

BIOLOGÍA MOLECULAR EN EL CÁNCER DE TIROIDES

GASTÓN CHIGANER,^{(1)*} SERGIO GHERSEVICH,⁽²⁾ ARIEL SÁNCHEZ,⁽³⁾ JOSÉ LUIS NOVELLI.⁽⁴⁾

1) Docente de la 1ª Cátedra de Clínica Médica y Terapéutica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario; Consultorios Integrados Rosario; 2) Profesor, Área Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, 3) Centro de Endocrinología, Rosario; 4) Director del Centro de Tiroides, Rosario.

Resumen

Las neoplasias de tiroides dan cuenta de aproximadamente el 5% de todas las lesiones nodulares de la glándula. La mayoría de los mismos son carcinomas bien diferenciados, que se originan del epitelio folicular. Los carcinomas medulares e indiferenciados son menos frecuentes. A pesar de que la mayoría de las lesiones son benignas, la distinción entre éstas y carcinomas es crucial para un tratamiento y seguimiento apropiado. La punción aspirativa con aguja fina (PAAF) permite realizar el diagnóstico en la mayoría de los casos. Sin embargo, la PAAF presenta algunas limitaciones, particularmente en las lesiones foliculares. En un esfuerzo por mejorar la precisión diagnóstica y ofrecer nuevos criterios pronósticos, múltiples marcadores inmunohistoquímicos y moleculares fueron propuestos. Algunos de los mismos ya presentan gran aprobación, mientras que otros requieren aún validación en amplias series, previa a su implementación. En este artículo se pretende realizar una revisión actualizada de los distintos métodos disponibles con este fin.

Palabras clave: cáncer de tiroides, biomarcadores, señales moleculares, PAAF, tumorigénesis

MOLECULAR BIOLOGY IN THYROID CANCER

Summary

About 5% of thyroid nodules harbor a thyroid cancer. Most carcinomas are well-differentiated cancers originating from the follicular epithelium, and are subdivided into papillary and follicular carcinomas. Undifferentiated carcinomas and medullary thyroid carcinomas are less common. Although most thyroid nodules are benign, distinguishing thyroid cancer from benign lesions is crucial for an appropriate treatment and follow-up. The fine needle aspiration cytology (FNAC) allows the diagnosis of nature of thyroid nodules in the majority of cases. However, FNAC has some limitations, particularly in the presence of follicular lesions which can appear dubious in rare instances even at histology. In an effort to improve diagnostic accuracy and offer new prognostic criteria, several immunohistochemical and molecular markers have been proposed. However, most of them have to be validated in large series before being used in routine practice.

Key words: thyroid cancer, biomarkers, molecular signals, FNAC, tumorigenesis pathways

* Correo electrónico: gchiga@yahoo.com.ar

INTRODUCCIÓN

Los tumores tiroideos tienen una amplia forma de expresión, ya sea como una lesión benigna o como una maligna que varía desde bien diferenciada a totalmente indiferenciada.

Los carcinomas tiroideos son los más frecuentes dentro de los tumores endocrinos, con una incidencia en aumento que alcanza el 0.4%; sin embargo, la sobrevivencia se mantiene estable, con un buen pronóstico en general.¹⁻³

El factor pronóstico más importante, aparte de la edad, el sexo y el tipo histológico, es el estadio tumoral, por lo que el diagnóstico y el tratamiento precoz son de suma importancia.⁴

Con el objetivo de mejorar la precisión diagnóstica, actualmente se dispone de marcadores biológicos con una sensibilidad y especificidad adecuadas, los cuales cada vez son más utilizados.⁵

En este trabajo se intenta actualizar la metodología diagnóstica concerniente a los marcadores biológicos y moleculares, que podrían explicar los eventos premonitores de la tumorigénesis tiroidea.

DIAGNÓSTICO DE MALIGNIDAD EN LAS LESIONES TIROIDEAS

Para arribar al diagnóstico de una lesión tiroidea se deben reunir los resultados de los distintos métodos diagnósticos, sean éstos clínicos, bioquímicos, imagenológicos o cito-histológicos.

Las lesiones tiroideas suelen presentarse como una lesión nodular, si bien la gran mayoría de los nódulos tiroideos (cerca del 95%) son benignos.⁶

Las neoplasias tiroideas incluyen tumores derivados del epitelio folicular (carcinoma papilar [CPT] y folicular [CFT]) y otros menos diferenciados (carcinoma medular [CMT], anaplásico [CAT]) y otros tumores menos frecuentes.

MARCADORES BIOLÓGICOS

Los marcadores diagnósticos se utilizan cada vez con mayor frecuencia con la finalidad de establecer mayor precisión en la diferenciación entre lesiones benignas y malignas.⁷

Se han estudiado diferentes marcadores moleculares e inmunohistoquímicos, de los cuales solo unos pocos han demostrado su utilidad en la práctica clínica. Se evalúa además si los mismos podrían brindar información pronóstica o en la detección de persistencia de la enfermedad, lo que podría cambiar la estrategia terapéutica.⁸ Su rol es

complementar la punción aspirativa con aguja fina (PAAF), a fin de mejorar la sensibilidad diagnóstica, evitando así procedimientos quirúrgicos innecesarios en pacientes con lesiones benignas.⁹

MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS

La necesidad de adicionar marcadores inmunohistoquímicos a las muestras citológicas e histológicas deriva de la dificultad en establecer un diagnóstico en las lesiones limítrofes (ej. carcinomas con patrones celulares atípicos, lesiones oncocíticas o foliculares como adenomas o carcinomas foliculares, adenomas o carcinomas de células de Hürthle y variantes foliculares de CPT).¹⁰

La inmunohistoquímica es una técnica capaz de reconocer proteínas específicas en muestras citológicas o histológicas. Todos los marcadores inmunológicos tienen la capacidad potencial de expresarse cuando el carcinoma se presenta, sin embargo los mismos presentan diferentes grados de sensibilidad y especificidad, por lo cual hasta el momento no se dispone de forma rutinaria de la utilización de dichos marcadores para el análisis de las muestras.¹¹

La mayor utilidad de estos marcadores reside en el diagnóstico de los CPT y CMT, mientras que no se dispone de pruebas validadas para el CFT.¹²⁻¹⁵

Para el CPT hay diferentes marcadores disponibles. Dentro de los mismos, encontramos que presentan un grado de sensibilidad y especificidad aceptables el anticuerpo Hector Battifora de células mesoteliales 1 (HBME-1), la citoqueratina 19 de alto peso molecular (CK19), la galectina-3 y el c-met.

HBME-1 es un anticuerpo monoclonal generado contra la superficie de las microvellosidades de las células mