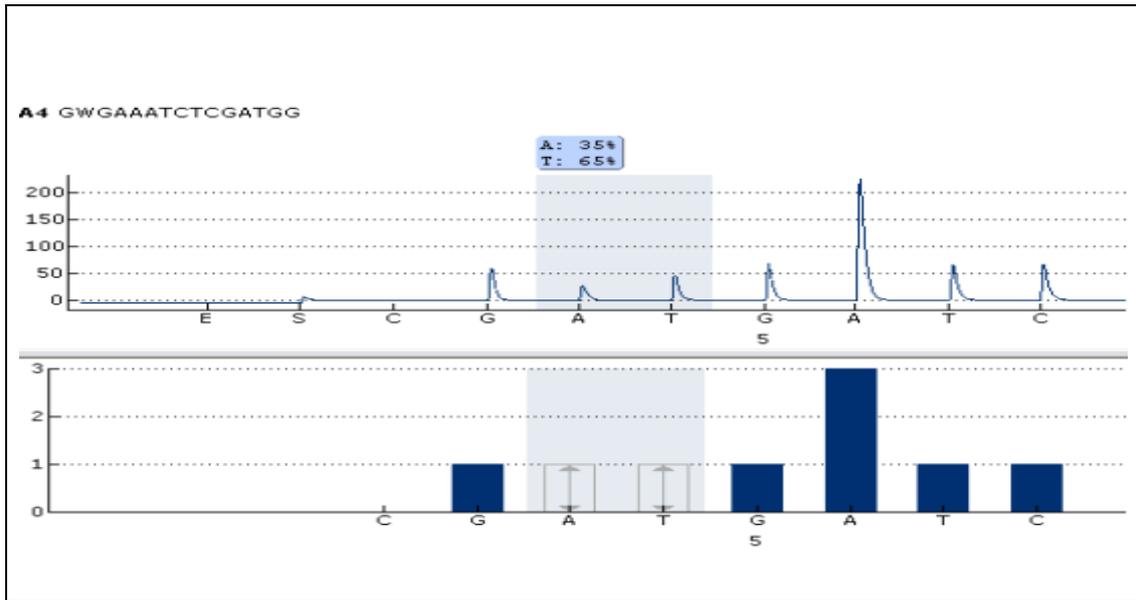


Fig. 48.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 35%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar clásico con aspecto histológico de células altas y abundante zona de aspecto columnar. Muestra esclerosis, marcada atipia nuclear, infiltra bordes del tumor y bordes quirúrgicos. Muestra un comportamiento agresivo con recidivas e infiltración en la tráquea después de dos años de la intervención. Tiene un estadio IVA, así como pink atipia. Aparece mutado en un (35%).

**CASO Nº:** 49 **Nº DE BIOPSIA:** 09 B 14583 **NHC:** 481440 **F/N:** 26/02/1941

**F/I:** 23/11/2009 **EDAD:** 68 años. **SEXO:** Mujer **ANTECEDENTES PERSONALES:** Amigdalectomía, histerectomía total en 1997. **TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar de tiroides variante clásica. **TAMAÑO TUMORAL:** 1'8 x 1 cm.

**EXTENSIÓN:** Oculto. Sin infiltración capsular.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** Sí, adenopatías positivas y masa mediastínica compatible con metástasis de carcinoma. Metástasis pulmonares.

**RECIDIVAS:** No. **TNM:** pT1a, pN1b, pM1. **ESTADIO:** IVC.

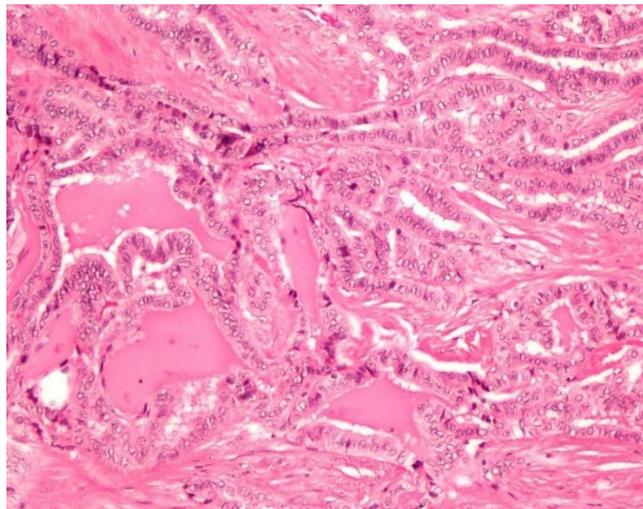


Fig. 49.1. Carcinoma papilar clásico con rasgos de células altas.

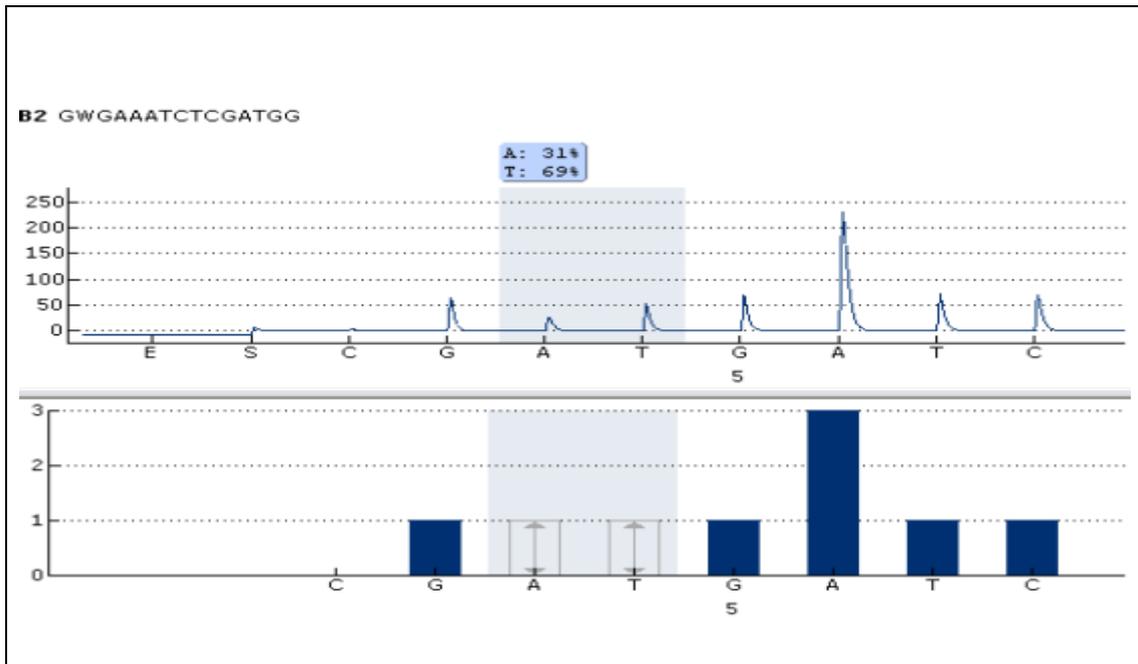


Fig. 49.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 31%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar clásico con rasgos de células altas. Es un paciente mayor y además presenta abundantes signos de agresividad como esclerosis, núcleos atípicos, infiltración de los bordes, metástasis a distancia y disposición subcapsular, así con pink atipia. Aparece mutado en un (31%), siendo su estadio IVC.

**CASO Nº:** 50 **Nº DE BIOPSIA:** 10 B 9319 **NHC:** 3276034 **F/N:** 06/05/1998

**F/I:** 05/08/2010 **EDAD:** 12 años. **SEXO:** Mujer. **ANTECEDENTES PERSONALES:**

Sin interés. **TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar tipo cribiforme-morular.

**TAMAÑO TUMORAL:** 1'3 x 0'8 cm.

**EXTENSIÓN:** En istmo tiroideo y en lóbulo izquierdo. Infiltra cápsula, sin sobrepasarla. **METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** Metástasis ganglionar en compartimentos derecho e izquierdo.

**RECIDIVAS:** No. **TNM:** pT1b, pN1b, pM0. **ESTADIO:** I.

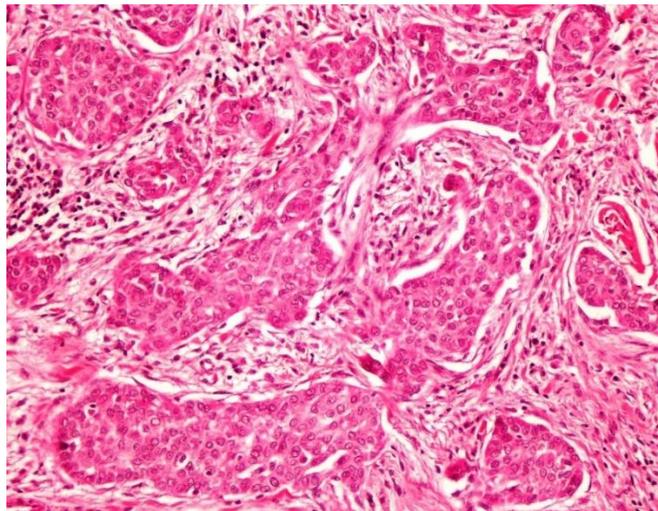


Fig. 50.1. Carcinoma papilar tipo cribiforme-morular.

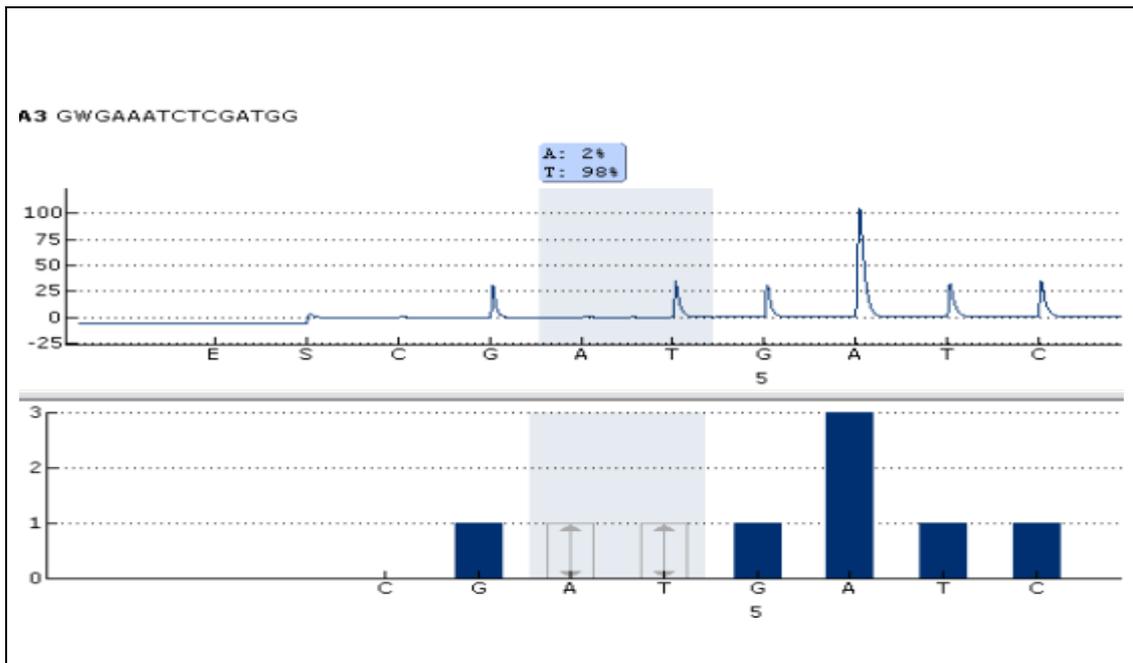


Fig. 50.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 2%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar de tipo sólido, cribiforme, con focos de aspecto morular. Presenta esclerosis, los núcleos son algo atípicos, estando presente la pink atipia. La lesión infiltra a los bordes del tumor y bordes quirúrgicos. Muestra un porcentaje de mutación del (2%) siendo el más bajo de nuestra estadística

**CASO Nº:** 51 **Nº DE BIOPSIA:** 05 B 10498 **NHC:** 119079 **F/N:** 07/06/1931

**F/I:** 17/09/2005 **EDAD:** 74 años. **SEXO:** Mujer.

**ANTECEDENTES PERSONALES:** DMID, nefropatía crónica estadio III. HTA.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar de patrón folicular (56) y otro foco en lóbulo izquierdo con células de Hürthle (56B).

**TAMAÑO TUMORAL:** 1,5 x 1,5 cm en lóbulo derecho y 0'7 cm en el izquierdo.

**EXTENSIÓN:** No encapsulados, con extensión extraglandular muy focal.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No. **RECIDIVAS:** No. Exitus en 2012. **TNM:** pT1b, pN0, pM0. **ESTADIO:** I.

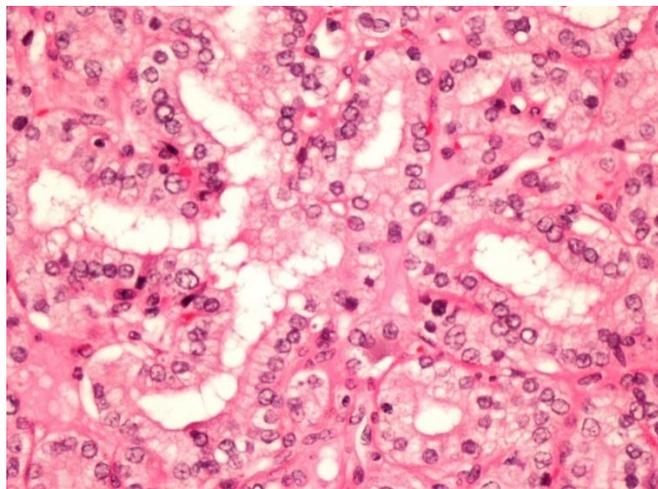


Fig. 51.1. Carcinoma papilar variante folicular.

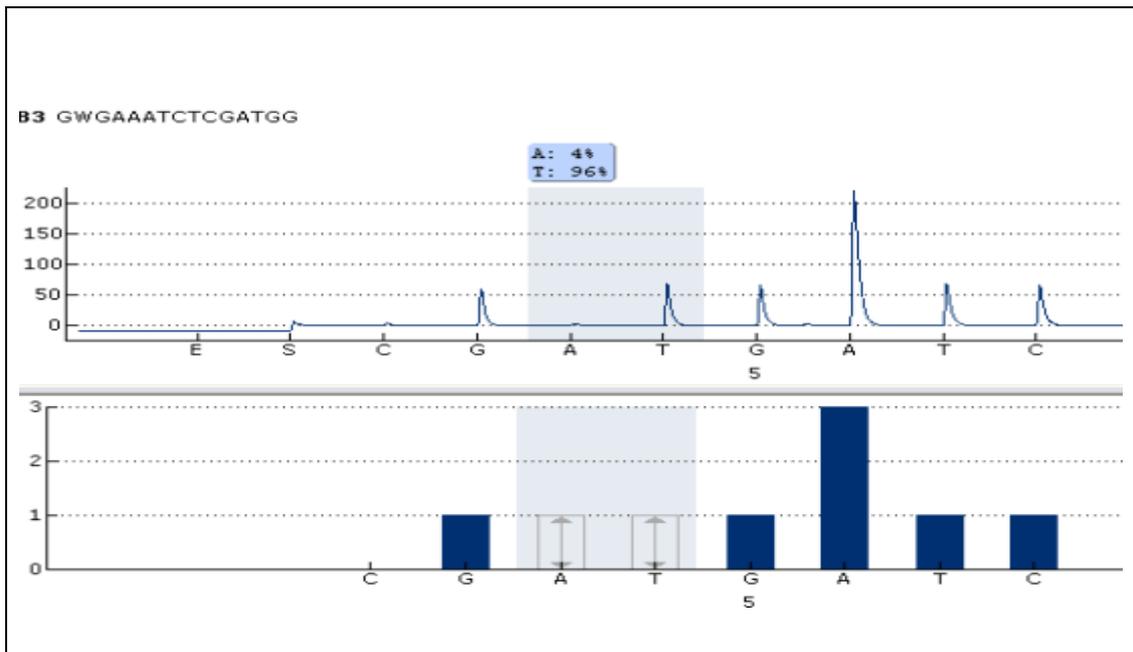


Fig. 51.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 4%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar variante folicular, con atipia nuclear moderada, fibrosis y ausencia de esclerosis. Se rodea de una fina capsula y el tumor respeta los límites periféricos y los bordes quirúrgicos. Su estadio es I, siendo la mutación del (4%).

**CASO Nº:** 52 **Nº DE BIOPSIA:** 06 B 11838 **NHC:** 371249 **F/N:** 27/11/1957

**F/I:** 18/10/2006 **EDAD:** 49 años. **SEXO:** Mujer.

**ANTECEDENTES PERSONALES:** Bronquitis asmática. Sin interés.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar tipo encapsulado. **TAMAÑO TUMORAL:** 1'2 x 0'8 cm.

**EXTENSIÓN:** Localizado en lóbulo derecho. Infiltra localmente el tejido tiroideo vecino y cápsula externa glandular, sin llegar a rebasarla.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No. **RECIDIVAS:** No.

**TNM:** pT1b, pN0, pM0. **ESTADIO:** I.

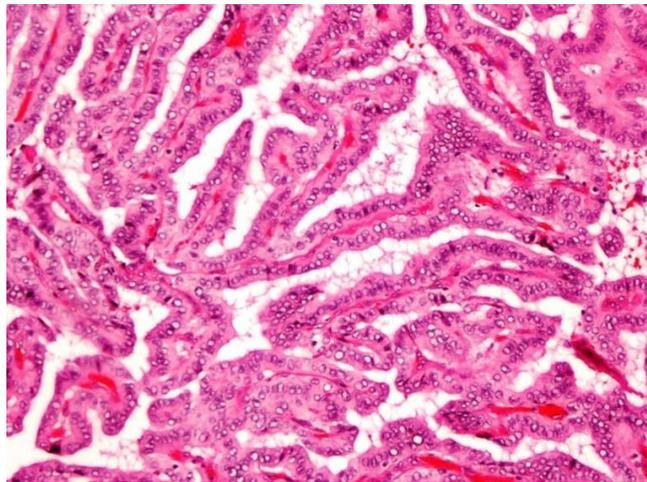


Fig. 52.1. Carcinoma papilar de células altas.

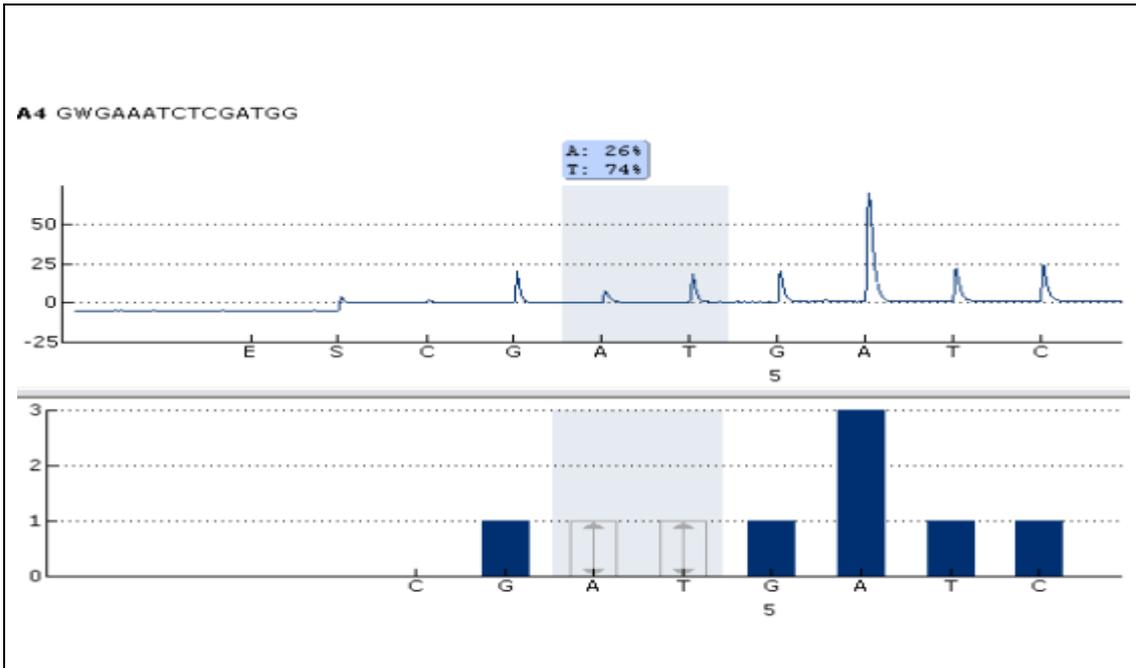


Fig. 52.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 26%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar de células altas, con una mutación del (26%) y rasgos agresivos como atipia nuclear, infiltración de límites tumorales, fibrosis y pink atipia, estando ausente la esclerosis. Sin embargo su estadio es I.

**CASO Nº:** 53 **Nº DE BIOPSIA:** 08 B 4311 **NHC:** 274691 **F/N:** 04/11/1966

**F/I:** 02/05/2008 **EDAD:** 42 años **SEXO:** Mujer

**ANTECEDENTES PERSONALES:** Operada de hernia umbilical en 2007. Operada de mioma uterino en 2000. Amigdalectomizada en 1985. HTA en tratamiento.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar nodular y encapsulado.

**TAMAÑO TUMORAL:** 4'3 x 4 cm.

**EXTENSIÓN:** Lóbulo tiroideo izquierdo, con implante en el mismo lóbulo. No afecta cápsula. **METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No.

**RECIDIVAS:** No. **TNM:** pT4a, pN0, pM0. **ESTADIO:** I

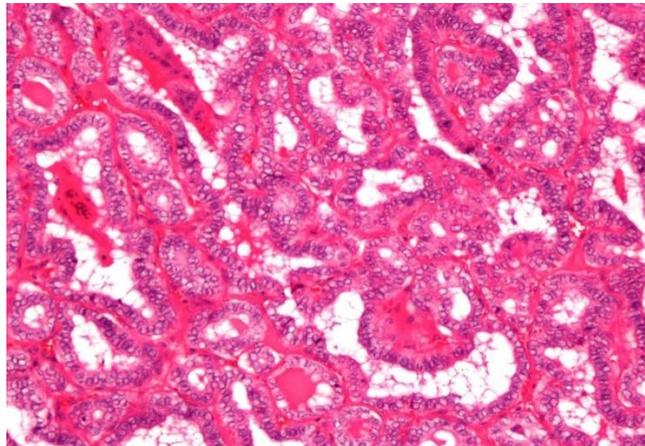


Fig. 53.1. Carcinoma papilar clásico.

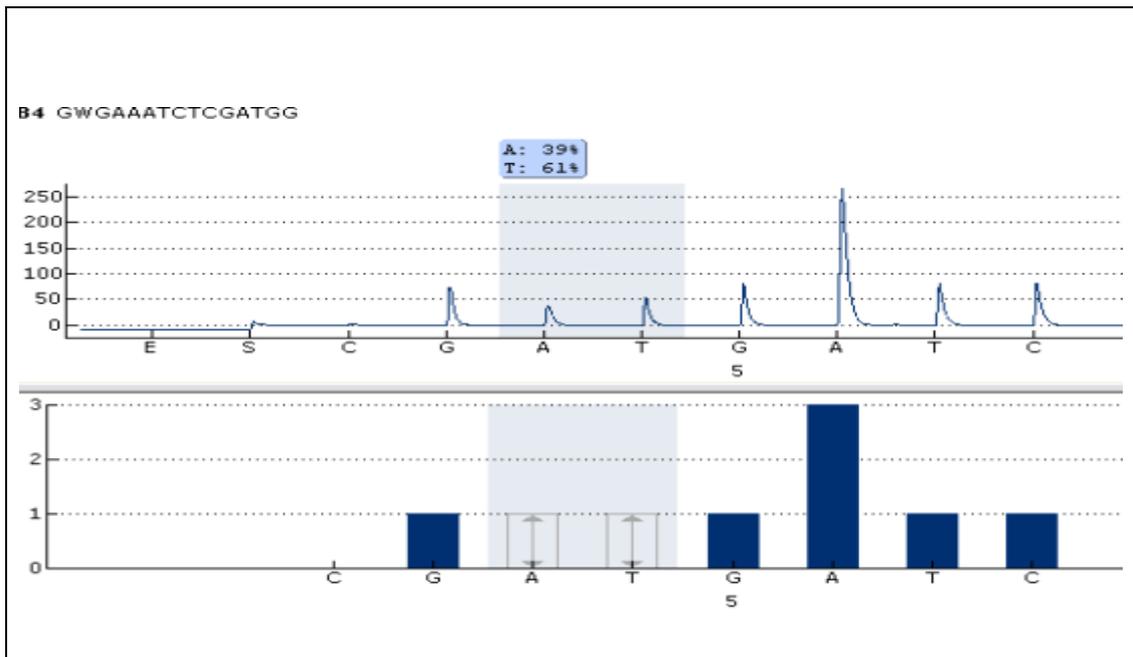


Fig. 53.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 39%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar clásico encapsulado, con implantes tumorales, muestra atipia nuclear, sin pink atipia, siendo su tamaño importante. Sin embargo si estadio es I. A pesar de todo, su mutación es alta (39%).

**CASO Nº:** 54 **Nº DE BIOPSIA:** 08 B 11756 **NHC:** 409646 **F/N:** 16/12/1934

**F/I:** 30/10/2008 **EDAD:** 74 años **SEXO:** Mujer

**ANTECEDENTES PERSONALES:** HTA, insuficiencia renal en estadio IV diagnosticada en 2006, mioma uterino.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar tipo clásico.

**TAMAÑO TUMORAL:** 2'5 x 2 cm.

**EXTENSIÓN:** Implante en mismo lóbulo de 1 x 1 cm, infiltra la cápsula glandular y tejidos blandos, estando libres los bordes quirúrgicos de resección. Lobectomía derecha con implante de 0'8 x 0'8 cm.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No. **RECIDIVAS:** No, vive sana.

**TNM:** pT2, pN0, pM0. **ESTADIO:** II.

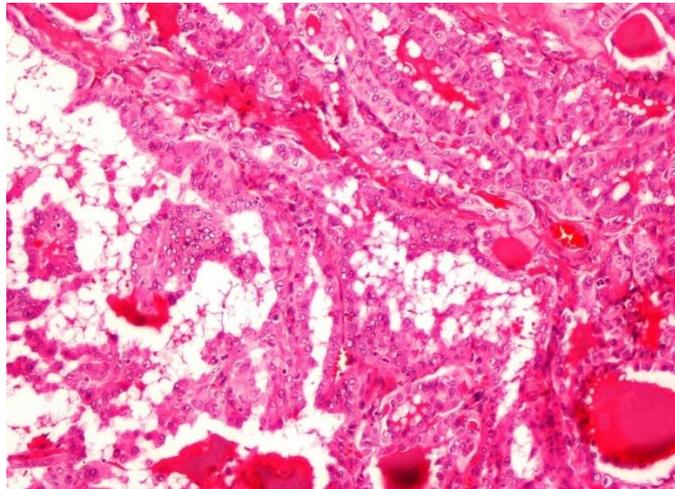


Fig. 54.1. Carcinoma papilar clásico.

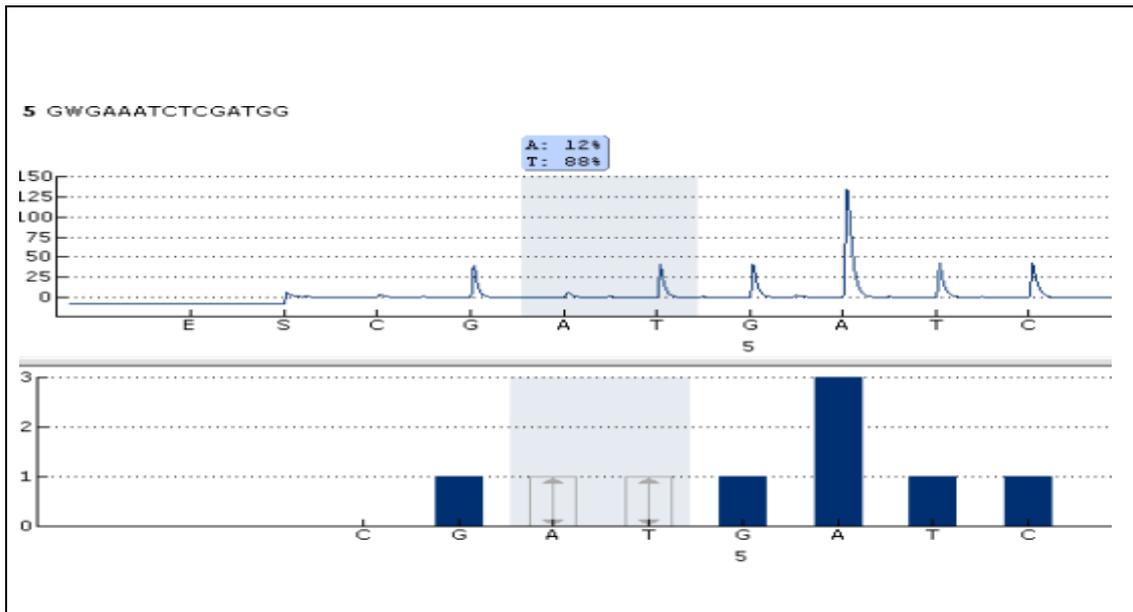


Fig. 54.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 12%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar de tipo clásico, con encapsulación, con infiltración en los límites del tumor sin alcanzar los bordes quirúrgicos y con implante tumoral. Presenta atipia nuclear con pink atipia, fibrosis sin esclerosis. Su tamaño es de 2,5 x 2 cm, siendo su estadio II. Su porcentaje de mutación es del (12%), de comportamiento moderadamente agresivo.

**CASO Nº:** 55 **Nº DE BIOPSIA:** 07 B 10537 **NHC:** 237227 **F/N:** 16/12/1968

**F/I:** 21/09/2007 **EDAD:** 39 años **SEXO:** Mujer

**ANTECEDENTES PERSONALES:** No alergias, sin interés.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar variante folicular y multicéntrico.

**TAMAÑO TUMORAL:** Lesiones que oscilan entre 1'5 y 0'7 cm. Múltiples.

**EXTENSIÓN:** Lóbulo tiroideo izquierdo, sin alcanzar la cápsula. Tiroidectomía derecha negativa. **METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No.

**RECIDIVAS:** No. **TNM:** pT2, pN0, pM0. **ESTADIO:** I.

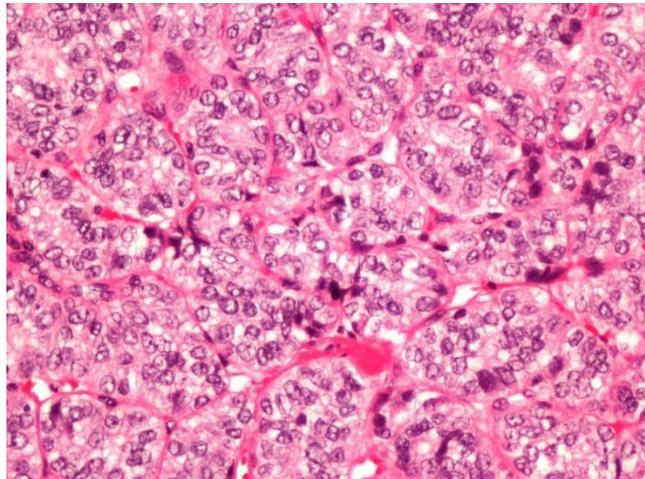


Fig. 55.1. Carcinoma papilar variante folicular.

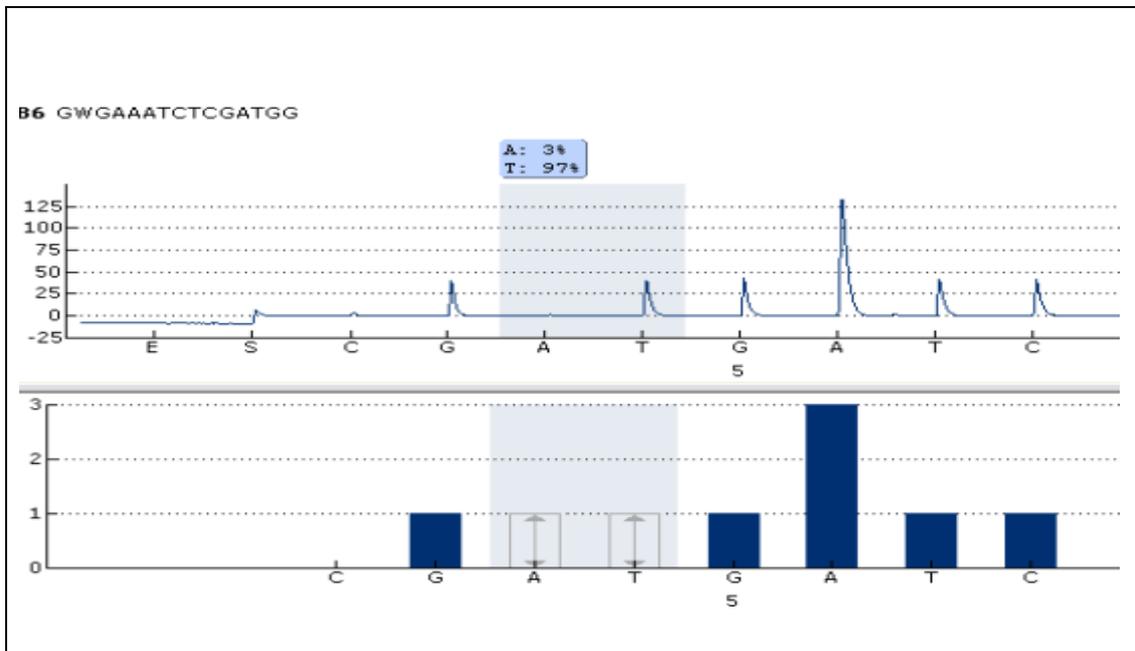


Fig. 55.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 3%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar variante folicular, en parte encapsulado que tiene atipia moderada, estando libres los límites y los bordes quirúrgicos. Llama la atención su multicentricidad. A pesar de lo cual su porcentaje de mutación es del (3%).

**CASO Nº:** 56 **Nº DE BIOPSIA:** 08 B 10031 **NHC:** 289230 **F/N:** 11/04/1955

**F/I:** 09/09/2008 **EDAD:** 53 años. **SEXO:** Mujer

**ANTECEDENTES PERSONALES:** No alergias conocidas. Asma. HTA. Insuficiencia venosa crónica.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar células altas. **TAMAÑO TUMORAL:** 1 x 0'9 cm. **EXTENSIÓN:** Infiltra la cápsula tiroidea sobrepasándola. Lóbulo derecho con implante de carcinoma papilar que no alcanza margen de resección y mide 1'7 x 1'5 cm. **METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No. **RECIDIVAS:** No.

**TNM:** pT4a, pN0, pM0. **ESTADIO:** IVA.

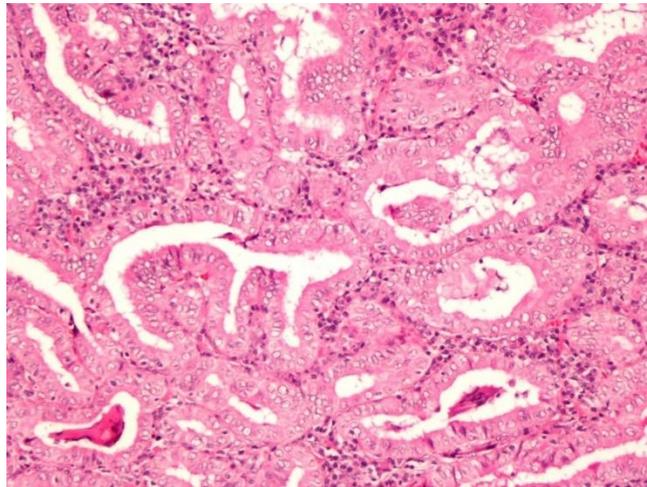


Fig. 56.1. Carcinoma papilar células altas.

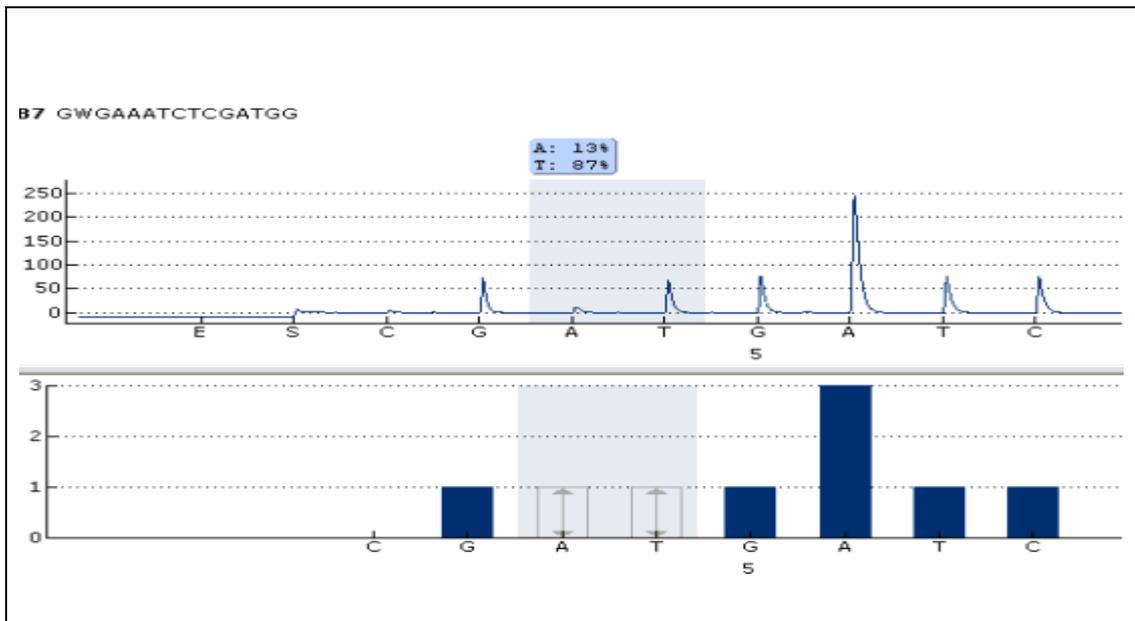


Fig. 56.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 13%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar de células altas con un (13%) de mutación. Sin embargo muestra signos de agresividad como esclerosis, núcleos atípicos, bordes tumorales y quirúrgicos infiltrados. Además presenta implantes contralaterales y un estadio IVA. Se trata de un tumor agresivo con discreto componente oxifílico e infiltrado inflamatorio crónico intratumoral que le da cierto matiz Warthin-like. El tumor coexiste con una tiroiditis crónica inespecífica.

**CASO Nº:** 57 **Nº DE BIOPSIA:** 09 B 1699 **NHC:** 233333 **F/N:** 20/08/1944

**F/I:** 09/03/2009 **EDAD:** 65 años **SEXO:** Mujer

**ANTECEDENTES PERSONALES:** DMNID en tratamiento con ADO. Nefrectomía por tbc. Absceso pancreático intervenido.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar de tiroides de tipo clásico y esclerosante.

**TAMAÑO TUMORAL:** 0'8 x 0'7 cm. **EXTENSIÓN:** En lóbulo derecho. Cápsula libre y márgenes quirúrgicos libres. **METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No.

**RECIDIVAS:** No. **TNM:** pT1a, pN0, pM0. **ESTADIO:** I.

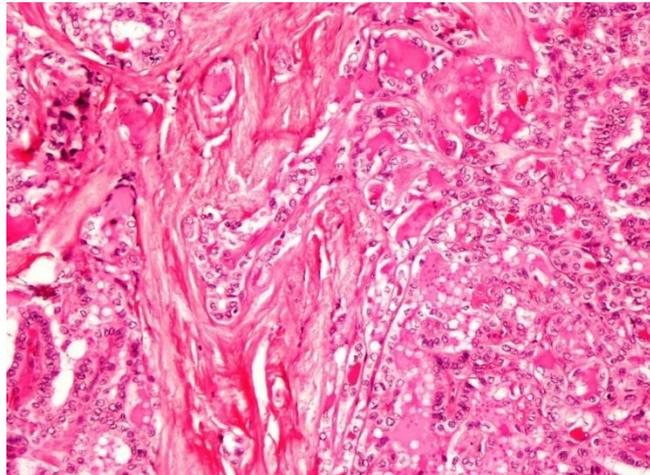


Fig. 57.1. Carcinoma papilar clásico.

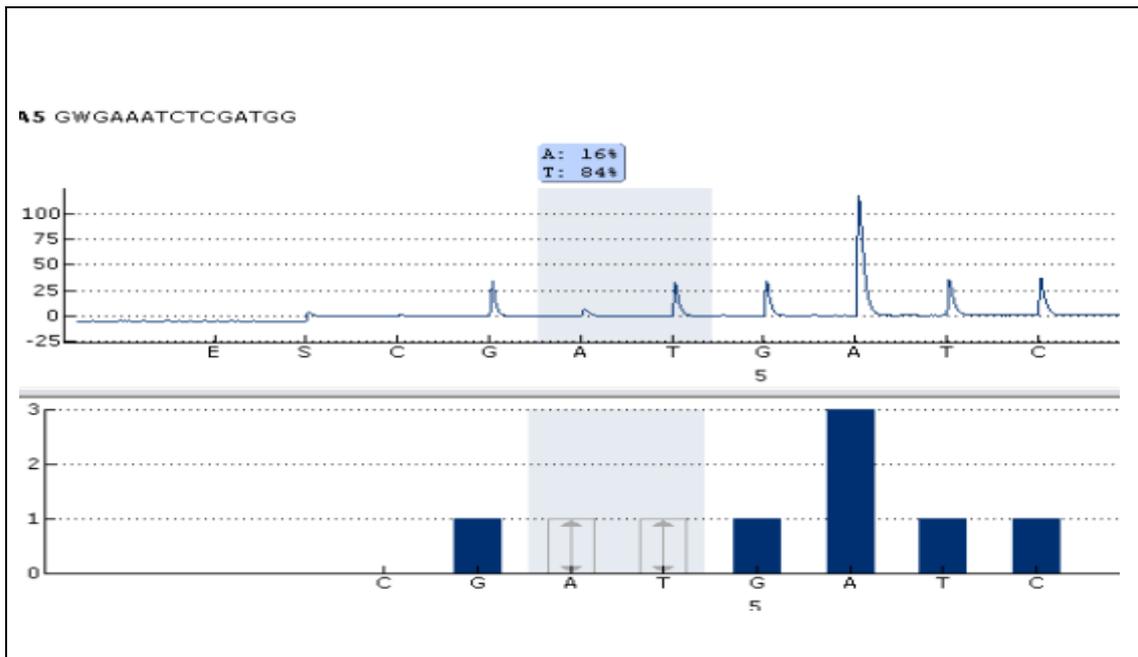


Fig. 57.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 16%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar clásico de pequeño tamaño, de rasgos incidentales, que presenta esclerosis, atipia nuclear, infiltración de los límites del tumor y una disposición subcapsular. Su patrón de crecimiento es moderado, siendo el porcentaje de mutación del (16%).

**CASO Nº:** 58 **Nº DE BIOPSIA:** 09 B 4731 **NHC:** 3362952 **F/N:** 03/04/1962

**F/I:** 05/05/2009 **EDAD:** 47 años **SEXO:** Mujer

**ANTECEDENTES PERSONALES:** Sin interés. Apendicectomizada. Herniorrafia.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar en nódulo único, no encapsulado e infiltrante. **TAMAÑO TUMORAL:** 1'5 x 1 cm.

**EXTENSIÓN:** Infiltra cápsula glandular y dos implantes tumorales en lóbulo izquierdo.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No. **RECIDIVAS:** No.

**TNM:** pT1b, pN0, pM0. **ESTADIO:** I.

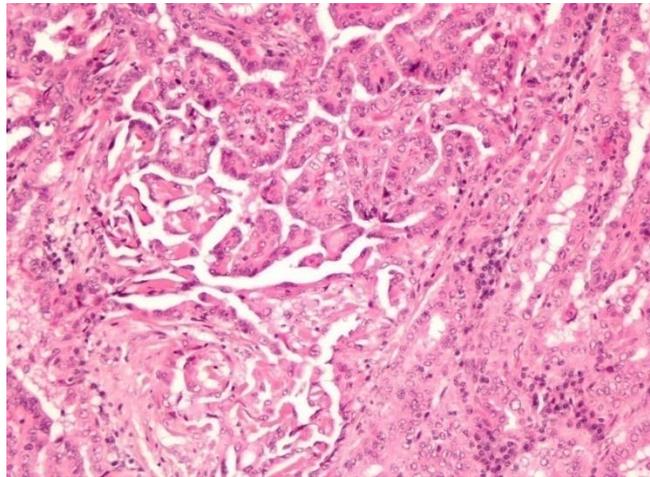


Fig. 58.1. Carcinoma papilar clásico.

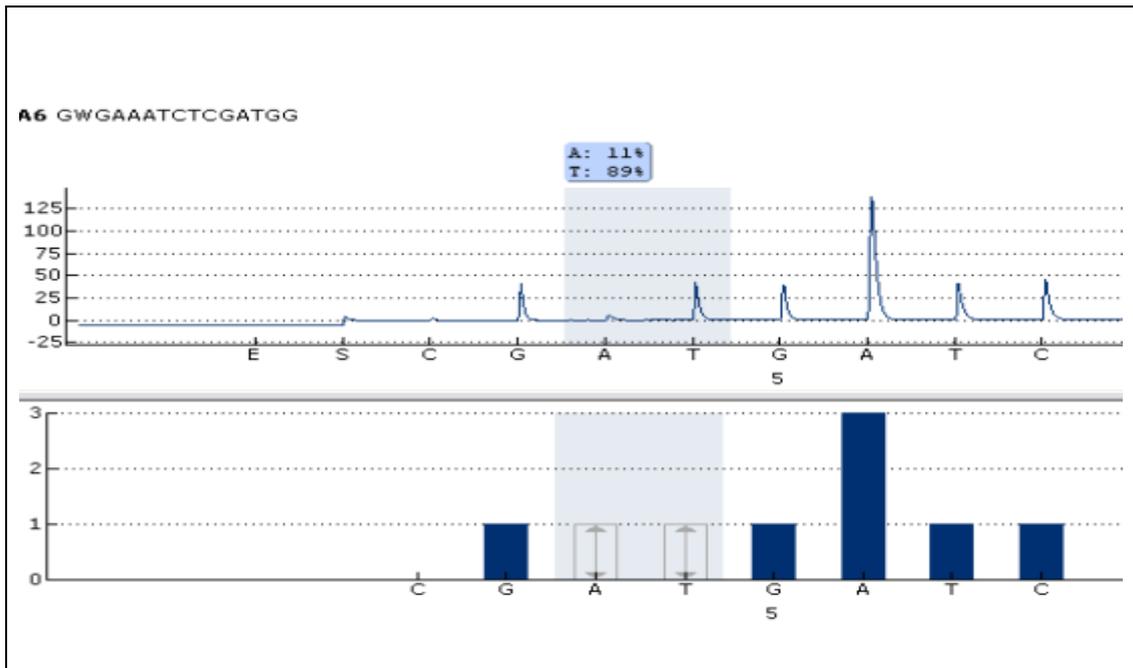


Fig. 58.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 11%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar clásico, subcapsular, con rasgos de Warthin-like al estar en un contexto de tiroiditis crónica y linfocítica. Además muestra esclerosi, atipia nuclear e infiltración de los límites del tumor y quirúrgicos así como, pink atipia positiva. Es un tumor de agresividad evidente con una mutación del (11%).

**CASO Nº:** 59 **Nº DE BIOPSIA:** 09 B 8371 **NHC:** 177136 **F/N:** 01/12/1954

**F/I:** 10/07/2009 **EDAD:** 55 años **SEXO:** Mujer

**ANTECEDENTES PERSONALES:** Histerectomía. Prótesis de cadera derecha.  
Alergia a AINES.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar tipo nodular e infiltrante.

**TAMAÑO TUMORAL:** 1 x 0'8 cm.

**EXTENSIÓN:** Lóbulo tiroideo izquierdo. Afecta borde quirúrgico de resección.  
Implante de 0'3 x 0'3 cm en lóbulo tiroideo derecho.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No.

**RECIDIVAS:** No. **TNM:** pT1a, pN0, pM0. **ESTADIO:** I.

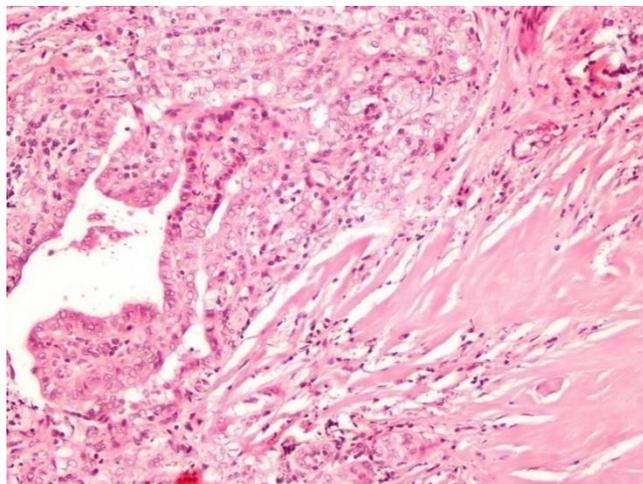


Fig. 59.1. Carcinoma papilar clásico.

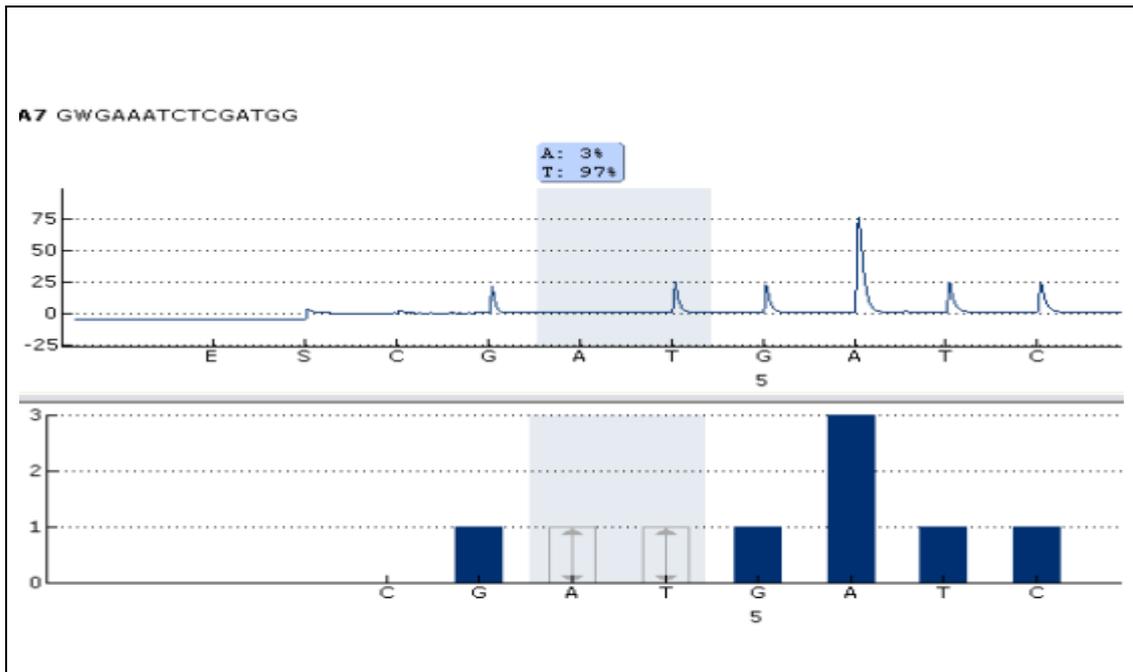


Fig. 59.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 3%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar clásico y esclerosante, con atipia nuclear, pink atipia, e infiltración de los límites del tumor. Siendo su estadio I. Su mutación es del (3%), mostrando abundante calcificación distrófica.

**CASO Nº:** 60 **Nº DE BIOPSIA:** 10 B 5383 **NHC:** 3340051 **F/N:** 27/03/1949

**F/I:** 07/05/2010 **EDAD:** 61 años **SEXO:** Mujer

**ANTECEDENTES PERSONALES:** HTA. Sin interés.

**TIPO HISTOLÓGICO:** Carcinoma papilar. **TAMAÑO TUMORAL:** 2 cm de dimensión máxima. **EXTENSIÓN:** Lóbulo tiroideo izquierdo, implantes en mismo lóbulo. Infiltra cápsula, tejido adiposo y músculo esquelético.

**METASTASIS GANGLIONARES/A DISTANCIA:** No. **RECIDIVAS:** No.

**TNM:** pT1b, pN0, pM0. **ESTADIO:** I.

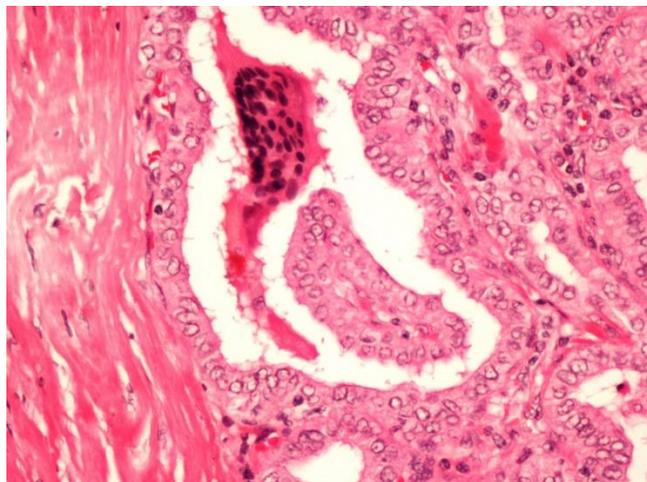


Fig. 60.1. Carcinoma papilar de células altas.

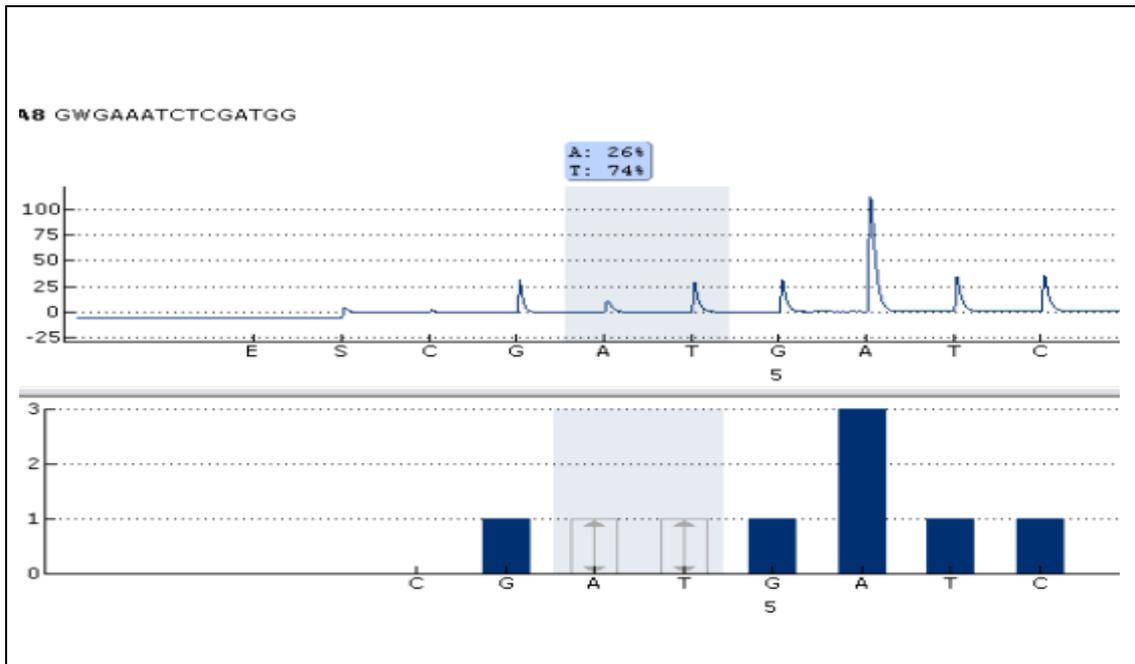


Fig. 60.2. Representación gráfica porcentaje mutación BRAF (T/A: 26%).

**Descripción:** Se trata de un carcinoma papilar de células altas, con una mutación del (26%), subcapsular y encapsulado, presencia de esclerosis, pink atipia, infiltración de límites y bordes quirúrgicos con afectación del musculo estriado cervical, implantes tumorales, siendo su estadio IV. Su mutación coincide con rasgos agresivos.

#### 4.1 RESULTADOS ESTADISTICOS.

El número total de pacientes incluidos en el estudio fue de 60, de los cuales, 33 tuvieron un porcentaje de mutación BRAF superior al 10% (pacientes positivos) y 27 inferior al 10% (pacientes negativos). En la tabla 1 se resumieron las variables del estudio en cada uno de estos dos grupos. En el análisis logístico multivariante, la única variable seleccionada mediante el algoritmo de enumeración completa fue la infiltración Li ( $p < .001$ ; OR = 9.062; IC-95% = 2.49; 32.98). En la tabla 2 se muestra el análisis de la capacidad discriminante de la infiltración Li para la mutación BRAF positiva (% de mutación > 10%). Este análisis muestra la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo del predictor estimados mediante intervalos de confianza al 95%. El análisis del porcentaje de mutación BRAF en escala continua según la presencia/ausencia de cada uno de los factores considerados se resume en la tabla 3 y en la figura 1.

Recogemos, por tanto en este apartado, los Resultados básicos de este trabajo y que se han insertado en la correspondiente base de datos Excel de esta Tesis. Los distribuiremos en Datos generales, Aspectos morfológicos y por último Desarrollo y Evolución del CPT, para terminar con los resultados Estadísticos por apartados.

El número total de pacientes incluidos en este estudio fue de 60, de los cuales 51 casos fueron mujeres (85%) y 9 hombres (15%), siendo la proporción aproximada de 5/1.

Del total de nuestros casos 33 (55%) se consideraron mutados para BRAF al tener un porcentaje superior al 10% de A/T, mientras que el resto 27 (45%) se consideraron no mutados, siguiendo la propuesta de Material y Métodos y de acuerdo con la bibliografía consultada.

Por edades (Tabla 1, Resultados analíticos multivariantes), en el grupo no mutado la mediana de edad fue 55 años (41;67), mientras que para los mutados fue inferior 48 (42;61), no siendo significativa la comparativa entre los grupos  $p=0.618$ . Por otra parte y como otra variable considerados los pacientes mayores de 45 años, estimada esta edad como crítica por la OMS para el Cáncer de Tiroides, 18 casos carecieron de mutación con una media de edad de 66.7 años y 21 casos estaban mutados con una media de 63.6 años. Respecto de la ubicación intraglandular del CPT tiroideo, se describe como significativa la disposición subcapsular del CPT. En nuestra casuística un total de 27 casos (45%) presentaron esta ubicación. De ellos un 54.5 %, es decir 18 casos, se encontraron mutados. No obstante la comparativa de esta disposición entre mutados 18 casos y no mutados 9, no fue significativa con una  $p=0.100$ .

#### **4.1 Variable Implante tumoral:**

En nuestra estadística del total de casos 26 (43%), presentaron esta particularidad, de ellos el 51%, es decir 17 casos mostraron mutación BRAF positiva, y 9 (33.3%) no estaban mutados, siendo el contraste entre los dos grupos de esta variable no significativa con una  $p=0.157$ .

#### **4.2 Variable Pink-atipia:**

Valorando la relación de este signo con la mutación BRAF, encontramos que la presentan un total de 30 casos de 60 (50%), de los cuales 22 (66.7%), estaban mutados, siendo los no mutados 8 (29.6%). Detalle interesante y que en nuestra casuística tuvo un valor significativo  $p=0.004$ .

#### **4.3 Variable Cambios Nucleares:**

Los núcleos atípicos, de acuerdo a los criterios de la bibliografía consultada, se hallaron en un total de 43 casos (72%), considerando los restantes 17 casos de CPT hasta el total de 60, como núcleos con atipia no completa. De los casos con rasgos

nucleares completos 26 (78.8%) están relacionados con la mutación BRAF y 17 (63.3%) no lo estaban, siendo su valor de  $p=0.176$ .

#### **4.4 Variable Encapsulación:**

De nuestros casos 34 (57%) la presentaron, de los cuales 17 estaban mutados (51.7%) y 17 no presentaron la mutación (63.0%), con una  $p=0.373$  no significativa.

#### **4.5 Variable Fibrosis Tumoral:**

La Fibro-esclerosis se da en un 40 de los casos (67%), de los cuales 23 (85.2%) no están mutados y 17 (51.7%), si lo estaban con una  $p=0.006$ , significativa aunque no independiente.

#### **4.6 Variable Esclerosis-Desmoplasia:**

Está presente en un total de 22 casos (37%), de los cuales 17 (51.7%), están mutados y 5 (18.5%) no lo están, siendo la  $p=0.008$  significativa. Tamaño y Estadio Tumoral > I. En tal sentido en nuestra estadística, 19 casos (32%) tenían un Estadio >1, estando los restantes 41 (68%) en el Estadio I. Del grupo que hemos considerado, 14 (42.4%) se relacionan con mutación positiva y 5 no estaban mutados, con una  $p=0.048$ , casi significativa.

#### **4.7 Variable Infiltración de los Límites del Tumor:**

En nuestra casuística este signo de la infiltración del tumor aparece en 41 casos (68%), de los cuales 29 casos (87.9%) resultaron mutados y 12 (44.4%) no presentaron la mutación BRAF, son una  $p<0.001$ . Tratándose de una variable independiente, los valores discriminantes (Tabla 2) para este signos morfológico fueron: Sensibilidad 87.9%, Especificidad 55.6 %, VPP 70.7 % y un VPN de 78.9%.

#### **4.8 Variable Infiltración de Bordos:**

Así, en nuestros casos se dio esta circunstancia en 26 casos (43%), de éstos 18 (54.5%) y 8 (29.6%) no mutados. Este signo infiltrativo límite marca cierta diferencia

del comportamiento futuro respecto al pronóstico tumoral, siendo responsable de las recidivas tumorales. Su  $p=0.053$ , levemente significativa.

#### **4.9 Variable Recidiva Tumoral:**

En nuestro estudio, este dato se dio en 10 casos (16,7%), de ellos en 7 (21.2%) la mutación BRAF fue positiva y 3 (11.1%) no presentaron dicha mutación, con una  $p=0.488$ .

#### **4.10 Variable Metástasis Ganglionares linfáticas:**

Completa el comportamiento de agresividad del tumor, la presencia de metástasis ganglionares linfáticas y las metástasis en órganos vecinos como Tráquea o a distancia en el caso del Pulmón. Hemos valorado solamente la presencia de ganglios linfáticos positivos, independientemente de número de ganglios y de las diferentes zonas cervicales. Nuestra casuística reveló 17 casos con metástasis ganglionares linfáticas (28%), de los que 12 mostraron mutación BRAF positiva (36.4%) y 5 (18.5%) no la mostraron, con una  $p=0.127$ .

#### **4.11 Variable Metástasis a Distancia:**

Respecto a las metástasis a distancia la presentaron un total de 6 casos (10%), la mitad de los cuales estaban mutados, siendo su  $p=1$ .

#### **4.12 Variable Pacientes Fallecidos:**

De nuestra casuística en la fecha de finalización de la recogida de datos, sólo 3 (11.1%) pacientes habían muerto, los tres casos están dentro de los casos no mutados.

Por último, otros hallazgos no significativos pero interesantes, a pesar del tamaño muestral, fueron la asociación del CPT con Tiroiditis crónica inespecífica tipo Hashimoto, en un total de 8 casos (13%), de ellos solo 3 aparecía mutados. Por otra parte, las zonas del CPT con patrón papilar que muestra infiltrado inflamatorio crónico

linfocitario en estroma o también llamada tipo Warthin-like, en diferente intensidad fueron 4 casos (7%), 2 de ellos mutados.

#### **4.2 RESULTADOS ESTADISTICOS POR TIPO HISTOLOGICO. Tabla de Contingencia.**

La mayoría de las publicaciones revisadas por nosotros y recogidas en la literatura coinciden en que el porcentaje de mutación BRAF es superior en algunas variantes histológicas de CPT, lo cual puede ser de valor predictivo, antes de conocer la mutación. En nuestra estadística el porcentaje de casos mutados se centra en determinados tipos histológicos (Tabla de contingencia Tipo Histológico). Nuestra serie mostró los siguientes.

##### **Variante de Células Altas.**

El CPT de células altas (n=10) 16.7% de los casos, la mutación BRAF fue positiva en 8, lo que supone un 24.2 % de los casos mutados.

##### **Variante CPT Clásico.**

Siguiendo la literatura, es la más frecuente de las variantes. Hemos detectado un total de 25 casos (41.7 %). En esta variante por incremento de los tamaños muestrales, hemos incluido por considerarlas similares a los casos de CPT Encapsulados, Esclerosantes y los denominados Quísticos. El 57.6 % de ellos estaba mutado (19 casos), lo que supone el porcentaje mayor, mientras que el 22.2 % (6 casos) no lo estaba.

### **Variante CPT Folicular.**

Nuestros casos aportan un total de 8 pacientes (11.6%) con esta variante, de los cuales 7 (25.9%) aparecen no mutados, suponiendo el 25.9% del total de casos no mutados de nuestra estadística.

### **Variante Microcarcinomas de CPT, encapsulados y/o esclerosantes.**

Hemos hallado un total de 6 casos de CPT Microcarcinomas (10%), la mitad de ellos 3 (11.1%) aparecen mutados.

### **Variante CPT Oxifílico.**

Nosotros hemos hallado 5 casos (8.3%) de esta variante, estando la mayoría no mutados (14.8% de los casos no mutados) y uno solamente mutado.

### **Variante Macrofolicular.**

Hemos encontrado un total de 4 casos de esta variante (6.7%), resultando de ellos no mutados 3 (11.1%). Esta particularidad resulta interesante como posibilidad predictiva, idéntica a la que tienen las variantes Folicular y la de células de Hürthle.

### **Variante Cribiforme.**

Solo aportamos un caso de una paciente de 13 años de edad que mostró tamaño mayor de 2 cm y metástasis ganglionares linfáticas en el momento del diagnóstico, siendo negativa para la mutación BRAF.

### **Variante CPT poco Diferenciado.**

Un solo caso de una paciente mujer de edad avanzada (caso nº 13) que resultó igualmente negativa para la mutación.

### **4.3 RESULTADOS DEL ANALISIS DEL PORCENTAJE DE LA MUTACION BRAF EN ESCALA CONTINUA.**

Hemos seleccionado aquellas variables que por su tamaño muestral puedan ser valoradas como significativas, excluyéndose aquellas cuyas frecuencias en cualquier grupo fueron menores de 10. Los resultados se recogen en la Tabla 3. Los datos se muestran en Medianas (IQR) y las frecuencias de porcentajes en las columnas de mutación BRAF presente o ausente, es decir positiva vs negativa. Comenzaremos por las que resultaron significativas. Los gráficos de Caja para comparativa de porcentaje de mutados/no mutados o presente/ausente para la mutación se recogen en las Figs. (1a y 1b).

#### **Variable Infiltración de los límites del Tumor.**

En general de los 60 casos de nuestra serie, 33 estaban mutados (55%) con un rango de frecuencia que oscila entre 11 y 42%, que correspondían a un CPT Clásico y a un CPT de Células altas, respectivamente. Nuestro estudio reveló que de los 41 casos que mostraron la infiltración de los límites tumorales, 29 estaban mutados (según resultados previos del Análisis logístico multivariante, ya señalados anteriormente) y para el presente estudio la mediana, para los mutados es de 16 con IRQ (7; 26), mientras que para los no mutados la tendencia fue mucho menor, con una mediana de 4 (3; 7), lo que da una  $p=0.001$ .

#### **Variable Pink-atipia.**

La siguiente variable se refiere a la denominada Pink Atipia o Plump Pink cells. Esta característica la presentaron 30 casos (50%) de la casuística, de los que 22 (66.7%) estaban mutados. En nuestro estadístico de medianas (IQR), para reconocer la

tendencia del porcentaje por su mediana entre el grupo Presente/Ausente referido a la mutación en los 30 casos que presentaron esa particularidad, en el primero o positivo para mutación la mediana es de 20.5 (7; 30), se sitúa por tanto el porcentaje de presentación sobre una cifra del 20.5%, alta en cualquier caso para 22 casos, mientras que en los Ausentes o no mutados, la mediana esta en 4.5 (3;13), cifras mucho menores por tanto, lo que da una  $p=0.003$ , significativa.

De las siguientes variables a considerar, dos están relacionadas entre sí que son las denominadas Fibrosis y la Esclerosis.

#### **Variable Fibrosis.**

Según nuestros resultados de componente poco reactivo o antiguo, aparece en 40 casos (67%) del total, de los que están mutados 17 (51.7%) y no mutados 23 (85.2%). Si pasamos al estadístico de porcentajes, vemos que respecto de la Fibrosis en los casos mutados la mediana es de 6 (3; 17.5) y por el contrario en los casos no mutados es de 20.5 (11; 31). La representación gráfica de este contraste nos da la idea de la menor frecuencia de la variable  $p=0.006$ .

#### **Variable Esclerosis-Desmoplasia.**

Aparece en el estadístico de multivariantes (Tabla 1) en 22 casos, de ellos 5 (18.5%) no mutados y 17 (51.7%) mutados con una  $p=0.008$ . En nuestro estudio de porcentaje para los mutados mostró valores de 20.5 (11,31) y para los no mutados 6 (3,17) con  $p=0.009$ .

#### **Variable Estadio > I.**

Presentaremos ahora una variable que se aproxima a una significación estadística, que es el Estadio >1. Entonces, referido más bien  $T>1$ . Esta variable presenta 19 casos del total de 60, es decir que 41 se corresponden con CPT que miden <2 o menos cm y

están limitados al Tiroides. En el descriptivo del análisis multivariante (Tabla 1), de los 19 casos citados 14 aparecen mutados (42.4%) y 5 no están mutados (18.5%).

Respecto del análisis de porcentaje con la representación gráfica de cajas, se demuestra que para los casos mutados o presente, la mediana es 18 (9;31) y para los no mutados o ausente fue de 7 (3;18), siendo la  $p=0.025$ , con una buena aproximación a la significación estadística. Quedan por presentar en estos Resultados, las variables que no resultaron significativas, probablemente por dificultad en el tamaño muestral.

#### **Variable Bordes quirúrgicos.**

Los Bordes quirúrgicos, dato importante por el factor pronóstico al verse afectada la cápsula glandular y ocupar el tumor partes blandas cervicales. Para nuestros resultados y en el estudio de análisis logístico multivariante, los bordes afectados estaban en 26 casos (43.3%), de los cuales estaban mutados 18 (54.5%) y 8 no lo estaban (29.6%), siendo el contraste de ambos grupos de una significación casi positiva  $p=0.053$ . Para nuestro estudio de análisis de porcentaje de BRAF en escala continua y según la representación de Cajas, los valores de mediana para los mutados fue de 15 (7;31) y para los no mutados de 6.5 (3;18), con una significación para  $p=0.063$ .

#### **Variable CPT Encapsulados.**

En nuestro estudio multivariante, el total de casos con esta condición fue de 34 (57%), de los cuales 17 estaban mutados (63%) e idéntica cifra 17 (51.7% de los 33 mutados en general), lo cual no da diferencia significativa,  $p=0.373$ . Respecto del análisis del porcentaje de la mutación, la cifra de mediana de mutados esta en 9 (4; 26), mientras para los no mutados fue superior 11.5 (4; 18), con unas graficas de Cajas significativas, dando por hecho que la mediana de no mutados estaba más alta, aunque no significativa  $p=0.89$ .

### **Variable disposición Subcapsular.**

La disposición subcapsular es otra característica que poseen muchos PTC tiroideos. En nuestro estudio multivariante, la disposición subcapsular apareció en 27 casos (45%), de los cuales 18 (54.5%) estaban mutados y 9 (33.3%) no lo estaban. Del contraste de ambos factores se desprende que la variable subcapsular no es significativa,  $p=0.100$ . Para el estudio de análisis de porcentaje y representación gráfica de Cajas, la mediana de casos mutados fue 12 (5; 23) y para los no mutados fue de 7(3; 26), no siendo significativa  $p=0.708$ .

### **Variable Implante tumoral.**

Para nuestro análisis logístico multivariante, la característica Implante tumoral se presentó en 26 casos (43.3%). Como es de esperar los casos mutados presentaron mayor número de implantes con 17 (51.5%), mientras que para los no mutados se dieron en 9 (33.3%), aunque coincidente con la idea de peor pronóstico, sin embargo, no fue significativa  $p=0.157$ , posiblemente por el tamaño muestral. Respecto del análisis de porcentaje de la mutación BRAF, la mediana de los mutados es 15 (3; 26), y de 8 (4; 18) para los no mutados, siendo no significativa  $p=0.337$ , lo que se aprecia claramente en el gráfico de Caja correspondiente, cuya líneas coinciden con el carácter agresivo de los tumores con BRAF mutado, aunque estadísticamente no significativo, probablemente por el tamaño muestral.

### **Variable Recidiva Tumoral.**

Para la variable recidiva, considerándose para ella los casos reintervenidos por restos neoplásicos o por aparición de nuevos ganglios linfáticos positivos, se dio solamente en 10 casos (16.7%) con predominio en los casos mutados en 7 casos (21.2 %). Para el análisis de porcentaje, las cifras fueron de 17.5 (4; 26) para los mutados y de 11(9;

18) para los no mutados, lo que da una  $p=0.385$  no significativa. No obstante, se aprecia en el gráfico de cajas la mayor tendencia a mostrar recidivas en los casos mutados.

#### **Variable Metástasis Ganglionares linfáticas.**

Por último, se valoró la relación entre la presencia de metástasis ganglionares linfáticas regionales en los casos de PTC. Para el estudio multivariante, la variable metástasis se dio en un total de 17 casos (28.4%), 12 mutados (36.4%) y 5 no mutados (18.5%) con una  $p=0.127$ . Por otra parte, para el análisis del porcentaje de la mutación BRAF, mostró unos datos de 18 (4; 26) para los mutados de 9 (4; 18) para no mutados,  $p=0.338$ .

CODIGOS DE TABLA GENERAL DE RESULTADOS.

- A. Número de caso.
- B. Número de la extracción de DNA
- C. Número de la Biopsia.
- D y E. Tipo histológico: Clásico: 2, Poco diferenciado: 1, Células altas: 3, Hürthle: 4, Variante folicular: 5, Macrofolicular: 6, Microcarcinoma: 7, Cribiforme:8.
- F. % Mutación BRAF.
- G. Reagrupacion % (1: >9% no mutado, 2: 10-25% mutado, 3:>25%)
- H. Grupos por mutación: 1, No mutado. 2, mutado.
- I. Sexo. 1. Mujer. 2 Hombre.
- J. Edad.
- K. Edad por grupos. 1. < 45 años. 2. > de 45 años.
- L. Esclerosis (Desmoplasia): SI (1); No (2).
- M. Atipia nuclear de Ca. Papilar: Pseudoinclusión, Groove, irregularidad membrana, nuclear y nucléolo prominente. SI (1). Atipia moderada o incompleta (2).
- N. Infiltra los límites del tumor: SI (1), NO (2).
- O. Bordes quirúrgicos. Infiltra cápsula glandular y tejidos blandos extratiroideos: SI (1), NO (2).
- P. Metástasis ganglionares linfáticas: SI (1), NO (2).
- Q. Metástasis a distancia, en otros órganos: SI (1), NO (2).
- R. Recidivas tumorales; SI (1), No (2).

- S. Estadío: I, II, III, IV... (1, 2, 3, 4)
- T. N° de mitosis por 10 campos x40.
- U. Fibrosis. SI (1), NO(2). Es lo contrario de la esclerosis.
- V. Implantes tumorales dentro del Tiroides, en cualquiera de los lóbulos o istmo.  
SI (1), NO (2).
- W Tamaño del tumor. 1: 0-2 cm, 2: >2-4 cm, 3: > 4 cm.
- X. Pink atipia Citoplasma atípico alto con eosinofilia, relacionado con zonas infiltrantes. SI (1), No (2).
- Y. Cuerpos de Psammoma: SI (1), NO (2).
- Z. Exitus. SI (1), NO (2).
- AA. Tumor encapsulado: SI (1), NO (2).
- AB. Coincide con Hashimoto en el Tiroides vecino: SI (1), NO(2).
- AC. Subcapsular. Disposición debajo de la capsula glandular tiroidea. SI (1),  
NO (2).
- AD. Muestras zonas tipo Warthin: SI (1), NO (2).

-Resultados-

Caso	Nº Ext	Nº Biospia	Tip Histol	Tip Hist	Pyro%	%grupos	% grupo	Sexo	Edad	Edad 2	Esclerosis	Nucle A	Infiltra U	Bordes Q	Met G	Met D	Recidiva	Estadio+	Mitosis	Fibrosis	Implante	Tamaño	Pinkatip	Psammo	EXITUS	Encapsu	ashimos	subcapsule	Warthin
1	1	06B1777	Poco differ	1	4	1	1	1	73	2	2	1	1	1	1	1	1	4	4	1	2	3	2	2	2	1	2	2	2
2	2	05B14612	Clasico	2	23	3	2	1	65	2	1	1	1	1	1	2	2	3	1	2	1	2	1	2	2	1	2	1	2
3	3	06B7574	Cel altas	3	26	2	2	1	66	2	1	1	1	1	2	1	4	1	2	1	2	1	2	2	1	2	1	2	
4	4	12B16046	Clasico	4	3	1	1	1	48	2	2	2	2	2	2	2	2	1	3	1	2	1	2	2	1	2	1	2	
5	5	12B2226	Clasico	2	12	2	2	1	59	2	2	1	2	2	2	2	2	1	2	1	2	1	2	2	1	2	1	2	
6	6	07B14583	Clasico	2	4	1	1	1	58	2	2	1	2	2	2	2	2	1	0	1	1	1	1	2	2	1	2	2	2
7	7	09B8385	Clasico	2	18	2	2	1	29	1	1	1	1	1	1	2	2	1	0	2	2	2	1	1	2	2	2	1	2
8	8	10B11564	Clasico	2	26	3	2	1	47	2	1	1	1	2	1	1	2	2	0	1	2	3	1	2	2	2	2	2	2
9	9	13B5232	Clasico	2	3	1	1	2	35	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	3	2	1	2	2	2	2	2
10	10	08B8026	Hürthle	4	9	1	1	1	45	2	2	2	1	1	2	2	2	1	0	1	2	1	2	2	2	1	1	1	
11	11	06B10979B4	Clasico	2	11	2	2	2	58	2	2	1	1	1	1	2	2	4	0	1	1	1	1	2	1	2	2	1	2
12	12	08B4337A11	Folicular	5	3	1	1	1	58	2	2	2	1	1	2	2	2	1	0	1	1	1	1	2	2	2	2	1	2
13	13	08B1227483	Cel altas	3	7	1	1	1	82	2	1	1	1	1	2	2	2	4	0	2	2	3	1	2	1	2	2	2	2
14	15	08B13085A3	Clasico	2	12	2	2	1	42	1	2	1	2	2	2	2	2	1	0	1	2	1	1	2	2	2	2	1	2
15	18	09B12397A1	Folicular	5	4	1	1	1	36	1	2	1	2	2	2	2	2	1	0	1	2	1	2	2	2	1	2	2	2
16	19	10B3017A3	Folicular	5	3	1	1	1	41	1	2	1	2	2	2	2	2	1	1	1	2	1	1	2	2	1	2	2	2
17	20	10B13491A2	Microcarci	7	4	1	1	1	69	2	2	1	2	2	2	2	2	1	1	1	2	1	1	2	2	1	2	1	2
18	22	10B16448	Clasico	2	33	3	2	1	43	1	2	2	1	1	1	2	2	1	0	1	1	1	1	2	2	1	2	2	2
19	23	10B16510A7	Clasico	2	33	3	2	1	49	2	2	1	1	1	2	2	2	2	0	1	2	2	2	1	2	1	2	2	2
20	25	11B3564B2	Cel altas	3	11	2	2	1	35	1	1	1	1	1	1	2	1	1	0	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2
21	26	11B14197A2	Clasico	2	35	3	2	2	40	1	1	2	1	2	2	2	2	1	0	2	2	1	1	2	2	1	2	2	2
22	27	11B13538A5	Hürthle	4	3	1	1	1	79	2	2	2	2	2	2	2	2	1	0	1	2	1	1	2	2	1	2	2	2
23	28	12B14098	Macrofolic	6	4	1	1	2	65	2	2	1	2	2	2	2	2	1	0	1	2	1	2	2	2	1	2	2	2
24	29	12B17072	Hürthle	4	7	1	1	1	55	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	2	1	2	2	2	1	2	2	2
25	30	12B17447	Clasico	2	30	3	2	1	35	1	2	1	1	1	2	2	2	1	2	1	2	2	1	2	2	1	2	2	2
26	31	13B96156	Folicular	5	4	1	1	2	56	2	2	1	2	2	2	2	2	1	0	1	2	1	2	2	2	1	2	1	2
27	32	13B6971	Microcarci	7	3	1	1	1	57	2	2	1	2	2	2	2	2	1	0	1	2	1	2	2	2	1	2	2	2
28	33	13B7563	Folicular	5	23	2	2	1	44	1	2	2	1	2	2	2	2	1	0	1	1	1	1	2	2	1	2	1	2
29	34	13B9031	Clasico	2	5	1	1	2	45	2	2	1	1	2	2	2	2	1	2	1	2	1	2	2	1	2	2	2	2
30	35	13B9428	Microcarci	7	11	2	2	1	47	2	1	1	1	1	2	2	2	1	0	2	2	1	2	2	2	1	2	1	2

**-Resultados-**

Caso	Nº Ext	Nº Biopsia	Tip Histol	Tip Hist	Pyro%	%grupos	% grupo	Sexo	Edad	Edad 2	Esderosis	Nude A	Infiltra Li	Bordes Q	Met G	Met D	Recidiva	Estadio+	Mitosis	Fibrosis	Implante	Tamaño	Pinkati p	Psammo	EXITUS	Encapsu	ashimot	ubcapsula	Warthin I
31	36	05 B 4916	Clasico	2	3	1	1	1	30	1	2	1	1	2	1	2	2	1	0	1	2	1	2	1	2	1	2	2	
32	37	05 B 11359	Clasico	2	31	3	2	1	37	1	1	1	1	1	1	1	1	2	0	2	1	2	1	2	2	2	2	1	2
33	38	05 B 13826	Clasico	2	24	2	2	1	46	2	1	1	1	2	2	2	1	1	0	2	1	1	1	2	2	2	2	1	2
34	39	05 B 14094	Macrofoli	6	3	1	1	2	34	1	2	1	2	2	2	2	2	1	0	1	2	3	2	2	2	1	2	2	2
35	40	06 B 10536	Folicular	5	3	1	1	1	78	2	2	1	1	1	1	1	1	4	10	1	1	3	1	2	2	2	2	1	2
36	41	06 B 10964	Macrofoli	6	3	1	1	1	76	2	2	1	1	2	2	2	2	2	0	1	1	2	2	2	1	1	1	2	2
37	42	06 B 11590	Macrofoli	6	18	2	2	1	40	1	2	1	1	2	2	2	2	3	1	1	1	2	2	2	2	1	2	2	2
38	43	07 B 8195	Clasico	2	17	2	2	1	54	2	2	1	1	1	2	1	3	0	1	1	1	1	2	2	2	2	1	2	2
39	44	07 B 6045	Hürthle	4	3	1	1	1	42	1	2	2	2	1	2	2	1	3	0	1	1	1	2	2	2	1	2	2	2
40	45	07 B 10279	Hürthle	4	18	2	2	1	67	2	2	2	1	2	2	2	1	1	5	1	1	1	1	2	2	1	2	1	2
41	46	07 B 11419	Cel altas	3	42	3	2	2	48	2	1	1	1	1	2	2	2	3	0	2	1	2	1	2	2	2	2	2	2
42	47	07 B 14584	Cel altas	3	34	3	2	1	73	2	1	1	1	1	2	2	2	3	4	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2
43	48	08 B 9081	Clasico	2	13	2	2	2	40	1	2	2	1	2	1	2	2	1	0	1	2	1	2	2	2	2	2	2	2
44	49	08 B 8226	Cel altas	3	6	1	1	1	43	1	1	1	1	2	2	2	2	1	0	2	2	1	1	2	2	2	1	1	1
45	50	09 B 916	Microcarí	7	7	1	1	1	48	2	2	2	2	2	2	2	2	1	0	1	2	1	2	2	2	1	2	2	2
46	51	09 B 3064	Microcarí	7	14	2	2	1	43	1	2	1	1	2	2	2	2	1	0	1	2	1	2	2	2	2	2	2	2
47	52	09 B 7743	Microcarí	7	18	2	2	1	67	2	2	2	2	2	2	2	2	1	0	1	2	1	2	1	2	1	2	2	2
48	53	09 B 13121	Cel altas	3	35	3	2	1	50	2	1	1	1	1	2	1	4	2	2	2	1	3	1	2	2	2	2	2	2
49	54	09 B 14583	Clasico	2	31	3	2	1	68	2	1	1	1	1	1	1	2	4	0	2	2	1	1	2	2	1	2	1	2
50	55	10 B 9319	Cribiforme	8	2	1	1	1	12	1	1	2	1	1	1	2	2	1	0	2	2	1	1	2	2	2	2	1	2
51	56	05B10498	Folicular	5	4	1	1	1	74	2	2	2	2	2	2	2	2	1	0	1	1	1	2	2	1	2	2	2	2
52	57	06B11838	Cel altas	3	26	3	2	1	49	2	2	1	1	2	2	2	2	1	0	1	2	1	1	2	2	1	2	1	2
53	58	08B4311	Clasico	2	39	3	2	1	42	1	2	1	2	2	2	2	2	1	0	1	1	3	2	2	2	1	2	2	2
54	59	08B11756	Clasico	2	12	2	2	1	74	2	2	1	1	2	2	2	2	2	0	1	1	2	1	2	2	1	2	1	2
55	60	07B10537	Folicular	5	3	1	1	1	39	1	2	2	2	2	2	2	2	1	0	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2
56	61	08B10031	Cel altas	3	13	2	2	1	53	2	1	1	1	1	2	2	2	4	0	2	1	1	1	2	2	2	1	1	1
57	62	09B1699	Clasico	2	16	2	2	1	65	2	1	1	1	2	2	2	2	1	0	2	2	1	2	2	2	2	2	1	2
58	63	09B4731	Clasico	2	11	2	2	1	47	2	1	1	1	1	2	2	2	1	0	2	1	1	1	2	2	2	1	1	1
59	64	09B8371	Clasico	2	3	1	1	1	55	2	1	1	1	2	2	2	2	1	0	2	1	1	1	1	2	2	1	1	2
60	65	10B5383	Cel altas	3	26	3	2	1	61	2	1	2	1	1	2	2	2	1	2	2	1	1	1	2	2	1	2	1	2

Tabla 1.

	Percentage of Braf mutation		P
	≤ 10	> 10	
	n = 27	n = 33	
Edad, años	55 (41 ; 67)	48 (42 ; 61)	.618
Edad ≥ 45 años	18 (66.7)	21 (63.6)	.807
Male / Female, %	18.5 / 81.5	12.1 / 87.9	.718
Bordes, n (%)	8 (29.6)	18 (54.5)	.053
Encapsulamiento, n (%)	17 (63.0)	17 (51.7)	.373
Subcapsular, n (%)	9 (33.3)	18 (54.5)	.100
Esclerosis, n (%)	5 (18.5)	17 (51.7)	.008
Fibrosis, n (%)	23 (85.2)	17 (51.7)	.006
Hashimoto, n (%)	5 (18.5)	3 (9.1)	.448
Implante, n (%)	9 (33.3)	17 (51.5)	.157
Infiltración Li, n (%)	12 (44.4)	29 (87.9)	< .001
Nucle A, n (%)	17 (63.3)	26 (78.8)	.176
Pink atip	8 (29.6)	22 (66.7)	.004

**-Resultados-**

Psammo, n (%)	3 (11.1)	3 (9.1)	1
Warthin I, n (%)	2 (7.4)	2 (6.1)	1
Estadio >1, n (%)	5 (18.5)	14 (42.4)	.048
Recidiva, n (%)	3 (11.1)	7 (21.2)	.488
Metástasis D, n (%)	3 (11.1)	3 (9.1)	1
Metástasis G, n (%)	5 (18.5)	12 (36.4)	.127
Muertos, n	3 (11.1)	0	.085

---

TABLA DE CONTINGENCIA

**Tabla de contingencia Tip\_Histol \* grupo**

			grupo		Total
			0	1	
Tip_Histol	Cel alta	Recuento	2	8	10
		% dentro de grupo	7,4%	24,2%	16,7%
	Clasic	Recuento	6	19	25
		% dentro de grupo	22,2%	57,6%	41,7%
	Cribifor	Recuento	1	0	1
		% dentro de grupo	3,7%	0,0%	1,7%
	Folicula	Recuento	7	1	8
		% dentro de grupo	25,9%	3,0%	13,3%
	Hürthl	Recuento	4	1	5
		% dentro de grupo	14,8%	3,0%	8,3%
	Macrofol	Recuento	3	1	4
		% dentro de grupo	11,1%	3,0%	6,7%
	Microcar	Recuento	3	3	6
		% dentro de grupo	11,1%	9,1%	10,0%
	Poco dif	Recuento	1	0	1
		% dentro de grupo	3,7%	0,0%	1,7%
Total		Recuento	27	33	60
		% dentro de grupo	100,0%	100,0%	100,0%

Tabla 2. Valor discriminante de la infiltración Li para el % de la mutación Braf

	Valor (%)	IC – 95%
Sensibilidad	87.9	71.8 ; 96.6
Especificidad	55.6	35.3 ; 74.5
Valor predictivo positivo	70.7	60.9 ; 79.0
Valor predictivo negativo	78.9	58.5 ; 90.9

Table 3. Medians (IQR) of the percentage of Braf mutation according to presence-absence of each one of the considered factors

	Factor		P
	Present	Absent	
Bordes (26 / 34)*	15 (7 ; 31)	6.5 (3 ; 18)	.063
Encapsulamiento (34 / 26)*	9 (4 ; 26)	11.5 (4 ; 18)	.887
Subcapsular (27 / 33)*	12 (5 ; 23)	7 (3 ; 26)	.708
Esclerosis (22 / 38)*	20.5 (11 ; 31)	6 (3 ; 17)	.009
Fibrosis (40 / 20)*	6 (3 ; 17.5)	20.5 (11 ; 31)	.006
Implante (26 / 34)*	15 (3 ; 26)	8 (4 ; 18)	.337
Infiltración Li (41 / 19)*	16 (7 ; 26)	4 (3 ; 7)	.001
Nucle A (43 / 17)*	12 (4 ; 25)	7 (3 ; 18)	.330
Pink atip (30 / 30)*	20.5 (7 ; 30)	4.5 (3 ; 13)	.003
Estadio>1 (19 / 41)*	18 (9 ; 31)	7 (3 ; 18)	.025
Recidiva (10 / 50)*	17.5 (4 ; 26)	11 (4 ; 23)	.385
Metástasis G (17 / 43)*	17 (4 ; 26)	9 (4 ; 18)	.338

Data are medians (IQR); (\*) Frequencies (present/absent).In this analysis were excluded those factors whose frequencies in any group (presence/absence) were less than 10

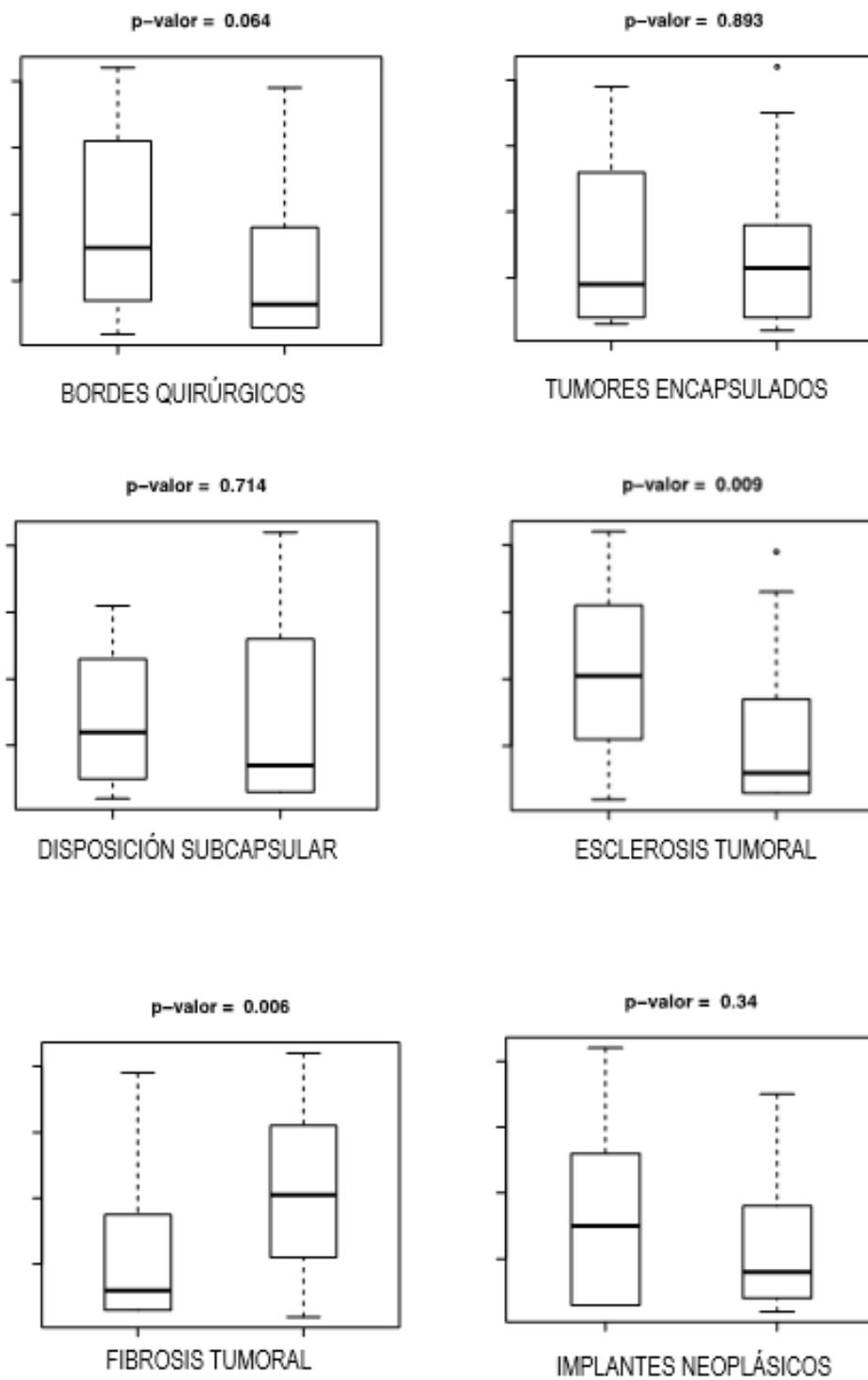


Figura 1.a. Distribución del porcentaje de mutación BRAF según presencia/ausencia de cada factor.

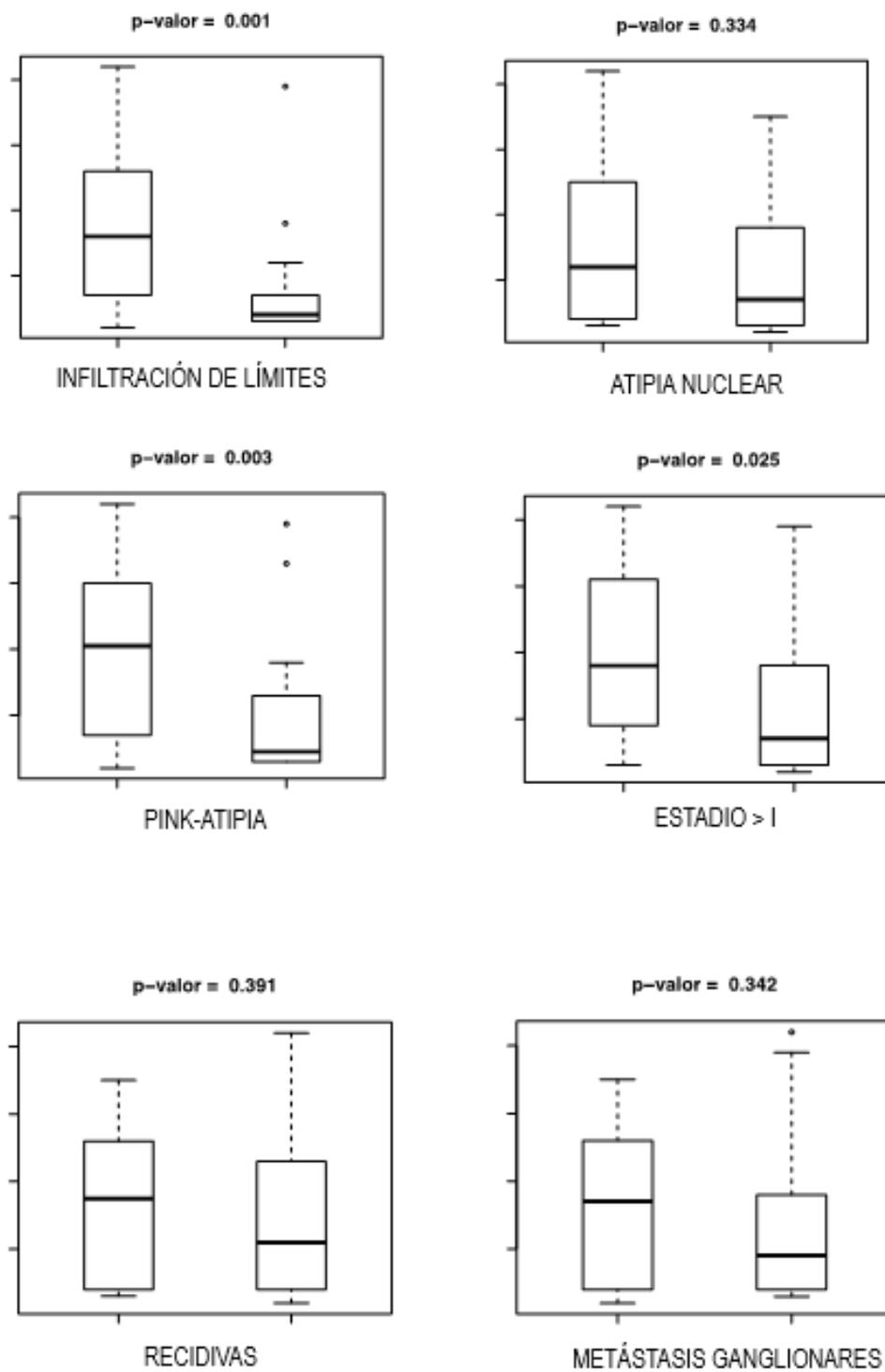


Figura 1.b..Distribución del porcentaje de mutación BRAF según presencia/ausencia de cada factor.

## **DISCUSIÓN**

## DISCUSIÓN

Seguiremos en el presente apartado de nuestra Tesis Doctoral, el patrón de discusión de nuestros Resultados, según el esquema de presentación de los mismos y centrándonos en los apartados estadísticos, ya que en ellos están concentrados los datos morfológicos, epidemiológicos, mutacionales y pronósticos que comprenden nuestro trabajo.

### 5.1 DISCUSION RESULTADOS POR ANALISIS MULTIVARIANTE.

Respecto del número total de pacientes que fue de 60, de los que 51 casos fueron mujeres (85%) y 9 hombres (15%), siguiendo una proporción de 5/1, lo que coincide con la literatura, aunque en un rango levemente más alto respecto del sexo femenino. Si sólo contemplamos los casos no mutados, la comparación en porcentajes fue de 81.5/18.5 %, con una proporción aproximada de 4/1. Mientras que para los pacientes mutados la relación en porcentajes fue de 87.9/12.1, con una proporción aproximada de 7/1.

Para el motivo principal de la presente Tesis, el estudio de la mutación BRAF, 33 de nuestros casos (55%) se consideraron mutados, con un porcentaje por pirosecuenciación superior al 10% de T/A, mientras que el resto 27 (45%) se consideraron no mutados. Los porcentajes de mutación son variables en la literatura, como ya hemos referido en nuestra Introducción. <sup>(26)</sup>

Por edades (Tabla 1), en el grupo no mutado la mediana de edad fue 55 años <sup>(41; 67)</sup>, mientras que para los mutados fue inferior 48 <sup>(42; 61)</sup>, no siendo significativa la comparativa entre los grupos  $p=0.618$ . Si nos fijamos en el límite de edad de 45 años, crítica para la OMS para el Cáncer de Tiroides, de los que rebasan esta cifra, 18 casos carecieron de mutación con una media de edad de 66.7 años y 21 casos estaban

mutados con una media de 63.6 años. Estos datos de edad resultan llamativos, al ser los mutados de menor rango, lo cual carece de significado dado el número de pacientes de nuestra casuística.

De forma constante en la literatura revisada, el Tamaño tumoral es un factor que se marca decisivo respecto del pronóstico. De hecho, cuando se establece el TNM este valor marca un criterio fijo de tamaño para el Estadio I, de un T menor de 2 cm. Hemos considerado de peor pronóstico en nuestra casuística los pacientes con Estadio >I.

### **5.1.1. Disposición Subcapsular del CPT.**

Respecto de la ubicación del tumor en la glándula tiroidea, resulta muy llamativa la frecuencia de disposición subcapsular y que muchos autores la recogen como significativa o bien como una variante con esclerosis. Es muy frecuente encontrar en la literatura la descripción de muchos CPT, generalmente de pequeño tamaño que adoptan esta disposición, casi en contacto con la cápsula externa de la glándula. En nuestra casuística un total de 27 casos (45%) presentaron esta ubicación, generalmente con un tamaño medio de 1 cm y siempre menor de 2 cm, por lo que se encuadrarían entonces en el Estadio I. De ellos un 54.5 %, es decir 18 casos, se encontraron mutados. No obstante la comparativa de esta disposición entre mutados 18 casos y no mutados 9, no fue significativa con un valor  $p=0.100$ . La no significación en nuestro trabajo puede ser debida al tamaño muestral. No obstante, se debe tener en cuenta que esta disposición de proximidad a la cápsula del Tiroides, se presta de hecho a la infiltración de la misma y a infiltrar, aunque sea mínimamente, en los tejidos blandos cervicales próximos. No es de extrañar incluso, que pequeños ganglios linfáticos extra capsulares se vean ya ocupados por el tumor. Aunque este es un motivo más para el apartado de Metástasis Ganglionares Linfáticas, se debe decir que estos ganglios supracapsulares no están encuadrados teóricamente en ninguno Nivel de distribución cervical linfático, dudándose que puedan constituir una N determinada

en la clasificación internacional del TNM. Sin embargo, sí puede influir, como así se recoge en algunas Guías Clínicas ante su presencia que pueda estar indicado un vaciamiento cervical central en estos casos. <sup>(117;118)</sup>

### **5.1.2. Variable Implante tumoral.**

Hemos denominado Implante Tumoral, cuando aparecen crecimientos neoplásicos de CPT, de menor tamaño que el tumor principal, en el mismo lóbulo o en el contralateral, considerándoseles como crecimientos tumorales fuera de su lugar originario. Para cumplir este requisito entendemos que su patrón histológico debe ser similar al primario, evitando así la posibilidad de tumores diferentes en colisión o mixtos.

En nuestros resultados estadísticos, del total de casos con esta característica que fueron 26 (43%), el 51%, es decir 17, casos mostraron mutación BRAF positiva y 9 (33.3%) no estaban mutados. El contraste entre los dos grupos de esta variable no significativa, con una  $p=0.157$ . En nuestra opinión, este signo revela un comportamiento de agresividad y desarrollo del tumor importante, que justificaría la actitud quirúrgica de la tiroidectomía total. En tal sentido, las Guías Clínicas y Quirúrgicas, difieren ante la actitud a tomar ante el diagnóstico de Carcinoma Papilar. En muchos casos se sigue según el tamaño tumoral, por ejemplo los Incidentales de un tratamiento con yodo radioactivo y seguimiento con vigilancia de niveles de Tiroglobulina en sangre. Pero otras tendencias de estas guías, recomienda siempre la Tiroidectomía total ante éste diagnóstico. En otros casos, ante el diagnóstico de CPT variante Folicular, no suelen aconsejar la tiroidectomía total. <sup>(12)</sup>

### **5.1.3. Variable “Pink-atipia”.**

Como ya expusimos en nuestra Introducción, hemos denominado “Pink-atipia” o “Plum-pink” <sup>(119)</sup> al rasgo de eosinofilia y aspecto citoplásmico del CPT que coincide precisamente con un comportamiento más activo del tumor. Los rasgos histológicos

del CPT son la base fundamental morfológica para su diagnóstico. De ellos la diferenciación Papilar es el signo fundamental que se debe acompañar de las características propias del núcleo celular, detalle este último básico en la variante Folicular.

El citoplasma con aumento de tamaño y transformación eosinofílica o “Pink atipia”, representa un signo no muy valorado en la literatura, sólo descrito por Prasad <sup>(119)</sup>, pero que se relaciona en nuestra experiencia, con un comportamiento agresivo e infiltrante local e incremento del desarrollo del tumor. Además, se incrementa en sentido ascendente y forma un patrón muy próximo a la variante de Células Altas, aunque sea solo focalmente. Se podría pensar, aun siendo atrevidos por nuestra parte, que la variable de Células Altas podría ser una expresión de este rasgo, sin la columnaridad nuclear característica, que da nombre en otras clasificaciones a otra variable particular de Células Columnares.

Valorando la relación de este signo con la mutación BRAF, encontramos que la presentan un total de 30 casos de 60 (50%), de los cuales 22 (66.7%), estaban mutados, siendo los no mutados 8 (29.6%).

Ello pone en evidencia, la relación entre este signo citoplásmico con la agresividad tumoral y por ende con la mutación BRAF. Detalle muy interesante y que en nuestra casuística tuvo un valor significativo  $p=0.004$ , por análisis multivariante, mientras que para el estudio de porcentaje de la mutación, fue aún más significativa, con una  $p$ -valor de 0.003, lo que discutiremos posteriormente en el apartado correspondiente.

De hecho, si observamos la gráfica de Cajas de dicha variable (Fig 1.b), resulta significativa la diferencia de nivel de ambas, siendo muy favorable a los casos mutados. A pesar de no ser una variable estadísticamente independiente por análisis multivariante, se aprecia que la mutación BRAF en el CPT, puede incrementar el

desarrollo del tumor desde sus comienzos, o bien en fase intermedia, y ser la “Pink atipia”, un cambio morfológico importante respecto de la agresividad del tumor por una parte, y por otra con que la observación morfológica de este signo, puede predecir, en un caso determinado, que dicho tumor puede estar mutado con una especificidad de un 83% y un valor predictivo positivo de un 69%, como ya ha sido publicado. <sup>(119)</sup>

Es decir, que su presencia nos puede dar un 69% de posibilidades que pueda estar mutado, mientras que el valor predictivo negativo estaría en un 54%. En tal sentido, siguiendo lo publicado por Guerra <sup>(120)</sup>, es posible que si una parte del CPT con este rasgo pueda estar mutado y otra zona sin el mismo, correspondiente a otro clon celular, no lo estuviera. <sup>(120)</sup> De ahí el interés de estos rasgos morfológicos que relacionan el tumor con la mutación a la hora de seleccionar por macro o microdissección la zona de extracción del ADN. Sería necesario ampliar los estudios en el sentido de saber si la policlonalidad del CPT estaría presente, en relación a estos cambios morfológicos.

Parece razonable pensar por tanto, que dicho signo debe ir acompañado de otros concomitantes que presente el tumor, como por ejemplo la infiltración de los límites del mismo o los cambios nucleares o incluso la misma desmoplasia, que reforzarían estas posibilidades, según está recogido en la literatura. <sup>(121)</sup>

#### **5.1.4. Variable Cambios Nucleares.**

Los cambios nucleares celulares en el CPT tiroideo, son un detalle muy significativo para su diagnóstico. Como se ha citado en la Introducción de esta Tesis Doctoral, los signos típicos son: a) Aclaramiento de la cromatina que puede llegar a ser núcleo vacío, b) Pseudoinclusión o núcleo esmerilado y c) La verdadera inclusión nuclear. Cuando están todos presentes, se llama signos nucleares desarrollados o en caso contrario o con disposición celular focal, (“subtle” o poco desarrollados). <sup>(119)</sup>

En nuestro trabajo, hemos preferido denominar Atipia nuclear al primer grupo y ausencia de Atipia al segundo, considerándose solamente el primero. Los núcleos atípicos, de acuerdo a los criterios de la bibliografía consultada, se hallaron en un total de 43 casos (72%), considerando los restantes 17 casos de CPT hasta el total de 60, como núcleos con atipia no completa, coincidiendo con los ("Subtle", de Prasad).<sup>(119)</sup>

De los casos con rasgos nucleares completos, 26 (78.8%), están relacionados con la mutación BRAF y 17 (63.3%) no lo estaban, siendo la p-valor de 0.176 y en el estudio de porcentajes la p-valor fue de 0.334. A pesar de que la comparación estadística entre nuestros casos con atipia / no atipia o completos / incompletos, no fue significativa, este es un signo muy importante y controvertido a la hora de observar y decidir el diagnóstico del CPT, especialmente la variante Folicular.

En tal sentido, cuando los cambios papilares del tumor son manifiestos, la presencia de alteraciones nucleares suele estar presente en la mayoría de los casos, dependiendo del tipo o variante histológica. Ello es muy valioso por ejemplo en el estudio por citología en las PAAF. Ahora bien, donde tiene un valor muy importante es en la Variante CPT Folicular, donde estos signos muchas veces no están totalmente presentes y hay que valorar entonces, con mucho cuidado los cambios de tamaño nuclear, la irregularidad de su membrana y el aspecto de su cromatina con su aclaramiento, así como, las verdaderas inclusiones, porque la pseudoinclusión o "ground glass" no suele observarse siempre en esta variante.

#### **5.1.5. Variable Encapsulación**

La encapsulación del tumor con o sin esclerosis, es una forma de presentación de muchos CPT. Aunque la cápsula o encapsulación tumoral es un signo que en la mayoría de las neoplasias, se asocian con benignidad, no sucede así en este caso.

Se entiende que la cápsula es una cubierta colágena madura o esclerosada que el tumor forma en su periferia y que puede ser infiltrada posteriormente, considerándose esta característica primordial en el Carcinoma Folicular de Tiroides, aunque para muchos autores como Sobrinho-Simoës <sup>(85)</sup>, en ausencia de infiltración el engrosamiento irregular de la misma es propio de los Carcinomas Foliculares en vez de un Carcinoma Papilar encapsulado.

De nuestros casos, 34 (57%) la presentaron, de los cuales 17 estaban mutados (51.7%) y 17 no presentaron la mutación (63.0%), con una  $p=0.373$  no significativa. Para el estudio de análisis del porcentaje el p-valor fue de 0.887.

Aunque en principio la cápsula de un tumor le puede dar cierto criterio de mejor comportamiento, este signo en los CPT es una característica con forma de Variante que da detalle del Carcinoma, lo cual no le da en principio ninguna particularidad de benignidad. Claro está, que siempre puede tener un mejor pronóstico que un CPT de mayor tamaño, T3 o T4, por ejemplo. Pero los Carcinomas Papilares de Tiroides tienen comportamientos muy diversos. Así, el CPT oculto o incidental que puede estar encapsulado, se presenta, en un número bajo de casos pero valorables, como un tumor cuya primera manifestación clínica son las metástasis cervicales homolaterales.

#### **5.1.6. Variable Fibrosis Tumoral.**

El crecimiento del CPT, como sucede en otros tumores de nuestra economía, el desarrollo del tumor va seguido de una serie de cambios estromales tendentes a formar diversas formas de cambios fibroblásticos intersticiales que van <sup>(119)</sup> desde una fibrosis con elementos fibroblásticos jóvenes y una colágena algo inmadura a una colágena antigua con fibras ya maduras y escasos fibrocitos o un cambio asociado a la infiltración tumoral que es la verdadera desmoplasia que se acompaña de un estroma con cierto componente mixoide. En nuestra casuística, hemos optado por dos

componentes solamente: Fibrosis que comprende además la esclerosis de Prasad y la verdadera Desmoplasia o Esclerosis asociada al crecimiento del tumor.

De esta forma, en nuestra estadística y según el criterio expuesto, que difiere un poco de Prasad, la Fibrosis se da en 40 de los casos (67%), de los cuales 23 (85.2%) no están mutados y 17 (51.7), si lo estaban con una  $p=0.006$ , significativa aunque no independiente. Si valoramos el análisis de porcentaje, su p-valor es de 0.006, idénticas en ambos casos, lo cual da una idea de la relación de ausencia de mutación en casos cuyo estroma-reacción es más estable expresándose mediante una colágena madura

#### **5.1.7. Variable Esclerosis.**

Considerada por otros autores <sup>(119)</sup> como desmoplasia, está presente en un total de 22 casos (37%), de los cuales 17 (51.7%), están mutados y 5 (18.5%) no lo están, siendo la  $p=0.008$  significativa, lo que relaciona el comportamiento más activo del CPT en estos casos.

La estroma-reacción es un signo importante en el desarrollo y crecimiento de los tumores. Así por ejemplo, en el Carcinoma Ductal mamario, el crecimiento y desarrollo del mismo, además de la proliferación celular y la infiltración, se acompaña de este signo que le da consistencia y dureza al mismo. Ahora bien, desde Prasad y cols a otros autores con anterioridad, se significó una diferencia importante en este aspecto, no valorada por nosotros con anterioridad en la rutina diagnóstica habitual. Esta consiste en establecer una diferencia entre la estroma-reacción estable o Fibrosis, y la Desmoplasia o Esclerosis, la cual muestra una colágena más inmadura, fibroblastos más activos y cierto estroma mixoide. De hecho esto es así, cuando se ve infiltrar al tumor.

### **5.1.8. Estadio Tumoral > I incluyendo Tamaño.**

Respecto del crecimiento y desarrollo del CPT y su relación con un comportamiento más agresivo, nos da idea el tamaño tumoral y su posterior evolución. En nuestra casuística hemos preferido encuadrar el tamaño del tumor en el Estadio que según la clasificación internacional de la OMS o TNM, considera los 2 cm de tamaño máximo y la edad no superior a 45 años, como Estadio I. Así, hemos preferido hacer dos grupos Estadio I y Estadio > I, considerando estadísticamente éste último, por ser una variable con mayor peso estadístico, según mejor tamaño muestral.

En tal sentido, 19 casos (32%) tenían un Estadio >1, estando los restantes 41 (68%) en el Estadio I. Del grupo que hemos considerado, 14 (42.4%) se relacionan con mutación positiva y 5 no estaban mutados, con una  $p=0.048$ , casi significativa, lo cual da idea de la relación de la mutación BRAF con la agresividad del tumor, dado que en este grupo están incluidos los tumores > de 2 cm y mayores de 45 años. La agresividad del tumor por su crecimiento es la característica que marca el pronóstico y se establece en base a la infiltración local, la afectación de los bordes quirúrgicos, la recidiva y las metástasis tumorales linfáticas o regionales y a distancia.

### **5.1.9. Variable Infiltración de los Límites del Tumor.**

La infiltración local del tumor o Infiltración de sus Límites, como se recoge en nuestra base de datos, es una característica del crecimiento de las neoplasias. Los CPT tiroideos que la presentan, exhiben filas y cordones celulares que rebasan los límites del tumor hacia el parénquima vecino tiroideo o bien, hacia la zona capsular glandular cuando tienen una disposición subcapsular. Este comportamiento biológico de la neoplasia, se detecta histológicamente, incluso cuando muestran una capsula la cual se ve infiltrada independientemente del tamaño tumoral. Prasad y cols <sup>(119)</sup>, estiman que si bien los cambios nucleares completos pueden predecir morfológicamente la

mutación casi en un 100% de sensibilidad, la variable infiltración de los bordes o límites tumorales fue mucho más específica, estando en torno a un 71%, con un 75% de valor predictivo positivo.

Además, si el signo de la infiltración se asocia con la reacción desmoplásica del tumor y al tipo histológico apropiado, como la variante Clásica, las posibilidades que el tumor esté mutado podrían estar en torno al 80%. En nuestra casuística este signo de la infiltración del tumor aparece en 41 casos (68%) de los cuales 29 casos (87.9%) resultaron mutados y 12 (44.4%) no presentaron la mutación BRAF, con una  $p < 0.001$ , siendo una variable muy significativa  $p < 0.001$  e independiente con el análisis multivariante. Tratándose de una variable independiente, los valores discriminantes (Tabla 2) para este signo morfológico fueron: Sensibilidad 87.9%, Especificidad 55.6%, VPP 70.7% y un VPN de 78.9%.

Resulta interesante recordar que estos cambios infiltrativos coinciden en muchas ocasiones con una transformación citoplásmica de las células neoplásicas activas, lo que denominamos "Pink atipia", en especial en las áreas de infiltración.

#### **5.1.10. Variable Infiltración de Bordes Quirúrgicos.**

La infiltración tumoral de los bordes quirúrgicos o Bordes de la glándula y áreas quirúrgicas de partes blandas cervicales, es otra característica importante para valorar la agresividad de la neoplasia tiroidea. Así, en nuestros casos se dio esta circunstancia en 26 pacientes, (43%), de los cuales 18 (54.5%) estaban mutados y sólo 8 (29.6%) no lo estaban. Este signo de infiltración tumoral marca la diferencia respecto del comportamiento futuro de la neoplasia y su pronóstico, siendo responsable de las recidivas tumorales. Su valor  $p = 0.053$ , levemente significativa

#### **5.1.11. Variable Recidiva Tumoral.**

La recidiva tumoral, se caracteriza por la aparición de secuelas tumorales posteriores a la cirugía, consistentes en focos captantes desde el punto de vista del scanning por medicina nuclear mediante Iodo radioactivo, siendo pacientes que mantienen cifras altas de Tiroglobulina en sangre, después de la intervención quirúrgica. En nuestros datos, hemos considerado igualmente recidiva a la aparición de nuevas adenopatías, después de extirpación o vaciamientos ganglionares previos. En nuestro estudio, este dato se dio en 10 casos (16,7%), de ellos en 7 (21.2%) la mutación BRAF fue positiva y 3 (11.1%) no presentaron dicha mutación, con una  $p=0.488$ . La significación es negativa, probablemente debido al tamaño muestral.

#### **5.1.12 Variable Metástasis Ganglionares linfáticas.**

Completa el comportamiento de agresividad del tumor, la presencia de metástasis ganglionares linfáticas y las metástasis en órganos vecinos como Tráquea o a distancia en el caso del Pulmón. Hemos valorado solamente la presencia de ganglios linfáticos positivos, independientemente del número de ganglios y de las diferentes zonas cervicales. Nuestra casuística reveló 17 casos con metástasis ganglionares linfáticas (28%), de los que 12 presentaron mutación BRAF positiva (36.4%) y 5 (18.5%) no la mostraron, con una  $p=0.127$ . Ello concuerda con una clara aunque no significativa relación entre la mutación y la progresión de la enfermedad, aunque la variable no fue significativa,  $p=0.127$ .

#### **5.1.13. Variable Metástasis a distancia.**

Respecto de las metástasis a distancia, la presentaron un total de 6 casos (10%), la mitad de los cuales estaban mutados, siendo su  $p=1$ . Las metástasis a distancia que en el caso del CPT tiroideo pueden estar presentes en Pulmón, es un signo de mal pronóstico. En nuestra casuística, por tamaño muestral sin duda, sólo la presentaron

en nuestro periodo de estudio, 6 casos, la mitad mutados y con una p-valor de contraste de 1.

Otros hallazgos no significativos pero interesantes, a pesar del tamaño muestral, fueron la asociación del CPT con Tiroiditis crónica inespecífica tipo Hashimoto en un total de 8 casos (13%), de ellos solo 3 aparecía mutados.

Por otra parte, las zonas del CPT con patrón papilar que muestra infiltrado inflamatorio crónico linfocitario en estroma o también llamada tipo "Warthin-like", en diferente intensidad fueron 4 casos (7%), 2 de ellos mutados.

Un signo característico para algunos autores<sup>(119)</sup>, son las calcificaciones distróficas intrapapilares, denominadas cuerpos de psamoma, que en nuestros resultados fueron poco numerosos, solo 6 casos, de ellos 3 estaban mutados.

#### **5.1.14 Variable pacientes fallecidos.**

De nuestra casuística en la fecha de finalización de la recogida de datos, sólo 3 (11.1%) pacientes habían fallecido, todos dentro de los casos no mutados. El cáncer de Tiroides suele tener una evolución y crecimiento muy lentos, sobreviviendo los pacientes en largos periodos de tiempo. Ahora bien, nuestros casos están relacionados con transformación de las variables histológicas, hacia formas desdiferenciadas, en las cuales nuestros resultados de mutación no son positivos. Desconocemos este comportamiento de la mutación. Es probable que dicha mutación, juegue un papel importante al inicio o al final, lo cual es muy contradictorio en la literatura revisada<sup>(105)</sup>. Se puede barajar la hipótesis de que una vez el tumor se transforme en poco diferenciado o incluso indiferenciado, la mutación BRAF, ya no juega un papel decisivo en dichas transformación y desaparezca, jugando un papel más importante otras posibles mutaciones, como propone Cheng.

## 5.2 RESULTADOS ESTADÍSTICOS POR TIPO HISTOLOGICO.

**(Ver Tabla de Contingencia).**

La mayoría de las publicaciones revisadas por nosotros en la literatura, coinciden en que el porcentaje de mutación BRAF es superior en algunas variantes histológicas de CPT, lo cual puede ser de valor predictivo, antes de conocer la mutación. En nuestra estadística, el porcentaje de casos mutados se centra en determinados tipos histológicos (Tabla de contingencia Tipo Histológico). Nuestra serie mostró los siguientes.

### 5.2.1. Variante Células Altas.

El CPT de células altas (n=10) 16.7% de los casos, la mutación BRAF fue positiva en 8, lo que supone un 24.2 % de los casos mutados. Esta forma de CPT es reconocida por su rápido crecimiento, infiltración y aumento del tamaño tumoral. Esta característica de diferenciación tumoral, se ve incluso focalmente en otros tipos histológicos, lo que confiere a esos tumores un comportamiento más agresivo, consistente casi siempre en mayor capacidad infiltrativa, según nuestra propia experiencia observacional.

### 5.2.2. El CPT de Clásico.

Siguiendo la literatura, es la más frecuente de las variantes. Hemos detectado un total de 25 casos (41.7 %). En esta variante por incremento de los tamaños muestrales, hemos incluido por considerarlas similares a los casos de CPT Encapsulados, Esclerosantes y los denominados Quísticos. El 57.6 % de ellos estaban mutado (19 casos), lo que supone el porcentaje mayor, mientras que el 22.2 % (6 casos) no lo estaban.

Esta forma de CPT reúne las características propias y más comunes de los Carcinomas Papilares de Tiroides, con estructura propia papilar, estroma papilar típico

que puede incluir los cuerpos de psamoma muy comunes y las características citológicas, núcleo y citoplasmas típicas, así como, cierta tendencia focal a la célula alta o columnar. La tendencia a aumentar su tamaño acompañado de la eosinofilia o “Pink atipia” y su relación con las áreas de infiltración es una evidencia, como ya hemos expuesto, así como, el incremento de los núcleos con cierta disposición apilada en inglés “overlapping”, hace que el CPT sea más agresivo, según nuestra propia experiencia y de la literatura revisada. Este predominio de mutación en esta variante la hace muy susceptible de ser considerada una candidata predictiva para la mutación, especialmente si se le asocia a cambios nucleares completos, infiltración de los límites del tumor y a desmoplasia.

### **5.2.3. CPT variante Folicular.**

Le sigue en frecuencia histológica el CPT variante Folicular, definida como una forma de Carcinoma en la que adoptando predominantemente la forma folicular puede tener algún foco papilar, generalmente menor en tamaño del 5% del tumor o carecer del mismo, siendo en muchas ocasiones los núcleos completos o incompletos, con sus particularidades los que definen a esta variante. No siempre es fácil este diagnóstico por la complicada interpretación, pudiendo ser encapsulada o no.

Nuestros resultados aportaron un total de 8 pacientes (11.6%) con esta variante, de los cuales 7 (25.9%) aparecen no mutados, lo que supone el 25.9% del total de casos no mutados de nuestra estadística. Ello nos da una idea de la importancia de presentar esta variante un paciente, en lo que respecta a su agresividad. Ahora bien, si se incrementan los cambios nucleares en la totalidad del tumor, careciera de cápsula y mostrara signos desmoplásicos y sobretodo la infiltración de los límites tumorales es muy probable que entrara en el grupo de CPT Foliculares mutados, incluyendo posiblemente la “Pink atipia”. Por el contrario, un descenso en la mayoría

de los campos de los signos nucleares, aun considerándose un CPT Folicular, disminuye la posibilidad de la mutación.

#### **5.2.4. Variante Microcarcinomas. encapsulados y/o esclerosantes.**

Son una variante muy característica de estos tumores. Suelen ser generalmente únicos y menores de 1 cm, denominase incidentales, ya que aparecen circunstancialmente asociados a otras patologías como los BMN frecuentemente. Hoy día se les puede diagnosticar mediante ECO-PAAF. Hay que resaltar que existen casos de estos tumores, que se presentan como primer signo, mediante una metástasis cervical homolateral. Hemos hallado un total de 6 casos de CPT Microcarcinoma (10%), la mitad de ellos 3 (11.1%) aparecen mutados. No es de extrañar este dato puesto que los cambios morfológicos asociados a la mutación BRAF, aparecen presentes de forma característica en estos pequeños tumores, a saber la forma de papilas y los cambios citoplásmicos.

#### **5.2.5. Variante CPT Oxifílico.**

La variante de CPT de células de Hürthle, es una forma particular de Carcinoma Tiroideo que se caracteriza por el aspecto oxifílico u oncocítico de sus citoplasmas que suelen ser grandes e irregulares, así como, por poseer núcleo grande, de cromatina irregular y nucléolo muy prominente, siendo llamativa la diferencias de tamaño de los núcleos entre las células.

Nosotros hemos hallado 5 casos (8.3%) de esta variante, estando la mayoría no mutados (14.8%) y uno solamente mutado. Resulta interesante diferenciar los rasgos del CPT oxifílico, ya descritos, de las características de la denominada por nosotros "Pink-atipia" o eosinofilia poligonal ("Plump-pink") de la literatura <sup>(119)</sup>(Prasad 2014), dato éste último que puede aparecer en cualquier tipo de CPT y que se asocia, según nuestra experiencia, a mayor agresividad tumoral e infiltración.

### **5.2.6. Variante Macrofolicular.**

Esta variante, que fue descrita por J. Albores Saavedra <sup>(122;123)</sup>, referencia como es muy conocido, a una forma de CPT cuya característica principal es su patrón macrofolicular con zonas papilares esporádicas características y un predominio de macrofolicúlos que remeda a una hiperplasia folicular. No obstante, le caracterizan los cambios nucleares propios del Carcinoma Papilar, la presencia de células gigantes multinucleadas intrafoliculares, así como, la existencia de abundantes macrófagos espumosos. La dificultad de una PAAF realizada en este tipo tumoral es su diagnóstico diferencial con un bocio coloide.

Hemos encontrado un total de 4 casos con esta variante (6.7%), resultando de ellos no mutados 3 (11.1%). Esta particularidad resulta interesante como posibilidad predictiva, idéntica a la que tienen las variantes Folicular y la de células de Hürthle.

### **5.2.7. Variante Cribiforme.**

Solo aportamos un caso de una paciente de 13 años de edad que mostró tamaño mayor de 2 cm y debutó con metástasis ganglionares linfáticas en el momento del diagnóstico, siendo negativa para la mutación BRAF.

### **5.2.8. Variante poco diferenciada.**

Por último la variante poco diferenciada de CPT, solo aportó un caso en nuestra casuística. Tratándose de una paciente mujer de edad avanzada y con mal pronóstico. Resulta significativa la ausencia de mutación en las formas poco diferenciadas de CPT que hemos visto en nuestra estadística, ésta última pura, mientras que en las anteriores hemos podido estudiar la mutación en la parte diferenciada. Ya hemos referido con anterioridad en la presente discusión, las posibles explicaciones a este dato que, dada la escasa significancia de esta variante en nuestro tamaño muestral,

no podemos sacar conclusiones al respecto, en relación con la mayoría de la literatura revisada que la asocian con la mutación positiva.

### 5.3 DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS DEL ANALISIS DEL PORCENTAJE DE LA MUTACION BRAF EN ESCALA CONTINUA.

El porcentaje de la mutación BRAF se especifica dependiendo del sistema de secuenciación empleado o del método utilizado. Nosotros hemos utilizado la Pirosecuenciación. Muchos trabajos aportan solamente la posibilidad binaria de mutación positiva vs negativa, colocando el límite del porcentaje en una cifra determinada, dada por el tanto por ciento de alelos que presentan el cambio de oligos mutados T/A en el lugar 1799 específico. Para nuestro trabajo y según recomienda la literatura, hemos considerado establecer el valor de mutado de superior al 10%.

Aunque la frecuencia del porcentaje es un tema controvertido en la literatura revisada, sin embargo es muy conocida la relación entre la mutación BRAF y el pronóstico del CPT. Por ello resulta muy atractiva la idea de valorar la posibilidad de conocer si el incremento de dicho porcentaje de alelo mutado se correspondería (o está asociado como propone <sup>(105)</sup> Cheng, con los parámetros clínico-patológicos de peor pronóstico.

De hecho, dicho autor encuentra relación directa entre el incremento de dicha frecuencia y la infiltración de los bordes del tumor (límites) o invasión extratiroidea. Guerra y cols <sup>(120)</sup>, usaron este mismo método obteniendo correlación con la edad y con el volumen tumoral, mientras que la odds ratio de la recurrencia de la enfermedad fue muy alta en los CPT que superaban el 30% de mutación. Por el contrario, Gandolfi y cols <sup>(124-126)</sup> no encontraron relación entre dicha frecuencia aumentada y el comportamiento metastásico. Por último, para Cheng <sup>(105)</sup>, cuyo principal objetivo fue llevar a cabo un análisis multiplataforma para caracterizar el significado biológico de la

mutación BRAF c1799T>A en los alelos del CPT, así como en segundo lugar, comparar diferentes métodos para cuantificar la frecuencia del alelo mutado, habiendo utilizado en total los siguientes: secuenciación Sanger, Genotipado por espectrometría de masas, alelo-específico competitivo Taq Man PCR y la Pirosecuenciación; siendo los métodos de mayor rendimiento y compatibilidad, el genotipado por espectrometría de masas y la pirosecuenciación. Por otra parte, destacar que el corte para considerar positiva la mutación lo establecieron en el 5%.

A nuestro entender y así lo hemos utilizado en la presente Tesis Doctoral, el estadístico del estudio del porcentaje mediante Medianas de dichos valores, nos puede dar una idea de la tendencia de dicha frecuencia y relacionarla con las variables imbricadas en el pronóstico.

Por tal motivo, hemos seleccionado aquellas que por su tamaño muestral puedan ser valoradas como significativas, excluyéndose aquellas cuyas frecuencias en cualquier grupo fueran menores de 10. Los resultados se recogen en la Tabla 3.

Así, para dicha variable (Bordes para Prasad) <sup>(119)</sup>, los estadísticos se expresan en Medianas (IRQ) (Rango intercuartiles) y los datos referidos en mutados/no mutados o presente/ausente, es decir en Mediana e IQR, (Q2) o diferencia entre el primer y el tercer cuartil (Q1-Q2). Todas las variables se representaran mediante los consiguientes diagramas de cajas (Ver figuras 1a y 1b).

### **5.3.1. Variable Infiltración de los límites del Tumor.**

La primera y más significativa en el estudio previo de frecuencias por análisis multivariante, ya expuesto en la presente Discusión, fue la Infiltración de los límites del tumor. En el conjunto de toda nuestra casuística, de los 60 casos de la serie, 33 estaban mutados (55%) con un rango de frecuencia que oscila entre 11 y 42%, que correspondían a un CPT Clásico y a un CPT de Células altas, respectivamente.

Del total de 60 casos, 41 (68.3%) mostraban este signo infiltrante, de los cuales 29 (70.7%) estaban mutados y 12 (29,3%) no lo estaban. Para comparar, como ya se ha dicho, la tendencia del incremento del porcentaje de la mutación entre los casos mutados y no mutados respecto de esta variable y mediante el grafico de cajas, entre presente/ausente, es demostrativa la diferencia entre ambas medianas, para los mutados es de 16 con IRQ (7; 26), mientras que para los no mutados la tendencia fue mucho menor, con una mediana de 4 (3; 7), lo que da una  $p=0.001$ , muy significativa. Esto nos da una idea de que la tendencia del incremento de frecuencia de la mutación BRAF por pirosecuenciación, es más alta en los casos mutados que en los que no lo están, asociándose en mayor proporción con los casos que muestran infiltración de los límites tumorales.

Por el contrario, dentro de un contexto predictivo la infiltración de los límites del tumor es un dato morfológico que presenta clara tendencia al incremento del porcentaje de mutación, especialmente si se asocian a otras variables igualmente significativas.

Para esta variable de Infiltración de límites hemos obtenido valores discriminativos de Sensibilidad del 87.9 %, Especificidad de 55.6 %, PPV 70.7% y NPV 78.9 % (Tabla2). Prasad (Tabla 3) encuentra valores fueron: Sensibilidad 81%, Especificidad 71%, PPV 75% y NPV 77%. (Discutir las diferencias). Por último, cabría preguntarse qué sucede con los 19 casos (44,4%) no mutados que presentaban infiltración de los límites del tumor.

### **5.3.2. Variable Pink-atipia.**

La siguiente variable se refiere a la denominada “Pink-Atipia” o “Plump-pink cells”. Esta característica la presentaron 30 casos (50%) de la casuística, de los que 22 (66.7%) estaban mutados. Hemos descrito la asociación entre este signo citoplásmico y la infiltración tumoral. Prasad <sup>(119)</sup> relaciona directamente (Tabla 2) este signo con la

mutación BRAF en un 72% de sus casos mutados. Nosotros la hemos detectado en un 66,7% (Tabla 1), mientras que un 29.6 % de no mutados mostraban este signo. Cabe preguntarse qué sucede con estos casos.

En nuestro estadístico de medianas (IQR), para reconocer la tendencia del porcentaje por su mediana entre el grupo Presente/Ausente referido a la mutación en los 30 casos que presentaron esa particularidad, en el primero o positivo para mutación, la mediana es de 20.5 (7;30), se sitúa por tanto el porcentaje de presentación sobre una cifra del 20.5%, alta en cualquier caso para 22 casos, mientras que en los Ausentes o no mutados, la mediana esta en 4.5 (3;13), cifras mucho menores por tanto, lo que da una  $p=0.003$ , significativa.

Por consiguiente, poseer este signo el componente celular tumoral le confiere la posibilidad de estar mutado significativamente en un plano predictivo, según la línea de trabajo de Prasad <sup>(119)</sup>, dándole unos valores predictivos (Tabla 3) 81% de sensibilidad, 67% de especificidad, PPV 72%, NPV del 76%, con una exactitud del 74%. En nuestros resultados, la Pink atipia no fue variable independiente.

De las siguientes variables a considerar, dos están relacionadas entre sí que son las denominadas Fibrosis y la Esclerosis. Prasad y cols<sup>(119)</sup>, como se ha descrito en nuestra Introducción y en la presente Discusión en la parte de análisis estadístico multivariante, describen tres clases de alteraciones relacionadas con el estroma reacción tumoral de los CPT (Tabla 1), La Fibrosis con fibroblastos activos y jóvenes, la Esclerosis que viene a ser un estroma reacción antiguo con fibroblastos maduros y escasos, así como, con abundantes fibras de colágena madura y la Desmoplasia, una fibrosis muy reactiva con estroma mixoide. Nosotros, como también expusimos previamente, valoramos dos parámetros: la Fibrosis con colágena antigua y reactiva y por otra parte la Esclero-Desmoplasia, que coincide con Prasad.

### **5.3.3. Variable Fibrosis.**

Según nuestros resultados este componente poco reactivo o antiguo, aparece en 40 casos (67%), de los que están mutados 17 (51.7%) y no mutados 23 (85.2%). En nuestro descriptivo de porcentaje de mutación (Tabla1), la mayor parte de los casos 23 no están mutados, lo que nos da una idea que la “tranquilidad” de ese estroma coincide con procesos poco agresivos, en contraste con los 17 casos (51.7%) que si aparecen mutados. Luego la Fibrosis debe ser más de los CPT de comportamiento atenuado. Si pasamos al estadístico de porcentajes, vemos que respecto de la Fibrosis en los casos mutados la mediana es de 6(3; 17.5) y por el contrario en los casos no mutados es de 20.5 (11; 31). La representación gráfica de este contraste nos da la idea de la menor frecuencia de la variable  $p=0.006$ . En los casos mutados, mientras que en los no mutados, la mediana de la Fibrosis es más alta. Ello confirmaría que la Fibrosis se asocia más con porcentaje de bajo de mutación.

### **5.3.4 Variable Esclerosis-Desmoplasia.**

Por el contrario, la denominada por nosotros Esclerosis-Desmoplasia que está más relacionada con los CPT en teoría más agresivos, aparece en el estadístico de multivariantes (Tabla 1) en 22 casos, de ellos 5 (18.5%) no mutados y 17 (51.7%) mutados con una  $p=0.008$ .

En nuestro estudio de porcentaje para los mutados mostró valores de 20.5 (11,31) y para los no mutados 6 (3,17) con una  $p=0.009$ . Ello quiere decir que es una variable más favorable para el incremento de BRAF mutación y por tanto para la agresividad. Ahora bien, si queremos saber si en los casos que presentan Esclerosis-Desmoplasia, las casos mutados se incrementan dando a entender que esta condición se relaciona más con la agresividad, parece que es así, dado que en la representación de cajas

entre la variable Desmoplasia y la frecuencia de mutación, la mediana de los mutados es mucho más alta (Figs. 1a y 1b).

Fibrosis y Esclerosis son opuestas en nuestros resultados, aunque en rangos diferentes, dada la diferencia en el número de casos que presentan las respectivas condiciones, es decir Fibrosis 40/60 y Esclerosis 22/60, pero para la Fibrosis solo 17 casos estaban mutados, para la esclerosis son mayoría con 17 casos, siempre teniendo en cuenta el número de casos que muestran dicha condición.

Por lo tanto, a pesar de la diferencia de casos entre ambas condiciones, pesa más 17/22 que 17/40, cuyos cocientes como dato indicativo vienen a ser: 0.78 y 0.42, en valores absolutos. Si observamos ahora, la representación de ambas variables en cajas, (Fig 1a y 1b), vemos que la diferencia de altura de sus medianas son opuestas, con lo que parece predecible decir que la Fibrosis favorece la no mutación o menos probable y que la Esclerosis-Desmoplasia predice la mutación y la agresividad con una  $p=0.009$ . De hecho, en los tumores que presenten esta condición la actividad de desarrollo y crecimiento debe ser superior. La tendencia de estas gráficas de Cajas, si comparamos la Esclerosis, con la Infiltración y la Pink atipia son muy parecidas.

### **5.3.5. Variable Estadio > I.**

Se trata de una variable que se aproxima a una significación estadística. Hemos considerado en nuestros resultados por razones de tamaño muestral, la variable estadio  $E>I$ , es decir casos cuyo estadio es superior al I, en lugar de hacer la distribución habitual de la OMS de los cuatro estadios (I-IV).

Dicho  $E>I$ , incluye también el Tamaño correspondiente  $T>1$ . Esta variable presenta 19 casos del total de 60, es decir que 41 se corresponden con CPT que miden  $2 < 2$  cm y están limitados al Tiroides. En el descriptivo del análisis multivariante (Tabla 1), de los 19 casos citados 14 aparecen mutados (42.4%) y 5 no están mutados (18.5%).

Como ya se ha dicho anteriormente, da una idea de la relación entre la mutación y el T>1, es decir significa que a mayor T>1 más posibilidades de aparecer mutados dichos tumores. Respecto del análisis de porcentaje con la representación gráfica de cajas, se demuestra que para los casos mutados o Presente, la mediana es 18 (9;31) y para los no mutados o ausente fue de 7 (3;18), siendo la  $p=0.025$ , con una buena aproximación a la significación estadística.

Si valoramos la representación gráfica en cajas, la mediana para los casos mutados es superior a los casos en que estaba ausente. Para Cheng <sup>(105)</sup>, los estadios III y IV se correspondían con mayor porcentaje de casos mutados. La observación de nuestra gráfica demuestra el incremento numérico por mediana del Estadio>1, correspondiéndose con un peor pronóstico. Igualmente determinó la relación entre el incremento de porcentaje de mutación y el Tamaño tumoral, por genotipado por espectrometría de masas y por pirosecuenciación. Por todo ello, la determinación de BRAF por pirosecuenciación se asoció con alta probabilidad de Estadios III/IV de enfermedad.

### **5.3.6 Variable Bordes quirúrgicos.**

Los Bordes quirúrgicos afectados son un dato importante por el factor pronóstico, al verse afectada la cápsula glandular y ocupar el tumor partes blandas cervicales. Prasad y cols <sup>(119)</sup>, no hacen referencia a este signo en su trabajo, sin embargo Cheng<sup>(105)</sup>, sí le da importancia. Así en la secuenciación por método de Sanger, la invasión extratidoidea (haciendo referencia a la micro y macroinvasión), le resultó muy significativa  $p=0.002$ . Por otra parte el método de genotipado por espectrometría de masas dio una significación de  $p=0.024$ .

Para nuestros resultados y en el estudio de análisis logístico multivariante, los bordes afectados estaban en 26 casos (43.3%), de los cuales estaban mutados 18 (54.5%) y

8 no lo estaban (29.6%), siendo el contraste de ambos grupos de una significación casi positiva  $p=0.053$ , pero no valorable. Para nuestro estudio de análisis de (105) porcentaje de BRAF en escala continua y según la representación de Cajas, los valores de mediana para los mutados fue de 15 (7;31) y para los no mutados de 6.5 (3;18), con una significación para  $p=0.063$ . A pesar de lo cual la tendencia numérica del porcentaje mutacional se inclina hacia los mutados, como factor negativo a efectos pronósticos, aunque carezca de un valor significativo.

### **5.3.7. Variable CPT Encapsulados.**

Como ya hemos expuesto previamente, el signo de la Encapsulación hace referencia a que muchos CPT aparecen rodeados de una capsula originada por el propio tumor. Es una característica particular de muchos Carcinomas Papilares tiroideos. En nuestro estudio multivariante, el total de casos con esta condición fue de 34 (57%), de los cuales 17 estaban mutados (63%) e idéntica cifra 17 (51.7%) no mutados, lo que da un contraste no significativo,  $p=0.373$ . Respecto del análisis del porcentaje de la mutación, la cifra de mediana de mutados esta en 9 (4; 26), mientras para los no mutados fue superior 11.5 (4; 18), con unas graficas de Cajas que da por hecho que la mediana de no mutados estaba más alta, aunque no significativa  $p=0.89$ .

### **5.3.8. Variable Subcapsular.**

La disposición subcapsular es otra característica que poseen muchos CPT tiroideos. Es un hecho que muchos de estos tumores, generalmente de pequeño tamaño pues la mayoría no superan los 2 cm, tienen la predilección de ubicarse en el margen interno próximo a la capsula glandular. No se conoce bien esta razón, pero muchos de ellos suelen infiltrarla, así como, ocupar invasivamente el parénquima vecino tiroideo.

En nuestro estudio multivariante, la disposición subcapsular apareció en 27 casos (45%), de los cuales 18 (54.5%) estaban mutados y 9 (33.3%) no lo estaban. Del

contraste de ambos factores se desprende que la variable subcapsular no es significativa,  $p=0.100$ .

Para el estudio de análisis de porcentaje y representación gráfica de Cajas, la mediana de casos mutados fue 12 (5; 23) y para los no mutados fue de 7(3; 26), no siendo significativa  $p=0.708$ . La observación de la gráfica de Cajas demuestra que hay cierta igualdad entre ambos grupos. No obstante, convendría señalar que esta disposición es relativamente frecuente y que puede tener ciertas implicaciones en cuanto al pronóstico, por la posibilidad de infiltración y de generar metástasis.

### **5.3.9. Variable Implante tumoral.**

El implante tumoral hace referencia a la ubicación intratiroidea de otro foco de infiltración neoplásica idéntica con una diferenciación muy similar al primario, lo que para muchas guías quirúrgicas aconsejan la tiroidectomía total cuando se diagnostica un CPT homolateral.

Para nuestro análisis logístico multivariante, la característica Implante tumoral se presentó en 26 casos (43.3%). Como es de esperar los casos mutados presentaron mayor número de implantes con 17 (51.5%), mientras que para los no mutados se dieron en 9 (33.3%), coincidente con la idea de peor pronóstico. Sin embargo, no fue significativa  $p=0.157$ , posiblemente por el tamaño muestral.

Respecto del análisis de porcentaje de la mutación BRAF, la mediana de los mutados es 15 (3; 26), y de 8 (4; 18) para los no mutados, siendo no significativa  $p=0.337$ , lo que se aprecia claramente en el gráfico de Caja correspondiente, cuyas líneas coinciden con el carácter agresivo de los tumores con BRAF mutado, aunque estadísticamente no significativo, probablemente por la misma razón ya esgrimida con anterioridad.

### **5.3.10 Variable Recidiva Tumoral.**

Para la variable Recidiva, considerándose para ella los casos reintervenidos por restos neoplásicos o por aparición de nuevos ganglios linfáticos positivos, esta variable se dio solamente en 10 casos (16.7%) con predominio en los casos mutados en 7 casos (21.2 %). Para el análisis de porcentaje, las cifras fueron de 17.5 (4; 26) para los mutados y de 11(9; 18) para los no mutados, lo que da una  $p=0.385$  no significativa. No obstante, se aprecia en el gráfico de cajas la mayor tendencia a mostrar recidivas en los casos mutados.

### **5.3.11. Variable Metástasis Ganglionares linfáticas.**

Por último, valoramos la presencia de metástasis ganglionares linfáticas regionales en los casos de CPT. Indudablemente, desde un punto de vista anatomoclínico, la presencia de metástasis ganglionares linfáticas, acompañadas de aumento de tamaño tumoral, del tipo histológico, infiltración y desmoplasia, así como un TNM y Estadio altos, son en conjunto los signos que tenemos que valorar con finalidad diagnóstica y pronóstica, en un CPT.

Todo lo anterior viene a indicar un pronóstico de mayor gravedad, cuando se dan esas posibilidades. Para nuestro estudio multivariante, la variable metástasis ganglionares linfáticas se dio en un total de 17 casos (28.4%), 12 mutados (36.4%) y 5 no mutados (18.5%) con una  $p=0.127$ . Como se aprecia, es más frecuente como era de esperar, en los casos mutados, aunque no fue significativa con un valor de  $p=0.085$ .

Por último, el análisis del porcentaje de la mutación BRAF mostró datos de 18 (4; 26) para los mutados y de 9 (4; 18) para no mutados, con un valor  $p=0.338$ , tampoco fue significativa con una  $p=0.338$ , teniendo la representación de gráficos de Caja, la clara tendencia de aumento de frecuencias en los casos mutados, como era de esperar

dado el carácter más agresivo de los tumores que se han desarrollado con la mutación positiva.

#### **5.4. DISCUSION RESULTADOS DE LOS CASOS CON MÁS DE UNA LESION.**

Hemos dejado para el final de nuestra discusión los casos que, por sus características peculiares, presentaron la lesión del CPT correspondiente y otra lesión folicular o papilar que consideramos interesante estudiar si poseían la mutación BRAF.

Ya hemos planteado anteriormente la posible relación entre la mutación BRAF y los estadios precoces de los CPT <sup>(127)</sup> e incluso autores que detectaron discordancias de la mutación en lesiones multifocales de CPT sobre un 40% de los casos <sup>(128)</sup>,<sup>(129)</sup>, otros sin embargo encuentran discordancia respecto de la mutación entre el tumor primitivo y sus metástasis ganglionares linfáticas <sup>(130)</sup>.

Parece ser que en esta temática se plantean dos situaciones. Por un lado la importancia que la mutación pueda tener en la evolución precoz del CPT o bien en los estadios finales metastáticos; y la segunda si hay diferencias respecto de la mutación en diferentes zonas del tumor o incluso dentro de la misma neoplasia <sup>(131)</sup>.

De esta forma, en una forma jerárquica de evolución de la mutación, en una fase precoz de la neoplasia la misma se transmite a todas las clonas celulares, mientras teóricamente en los estadios finales solo estarían en algunas clonas. <sup>(132)</sup> Para ello Guerra y Sapio <sup>(133)</sup> demostraron que los CPT presentaban diferentes clonas celulares mutadas o bien wild-type. En tal sentido Gandolfi <sup>(134)</sup>, encontró rangos de mutación que oscilaron entre un 7.5% y un 49.8 %, con una media de 27.4%, entre tumores y zonas.

Es indudable que dentro de un tumor, pueden aparecer zonas celulares no neoplásicas, como el estroma, los vasos etc, que ya hemos tratado con anterioridad y

que pueden modificar el porcentaje de la mutación alélica, incluso según el método de captación de las zonas tumorales. <sup>(133)</sup>

Sin embargo, pocas referencias hemos encontrado en el estudio de la mutación BRAF en lesiones concomitantes diferentes al CPT, aunque no obstante Nikiforova <sup>(62)</sup> halló porcentajes diferentes incluso en mutaciones heterocigóticas.

Para nuestros casos, hemos encontrado cierta similitud respecto de los porcentajes de mutación entre lesiones diferentes en una misma glándula tiroidea. Así, el caso 13 presentó un CPT de células altas con una mutación del 7% y una zona desdiferenciada con una mutación del 5%. En la mayor parte de la literatura <sup>(119)</sup> Prasad, Finkelstein<sup>(135)</sup>, o Xing<sup>(136)</sup>, se asocia la mutación BRAF con formas agresivas del CPT. En nuestra casuística, no hemos detectado esa asociación, aunque reconocemos que presentamos pocos casos con ese grado de desdiferenciación. Llama la atención en que tanto la parte diferenciada como la desdiferenciada no presentan la mutación, lo que contradice en parte la idea de las diferentes etapas en el desarrollo de los CPT.

Para el caso nº 15, hemos estudiado tres formas de lesión en el mismo paciente. La primera es un CPT variante Folicular con una mutación del 4%. La segunda de un Adenoma Folicular con un 5% y la tercera una lesión adenomatosa de mayor tamaño que mostró una mutación del 4%. En este caso, las tres lesiones coinciden en el bajo porcentaje de mutación alélica, lo cual aparece justificado dado que las formas de CPT variante Folicular, son las formas de este tumor menor mutación exhiben, siendo predictivas en muchas ocasiones de su negatividad, como hemos expuesto con anterioridad.

El caso nº 17, el CPT fue incidental con una mutación del 4% y la lesión acompañante fue un tipo de neoplasia oxifílica con patrón papilar con una mutación del 4% también.

En este caso, no mostraba signos nucleares evidentes de carcinoma y es evidente también, como se ha expuesto anteriormente también, que las lesiones oxifílicas muestran bajo porcentaje de mutación.

Por último, el caso 18, mostró la excepción a todo lo anteriormente expuesto. El CPT fue clásico con un 33% de mutación y la lesión acompañante fue una lesión papilar oxifílica también que no mostró mutación (3%), que sin embargo viene a confirmar lo que hemos planteados en esta parte de la discusión.

## **CONCLUSIONES**

***-M. S. Martínez Martín-***

## CONCLUSIONES

- I) La distribución de nuestros casos reveló predominio de la variante de CPT Clásica con el 41.7% de los casos, seguida por la de Células altas con un 16.7%, todo acorde con la literatura.
- II) La mutación BRAF para el CPT mostró un porcentaje del 55%, en nuestros casos.
- III) La variable estadística Infiltración de los límites tumorales resultó la única independiente, siendo por tanto un signo histológico de la presencia de la mutación BRAF con un valor también de tipo predictivo, según nuestro análisis multivariante.
- IV) Las otras variables significativas fueron la denominada por nosotros “Pink-atipia”, la Fibrosis intersticial y la Esclero-desmoplasia tumoral.
- V) Según el estudio estadístico del porcentaje de BRAF en escala continua la Esclero-desmoplasia se relaciona con un mayor porcentaje de mutación, mientras que la fibrosis mostró un signo contrario, revelando que la unión de la primera con la infiltración de los límites y la “Pink-atipia” es una asociación creciente mutacional y por lo tanto de agresividad del tumor y mal pronóstico.
- VI) Los cambios nucleares denominados núcleos vacíos o “ground-glass” y el aclaramiento de la cromatina de los CPT de tanto valor para los patólogos, no resultaron significativos, siendo necesario recurrir para su correcto diagnóstico a otros signos morfológicos nucleares, especialmente en la variante Folicular.
- VII) El Estadio tumoral >1 resultó significativo para el estudio del análisis de porcentaje, relacionándose la mutación BRAF con un peor pronóstico, como se ha descrito en la literatura.

VIII) La metástasis ganglionar linfática y la metástasis a distancia signos de mal pronóstico no resultaron para nosotros significativas, probablemente por escaso tamaño muestral de nuestra casuística.

IX) Desde nuestro punto de vista un estudio histopatológico detallado mediante las variables significativas, puede predecir la mutación en un porcentaje del 87.9 % lo que influye en la selección de los casos candidatos a determinar la mutación.

X) El estudio por porcentaje de la mutación BRAF en el CPT es un método muy eficaz para determinar una hipotética mala evolución y ser motivo de decidir las terapias preceptivas oportunas.

## **BIBLIOGRAFÍA**

**-M. S. Martínez Martín-**

## BIBLIOGRAFÍA

- (1) Pakneshan S, Salajegheh A, Smith RA, Lam AK. Clinicopathological relevance of BRAF mutations in human cancer. *Pathology* 2013 Jun;45(4):346-56.
- (2) Ritterhouse LL, Barletta JA. BRAF V600E mutation-specific antibody: A review. *Semin Diagn Pathol* 2015 Feb 7.
- (3) Rego-Iraeta A, Perez-Mendez LF, Mantinan B, Garcia-Mayor RV. Time trends for thyroid cancer in northwestern Spain: true rise in the incidence of micro and larger forms of papillary thyroid carcinoma. *Thyroid* 2009 Apr;19(4):333-40.
- (4) Alevizaki M, Papageorgiou G, Rentziou G, Saltiki K, Marafelia P, Loukari E, et al. Increasing prevalence of papillary thyroid carcinoma in recent years in Greece: the majority are incidental. *Thyroid* 2009 Jul;19(7):749-54.
- (5) Londero SC, Krogdahl A, Bastholt L, Overgaard J, Pedersen HB, Frisch T, et al. Papillary thyroid carcinoma in Denmark 1996-2008: an investigation of changes in incidence. *Cancer Epidemiol* 2013 Feb;37(1):e1-e6.
- (6) Radespiel-Troger M, Batzler WU, Holleczeck B, Luttmann S, Pritzkeleit R, Stabenow R, et al. [Rising incidence of papillary thyroid carcinoma in Germany]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 2014 Jan;57(1):84-92.
- (7) Kitagawa W, Shimizu K, Akasu H, Tanaka S. [Endocrine surgery. The ninth report: the latest data on and clinical characteristics of the epidemiology of thyroid carcinoma]. *J Nippon Med Sch* 2003 Feb;70(1):57-61.
- (8) Wagner HE, Birrer A, Luscher B, Kinser J, Rosler H. [Risk factors in papillary thyroid cancer]. *Helv Chir Acta* 1993 Jun;59(5-6):819-23.
- (9) Blackburn DJ, Michel LA, Rosiere A, Trigaux JP, Donckier JE. Occurrence of thyroid papillary carcinoma in young patients. A Chernobyl connection? *J Pediatr Endocrinol Metab* 2001 May;14(5):503-6.
- (10) Dinets A, Hulchiy M, Sofiadis A, Ghaderi M, Hoog A, Larsson C, et al. Clinical, genetic, and immunohistochemical characterization of 70 Ukrainian adult cases with post-Chernobyl papillary thyroid carcinoma. *Eur J Endocrinol* 2012 Jun;166(6):1049-60.
- (11) Fridman M, Savva N, Krasko O, Mankovskaya S, Branovan DI, Schmid KW, et al. Initial presentation and late results of treatment of post-Chernobyl papillary thyroid carcinoma in children and adolescents of Belarus. *J Clin Endocrinol Metab* 2014 Aug;99(8):2932-41.
- (12) Ito Y, Kihara M, Takamura Y, Kobayashi K, Miya A, Hirokawa M, et al. Prognosis and prognostic factors of papillary thyroid carcinoma in patients under 20 years. *Endocr J* 2012;59(7):539-45.

- (13) Richter H, Braselmann H, Hieber L, Thomas G, Bogdanova T, Tronko N, et al. Chromosomal imbalances in post-chernobyl thyroid tumors. *Thyroid* 2004 Dec;14(12):1061-4.
- (14) Collini P, Massimino M, Leite SF, Mattavelli F, Seregni E, Zucchini N, et al. Papillary thyroid carcinoma of childhood and adolescence: a 30-year experience at the Istituto Nazionale Tumori in Milan. *Pediatr Blood Cancer* 2006 Mar;46(3):300-6.
- (15) Giagourta I, Evangelopoulou C, Papaioannou G, Kassi G, Zapanti E, Prokopiou M, et al. Autoimmune thyroiditis in benign and malignant thyroid nodules: 16-year results. *Head Neck* 2014 Apr;36(4):531-5.
- (16) Jankovic B, Le KT, Hershman JM. Clinical Review: Hashimoto's thyroiditis and papillary thyroid carcinoma: is there a correlation? *J Clin Endocrinol Metab* 2013 Feb;98(2):474-82.
- (17) Boostrom S, Richards ML. Total thyroidectomy is the preferred treatment for patients with Graves' disease and a thyroid nodule. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2007 Feb;136(2):278-81.
- (18) Boutzios G, Vasileiadis I, Zapanti E, Charitoudis G, Karakostas E, Ieromonachou P, et al. Higher incidence of tall cell variant of papillary thyroid carcinoma in Graves' Disease. *Thyroid* 2014 Feb;24(2):347-54.
- (19) Herraiz M, Barbesino G, Faquin W, Chan-Smutko G, Patel D, Shannon KM, et al. Prevalence of thyroid cancer in familial adenomatous polyposis syndrome and the role of screening ultrasound examinations. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007 Mar;5(3):367-73.
- (20) Sakai Y, Koizumi K, Sugitani I, Nakagawa K, Arai M, Utsunomiya J, et al. Familial adenomatous polyposis associated with multiple endocrine neoplasia type 1-related tumors and thyroid carcinoma: a case report with clinicopathologic and molecular analyses. *Am J Surg Pathol* 2002 Jan;26(1):103-10.
- (21) Tresallet C, Seman M, Tissier F, Buffet C, Lupinacci RM, Vuarnesson H, et al. The incidence of papillary thyroid carcinoma and outcomes in operative patients according to their body mass indices. *Surgery* 2014 Nov;156(5):1145-52.
- (22) Candanedo-Gonzalez FA, Gamboa-Dominguez A. Postmenopause is associated with recurrence of differentiated papillary thyroid carcinoma. *Med Hypotheses* 2007;69(1):209-13.
- (23) Cheng V, Brainard J, Nasr C. Co-occurrence of papillary thyroid carcinoma and primary lymphoma of the thyroid in a patient with long-standing Hashimoto's thyroiditis. *Thyroid* 2012 Jun;22(6):647-50.
- (24) Tarui T, Ishikawa N, Kadoya S, Watanabe G. Co-occurrence of papillary thyroid cancer and MALT lymphoma of the thyroid with severe airway

- obstruction: A case report and review of the literature. *Int J Surg Case Rep* 2014;5(9):594-7.
- (25) Hundahl SA, Cady B, Cunningham MP, Mazzaferri E, McKee RF, Rosai J, et al. Initial results from a prospective cohort study of 5583 cases of thyroid carcinoma treated in the united states during 1996. U.S. and German Thyroid Cancer Study Group. An American College of Surgeons Commission on Cancer Patient Care Evaluation study. *Cancer* 2000 Jul 1;89(1):202-17.
- (26) Carcangiu ML, Zampi G, Pupi A, Castagnoli A, Rosai J. Papillary carcinoma of the thyroid. A clinicopathologic study of 241 cases treated at the University of Florence, Italy. *Cancer* 1985 Feb 15;55(4):805-28.
- (27) Ito Y, Hirokawa M, Fukushima M, Inoue H, Yabuta T, Uruno T, et al. Occult papillary thyroid carcinoma: diagnostic and clinical implications in the era of routine ultrasonography. *World J Surg* 2008 Sep;32(9):1955-60.
- (28) Shin LK, Olcott EW, Jeffrey RB, Desser TS. Sonographic evaluation of cervical lymph nodes in papillary thyroid cancer. *Ultrasound Q* 2013 Mar;29(1):25-32.
- (29) Carcangiu ML, Zampi G, Rosai J. Papillary thyroid carcinoma: a study of its many morphologic expressions and clinical correlates. *Pathol Annu* 1985;20 Pt 1:1-44.
- (30) Tscholl-Ducommun J, Hedinger CE. Papillary thyroid carcinomas. Morphology and prognosis. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol* 1982;396(1):19-39.
- (31) He F, Li H, Li WS, Dong XH. [Expression of mucin-I and beta-catenin in papillary thyroid carcinoma and the clinical significance thereof]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2009 Feb 17;89(6):393-6.
- (32) Rezk S, Brynes RK, Nelson V, Thein M, Patwardhan N, Fischer A, et al. beta-Catenin expression in thyroid follicular lesions: potential role in nuclear envelope changes in papillary carcinomas. *Endocr Pathol* 2004;15(4):329-37.
- (33) Chan JK, Saw D. The grooved nucleus. A useful diagnostic criterion of papillary carcinoma of the thyroid. *Am J Surg Pathol* 1986 Oct;10(10):672-9.
- (34) Yamashita T, Hosoda Y, Kameyama K, Aiba M, Ito K, Fujimoto Y. Peculiar nuclear clearing composed of microfilaments in papillary carcinoma of the thyroid. *Cancer* 1992 Dec 15;70(12):2923-8.
- (35) Tsang WY, Chan JK. Peculiar nuclear clearing composed of microfilaments in papillary carcinoma of the thyroid. *Cancer* 1993 Jul 1;72(1):300.
- (36) Lee TK, Myers RT, Marshall RB, Bond MG, Kardon B. The significance of mitotic rate: a retrospective study of 127 thyroid carcinomas. *Hum Pathol* 1985 Oct;16(10):1042-6.
- (37) Patchefsky AS, Hoch WS. Psammoma bodies in diffuse toxic goiter. *Am J Clin Pathol* 1972 May;57(5):551-6.

- (38) Klinck GH, Winship T. Psammoma bodies and thyroid cancer. *Cancer* 1959 Jul;12(4):656-62.
- (39) Margolin FR, Winfield J, Steinbach HL. Patterns of thyroid calcification. Roentgenologic-histologic study of excised specimens. *Invest Radiol* 1967 May;2(3):208-12.
- (40) Hunt JL, Barnes EL. Non-tumor-associated psammoma bodies in the thyroid. *Am J Clin Pathol* 2003 Jan;119(1):90-4.
- (41) Johannessen JV, Gould VE, Jao W. The fine structure of human thyroid cancer. *Hum Pathol* 1978 Jul;9(4):385-400.
- (42) Selzer G, Kahn LB, Albertyn L. Primary malignant tumors of the thyroid gland: a clinicopathologic study of 254 cases. *Cancer* 1977 Oct;40(4):1501-10.
- (43) Russell WO, Ibanez ML, Clark RL, White EC. THYROID CARCINOMA. CLASSIFICATION, INTRAGLANDULAR DISSEMINATION, AND CLINICOPATHOLOGICAL STUDY BASED UPON WHOLE ORGAN SECTIONS OF 80 GLANDS. *Cancer* 1963 Nov;16:1425-60.
- (44) Chan JK. Papillary carcinoma of thyroid: classical and variants. *Histol Histopathol* 1990 Apr;5(2):241-57.
- (45) Hay ID, Grant CS, van Heerden JA, Goellner JR, Ebersold JR, Bergstralh EJ. Papillary thyroid microcarcinoma: a study of 535 cases observed in a 50-year period. *Surgery* 1992 Dec;112(6):1139-46.
- (46) Hunt JL, LiVolsi VA, Baloch ZW, Barnes EL, Swalsky PA, Niehouse L, et al. Microscopic papillary thyroid carcinoma compared with clinical carcinomas by loss of heterozygosity mutational profile. *Am J Surg Pathol* 2003 Feb;27(2):159-66.
- (47) Harach HR, Franssila KO, Wasenius VM. Occult papillary carcinoma of the thyroid. A "normal" finding in Finland. A systematic autopsy study. *Cancer* 1985 Aug 1;56(3):531-8.
- (48) Fink A, Tomlinson G, Freeman JL, Rosen IB, Asa SL. Occult micropapillary carcinoma associated with benign follicular thyroid disease and unrelated thyroid neoplasms. *Mod Pathol* 1996 Aug;9(8):816-20.
- (49) Yang GC, LiVolsi VA, Baloch ZW. Thyroid microcarcinoma: fine-needle aspiration diagnosis and histologic follow-up. *Int J Surg Pathol* 2002 Apr;10(2):133-9.
- (50) Min HS, Choe G, Kim SW, Park YJ, Park dJ, Youn YK, et al. S100A4 expression is associated with lymph node metastasis in papillary microcarcinoma of the thyroid. *Mod Pathol* 2008 Jun;21(6):748-55.
- (51) LiVolsi VA, Abrosimov AA, Bogdanova T, Fadda G, Hunt JL, Ito M, et al. The Chernobyl thyroid cancer experience: pathology. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2011 May;23(4):261-7.

- (52) Williams ED. Chernobyl and thyroid cancer. *J Surg Oncol* 2006 Dec 15;94(8):670-7.
- (53) Williams ED. Chernobyl, 15 years later, correlation of clinical, epidemiological and molecular outcomes. *Ann Endocrinol (Paris)* 2003 Feb;64(1):72.
- (54) Rosai J, Zampi G, Carcangiu ML. Papillary carcinoma of the thyroid. A discussion of its several morphologic expressions, with particular emphasis on the follicular variant. *Am J Surg Pathol* 1983 Dec;7(8):809-17.
- (55) Zidan J, Karen D, Stein M, Rosenblatt E, Basher W, Kuten A. Pure versus follicular variant of papillary thyroid carcinoma: clinical features, prognostic factors, treatment, and survival. *Cancer* 2003 Mar 1;97(5):1181-5.
- (56) Nikiforov YE, Erickson LA, Nikiforova MN, Caudill CM, Lloyd RV. Solid variant of papillary thyroid carcinoma: incidence, clinical-pathologic characteristics, molecular analysis, and biologic behavior. *Am J Surg Pathol* 2001 Dec;25(12):1478-84.
- (57) Lugli A, Terracciano LM, Oberholzer M, Bubendorf L, Tornillo L. Macrofollicular variant of papillary carcinoma of the thyroid: a histologic, cytologic, and immunohistochemical study of 3 cases and review of the literature. *Arch Pathol Lab Med* 2004 Jan;128(1):54-8.
- (58) Hofman V, Lassalle S, Bonnetaud C, Butori C, Loubatier C, Ilie M, et al. Thyroid tumours of uncertain malignant potential: frequency and diagnostic reproducibility. *Virchows Arch* 2009 Jul;455(1):21-33.
- (59) Wreesmann VB, Ghossein RA, Hezel M, Banerjee D, Shaha AR, Tuttle RM, et al. Follicular variant of papillary thyroid carcinoma: genome-wide appraisal of a controversial entity. *Genes Chromosomes Cancer* 2004 Aug;40(4):355-64.
- (60) Rosai J. The encapsulated follicular variant of papillary thyroid carcinoma: back to the drawing board. *Endocr Pathol* 2010 Mar;21(1):7-11.
- (61) Sobrinho-Simoes M, Nesland JM, Johannessen JV. Columnar-cell carcinoma. Another variant of poorly differentiated carcinoma of the thyroid. *Am J Clin Pathol* 1988 Feb;89(2):264-7.
- (62) Nikiforova MN, Kimura ET, Gandhi M, Biddinger PW, Knauf JA, Basolo F, et al. BRAF mutations in thyroid tumors are restricted to papillary carcinomas and anaplastic or poorly differentiated carcinomas arising from papillary carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2003 Nov;88(11):5399-404.
- (63) Berends D, Mouthaan PJ. Columnar-cell carcinoma of the thyroid. *Histopathology* 1992 Apr;20(4):360-2.
- (64) Gaertner EM, Davidson M, Wenig BM. The columnar cell variant of thyroid papillary carcinoma. Case report and discussion of an unusually aggressive thyroid papillary carcinoma. *Am J Surg Pathol* 1995 Aug;19(8):940-7.

- (65) Hirokawa M, Shimizu M, Fukuya T, Manabe T, Sonoo H. Columnar Cell Carcinoma of the Thyroid: MIB-1 Immunoreactivity as a Prognostic Factor. *Endocr Pathol* 1998;9(1):31-4.
- (66) Chen JH, Faquin WC, Lloyd RV, Nose V. Clinicopathological and molecular characterization of nine cases of columnar cell variant of papillary thyroid carcinoma. *Mod Pathol* 2011 May;24(5):739-49.
- (67) Cameselle-Teijeiro J, Abdulkader I, Barreiro-Morandeira F, Ruiz-Ponte C, Reyes-Santias R, Chavez E, et al. Breast tumor resembling the tall cell variant of papillary thyroid carcinoma: a case report. *Int J Surg Pathol* 2006 Jan;14(1):79-84.
- (68) Evans HL. Encapsulated papillary neoplasms of the thyroid. A study of 14 cases followed for a minimum of 10 years. *Am J Surg Pathol* 1987 Aug;11(8):592-7.
- (69) Thompson LD, Wieneke JA, Heffess CS. Diffuse sclerosing variant of papillary thyroid carcinoma: a clinicopathologic and immunophenotypic analysis of 22 cases. *Endocr Pathol* 2005;16(4):331-48.
- (70) Carcangiu ML, Bianchi S. Diffuse sclerosing variant of papillary thyroid carcinoma. Clinicopathologic study of 15 cases. *Am J Surg Pathol* 1989 Dec;13(12):1041-9.
- (71) Sheu SY, Schwertheim S, Worm K, Grabellus F, Schmid KW. Diffuse sclerosing variant of papillary thyroid carcinoma: lack of BRAF mutation but occurrence of RET/PTC rearrangements. *Mod Pathol* 2007 Jul;20(7):779-87.
- (72) Trovisco V, Vieira dC, I, Soares P, Maximo V, Silva P, Magalhaes J, et al. BRAF mutations are associated with some histological types of papillary thyroid carcinoma. *J Pathol* 2004 Feb;202(2):247-51.
- (73) Nakatani Y, Masudo K, Nozawa A, Inayama Y, Yamanaka S, Ito T, et al. Biotin-rich, optically clear nuclei express estrogen receptor-beta: tumors with morules may develop under the influence of estrogen and aberrant beta-catenin expression. *Hum Pathol* 2004 Jul;35(7):869-74.
- (74) Kameyama K, Mukai M, Takami H, Ito K. Cribriform-morular variant of papillary thyroid carcinoma: ultrastructural study and somatic/germline mutation analysis of the APC gene. *Ultrastruct Pathol* 2004 Mar;28(2):97-102.
- (75) Toti P, Tanganelli P, Schurfeld K, Stumpo M, Barbagli L, Vatti R, et al. Scarring in papillary carcinoma of the thyroid: report of two new cases with exuberant nodular fasciitis-like stroma. *Histopathology* 1999 Nov;35(5):418-22.
- (76) Cheung CC, Ezzat S, Freeman JL, Rosen IB, Asa SL. Immunohistochemical diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *Mod Pathol* 2001 Apr;14(4):338-42.

- (77) Bejarano PA, Nikiforov YE, Swenson ES, Biddinger PW. Thyroid transcription factor-1, thyroglobulin, cytokeratin 7, and cytokeratin 20 in thyroid neoplasms. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2000 Sep;8(3):189-94.
- (78) Degroot LJ, Kaplan EL, McCormick M, Straus FH. Natural history, treatment, and course of papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 1990 Aug;71(2):414-24.
- (79) Cady B. Papillary carcinoma of the thyroid. *Semin Surg Oncol* 1991 Mar;7(2):81-6.
- (80) Vini L, Hyer SL, Marshall J, A'Hern R, Harmer C. Long-term results in elderly patients with differentiated thyroid carcinoma. *Cancer* 2003 Jun 1;97(11):2736-42.
- (81) Carcangiu ML, Zampi G, Pupi A, Castagnoli A, Rosai J. Papillary carcinoma of the thyroid. A clinicopathologic study of 241 cases treated at the University of Florence, Italy. *Cancer* 1985 Feb 15;55(4):805-28.
- (82) Torres J, Volpato RD, Power EG, Lopez EC, Dominguez ME, Maira JL, et al. Thyroid cancer. Survival in 148 cases followed for 10 years or more. *Cancer* 1985 Nov 1;56(9):2298-304.
- (83) Acharya S, Sarafoglou K, LaQuaglia M, Lindsley S, Gerald W, Wollner N, et al. Thyroid neoplasms after therapeutic radiation for malignancies during childhood or adolescence. *Cancer* 2003 May 15;97(10):2397-403.
- (84) Mai KT, Perkins DG, Yazdi HM, Commons AS, Thomas J, Meban S. Infiltrating papillary thyroid carcinoma: review of 134 cases of papillary carcinoma. *Arch Pathol Lab Med* 1998 Feb;122(2):166-71.
- (85) Sobrinho-Simoes M. Hail to the histologic grading of papillary thyroid carcinoma? *Cancer* 2000 Apr 15;88(8):1766-8.
- (86) Klemi PJ, Joensuu H, Maenpaa J, Kiilholma P. Influence of cellular DNA content on survival in ovarian carcinoma. *Obstet Gynecol* 1989 Aug;74(2):200-4.
- (87) Cradic KW, Milosevic D, Rosenberg AM, Erickson LA, McIver B, Grebe SK. Mutant BRAF(T1799A) can be detected in the blood of papillary thyroid carcinoma patients and correlates with disease status. *J Clin Endocrinol Metab* 2009 Dec;94(12):5001-9.
- (88) Xing M, Westra WH, Tufano RP, Cohen Y, Rosenbaum E, Rhoden KJ, et al. BRAF mutation predicts a poorer clinical prognosis for papillary thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2005 Dec;90(12):6373-9.
- (89) Elisei R, Ugolini C, Viola D, Lupi C, Biagini A, Giannini R, et al. BRAF(V600E) mutation and outcome of patients with papillary thyroid carcinoma: a 15-year median follow-up study. *J Clin Endocrinol Metab* 2008 Oct;93(10):3943-9.

- (90) Frazell EL, Foote FW, Jr. Papillary thyroid carcinoma: pathological findings in cases with and without clinical evidence of cervical node involvement. *Cancer* 1955 Nov;8(6):1164-6.
- (91) Kimura ET, Nikiforova MN, Zhu Z, Knauf JA, Nikiforov YE, Fagin JA. High prevalence of BRAF mutations in thyroid cancer: genetic evidence for constitutive activation of the RET/PTC-RAS-BRAF signaling pathway in papillary thyroid carcinoma. *Cancer Res* 2003 Apr 1;63(7):1454-7.
- (92) Soares P, Trovisco V, Rocha AS, Lima J, Castro P, Preto A, et al. BRAF mutations and RET/PTC rearrangements are alternative events in the etiopathogenesis of PTC. *Oncogene* 2003 Jul 17;22(29):4578-80.
- (93) Castellone MD, Santoro M. Dysregulated RET signaling in thyroid cancer. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2008 Jun;37(2):363-74, viii.
- (94) Adeniran AJ, Zhu Z, Gandhi M, Steward DL, Fidler JP, Giordano TJ, et al. Correlation between genetic alterations and microscopic features, clinical manifestations, and prognostic characteristics of thyroid papillary carcinomas. *Am J Surg Pathol* 2006 Feb;30(2):216-22.
- (95) Basolo F, Giannini R, Monaco C, Melillo RM, Carlomagno F, Pancrazi M, et al. Potent mitogenicity of the RET/PTC3 oncogene correlates with its prevalence in tall-cell variant of papillary thyroid carcinoma. *Am J Pathol* 2002 Jan;160(1):247-54.
- (96) Kondo T, Ezzat S, Asa SL. Pathogenetic mechanisms in thyroid follicular-cell neoplasia. *Nat Rev Cancer* 2006 Apr;6(4):292-306.
- (97) Virk RK, Theoharis CG, Prasad A, Chhieng D, Prasad ML. Morphology predicts BRAF (V(6)(0)(0)E) mutation in papillary thyroid carcinoma: an interobserver reproducibility study. *Virchows Arch* 2014 Apr;464(4):435-42.
- (98) Lupi C, Giannini R, Ugolini C, Proietti A, Berti P, Minuto M, et al. Association of BRAF V600E mutation with poor clinicopathological outcomes in 500 consecutive cases of papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2007 Nov;92(11):4085-90.
- (99) Eloy C, Santos J, Soares P, Sobrinho-Simoes M. The preeminence of growth pattern and invasiveness and the limited influence of BRAF and RAS mutations in the occurrence of papillary thyroid carcinoma lymph node metastases. *Virchows Arch* 2011 Sep;459(3):265-76.
- (100) Cheng SP, Hsu YC, Liu CL, Liu TP, Chien MN, Wang TY, et al. Significance of allelic percentage of BRAF c.1799T > A (V600E) mutation in papillary thyroid carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2014 Dec;21 Suppl 4:S619-S626.
- (101) Xing Y, Luo DY, Long MY, Zeng SL, Li HH. High ALDH1A1 expression correlates with poor survival in papillary thyroid carcinoma. *World J Surg Oncol* 2014;12:29.

- (102) Guerra A, Fugazzola L, Marotta V, Cirillo M, Rossi S, Cirello V, et al. A high percentage of BRAFV600E alleles in papillary thyroid carcinoma predicts a poorer outcome. *J Clin Endocrinol Metab* 2012 Jul;97(7):2333-40.
- (103) Gandolfi G, Sancisi V, Piana S, Ciarrocchi A. Time to re-consider the meaning of BRAF V600E mutation in papillary thyroid carcinoma. *Int J Cancer* 2014 May 15.
- (104) Gandolfi G, Sancisi V, Torricelli F, Ragazzi M, Frasoldati A, Piana S, et al. Allele percentage of the BRAF V600E mutation in papillary thyroid carcinomas and corresponding lymph node metastases: no evidence for a role in tumor progression. *J Clin Endocrinol Metab* 2013 May;98(5):E934-E942.
- (105) Kim SK, Kim DL, Han HS, Kim WS, Kim SJ, Moon WJ, et al. Pyrosequencing analysis for detection of a BRAFV600E mutation in an FNAB specimen of thyroid nodules. *Diagn Mol Pathol* 2008 Jun;17(2):118-25.
- (106) Virk RK, Van Dyke AL, Finkelstein A, Prasad A, Gibson J, Hui P, et al. BRAFV600E mutation in papillary thyroid microcarcinoma: a genotype-phenotype correlation. *Mod Pathol* 2013 Jan;26(1):62-70.
- (107) Kimura ET, Nikiforova MN, Zhu Z, Knauf JA, Nikiforov YE, Fagin JA. High prevalence of BRAF mutations in thyroid cancer: genetic evidence for constitutive activation of the RET/PTC-RAS-BRAF signaling pathway in papillary thyroid carcinoma. *Cancer Res* 2003 Apr 1;63(7):1454-7.
- (108) Jovanovic L, Delahunt B, McIver B, Eberhardt NL, Grebe SK. Most multifocal papillary thyroid carcinomas acquire genetic and morphotype diversity through subclonal evolution following the intra-glandular spread of the initial neoplastic clone. *J Pathol* 2008 Jun;215(2):145-54.
- (109) Vasko V, Hu S, Wu G, Xing JC, Larin A, Savchenko V, et al. High prevalence and possible de novo formation of BRAF mutation in metastasized papillary thyroid cancer in lymph nodes. *J Clin Endocrinol Metab* 2005 Sep;90(9):5265-9.
- (110) Vasko V, Espinosa AV, Scouten W, He H, Auer H, Liyanarachchi S, et al. Gene expression and functional evidence of epithelial-to-mesenchymal transition in papillary thyroid carcinoma invasion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007 Feb 20;104(8):2803-8.
- (111) Aparicio S, Caldas C. The implications of clonal genome evolution for cancer medicine. *N Engl J Med* 2013 Feb 28;368(9):842-51.
- (112) Xing M. BRAFV600E mutation and papillary thyroid cancer: chicken or egg? *J Clin Endocrinol Metab* 2012 Jul;97(7):2295-8.
- (113) Howell GM, Nikiforova MN, Carty SE, Armstrong MJ, Hodak SP, Stang MT, et al. BRAF V600E mutation independently predicts central compartment lymph node metastasis in patients with papillary thyroid cancer. *Ann Surg Oncol* 2013 Jan;20(1):47-52.

- (114) Cheng SP, Liu CL, Hsu YC, Chang YC, Huang SY, Lee JJ. Expression and biologic significance of adiponectin receptors in papillary thyroid carcinoma. *Cell Biochem Biophys* 2013 Mar;65(2):203-10.
- (115) Guerra A, Sapio MR, Marotta V, Campanile E, Rossi S, Forno I, et al. The primary occurrence of BRAF(V600E) is a rare clonal event in papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2012 Feb;97(2):517-24.
- (116) Torres J, Volpato RD, Power EG, Lopez EC, Dominguez ME, Maira JL, et al. Thyroid cancer. Survival in 148 cases followed for 10 years or more. *Cancer* 1985 Nov 1;56(9):2298-304.
- (117) Vini L, Hyer SL, Marshall J, A'Hern R, Harmer C. Long-term results in elderly patients with differentiated thyroid carcinoma. *Cancer* 2003 Jun 1;97(11):2736-42.
- (118) Virk RK, Theoharis CG, Prasad A, Chhieng D, Prasad ML. Morphology predicts BRAF (V(6)(0)(0)E) mutation in papillary thyroid carcinoma: an interobserver reproducibility study. *Virchows Arch* 2014 Apr;464(4):435-42.
- (119) Guerra A, Fugazzola L, Marotta V, Cirillo M, Rossi S, Cirello V, et al. A high percentage of BRAFV600E alleles in papillary thyroid carcinoma predicts a poorer outcome. *J Clin Endocrinol Metab* 2012 Jul;97(7):2333-40.
- (120) Hay ID, Grant CS, van Heerden JA, Goellner JR, Ebersold JR, Bergstralh EJ. Papillary thyroid microcarcinoma: a study of 535 cases observed in a 50-year period. *Surgery* 1992 Dec;112(6):1139-46.
- (121) Cheng SP, Hsu YC, Liu CL, Liu TP, Chien MN, Wang TY, et al. Significance of allelic percentage of BRAF c.1799T > A (V600E) mutation in papillary thyroid carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2014 Dec;21 Suppl 4:S619-S626.
- (122) Albores-Saavedra J, Housini I, Vuitch F, Snyder WH, III. Macrofollicular variant of papillary thyroid carcinoma with minor insular component. *Cancer* 1997 Sep 15;80(6):1110-6.
- (123) Albores-Saavedra J, Gould E, Vardaman C, Vuitch F. The macrofollicular variant of papillary thyroid carcinoma: a study of 17 cases. *Hum Pathol* 1991 Dec;22(12):1195-205.
- (124) Gandolfi G, Sancisi V, Torricelli F, Ragazzi M, Frasoldati A, Piana S, et al. Allele percentage of the BRAF V600E mutation in papillary thyroid carcinomas and corresponding lymph node metastases: no evidence for a role in tumor progression. *J Clin Endocrinol Metab* 2013 May;98(5):E934-E942.
- (125) Gandolfi G, Sancisi V, Torricelli F, Ragazzi M, Frasoldati A, Piana S, et al. Allele percentage of the BRAF V600E mutation in papillary thyroid carcinomas and corresponding lymph node metastases: no evidence for a role in tumor progression. *J Clin Endocrinol Metab* 2013 May;98(5):E934-E942.

- (126) Gandolfi G, Sancisi V, Torricelli F, Ragazzi M, Frasoldati A, Piana S, et al. Allele percentage of the BRAF V600E mutation in papillary thyroid carcinomas and corresponding lymph node metastases: no evidence for a role in tumor progression. *J Clin Endocrinol Metab* 2013 May;98(5):E934-E942.
- (127) Jovanovic L, Delahunt B, McIver B, Eberhardt NL, Grebe SK. Most multifocal papillary thyroid carcinomas acquire genetic and morphotype diversity through subclonal evolution following the intra-glandular spread of the initial neoplastic clone. *J Pathol* 2008 Jun;215(2):145-54.
- (128) Park SY, Park YJ, Lee YJ, Lee HS, Choi SH, Choe G, et al. Analysis of differential BRAF(V600E) mutational status in multifocal papillary thyroid carcinoma: evidence of independent clonal origin in distinct tumor foci. *Cancer* 2006 Oct 15;107(8):1831-8.
- (129) Giannini R, Ugolini C, Lupi C, Proietti A, Elisei R, Salvatore G, et al. The heterogeneous distribution of BRAF mutation supports the independent clonal origin of distinct tumor foci in multifocal papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2007 Sep;92(9):3511-6.
- (130) Vasko V, Hu S, Wu G, Xing JC, Larin A, Savchenko V, et al. High prevalence and possible de novo formation of BRAF mutation in metastasized papillary thyroid cancer in lymph nodes. *J Clin Endocrinol Metab* 2005 Sep;90(9):5265-9.
- (131) Xing M. BRAFV600E mutation and papillary thyroid cancer: chicken or egg? *J Clin Endocrinol Metab* 2012 Jul;97(7):2295-8.
- (132) Aparicio S, Caldas C. The implications of clonal genome evolution for cancer medicine. *N Engl J Med* 2013 Feb 28;368(9):842-51.
- (133) Guerra A, Sapio MR, Marotta V, Campanile E, Rossi S, Forno I, et al. The primary occurrence of BRAF(V600E) is a rare clonal event in papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2012 Feb;97(2):517-24.
- (134) Gandolfi G, Sancisi V, Piana S, Ciarrocchi A. Time to re-consider the meaning of BRAF V600E mutation in papillary thyroid carcinoma. *Int J Cancer* 2014 May 15.
- (135) Lin X, Finkelstein SD, Zhu B, Silverman JF. Molecular analysis of multifocal papillary thyroid carcinoma. *J Mol Endocrinol* 2008 Oct;41(4):195-203.
- (136) Xing Y, Luo DY, Long MY, Zeng SL, Li HH. High ALDH1A1 expression correlates with poor survival in papillary thyroid carcinoma. *World J Surg Oncol* 2014;12:29.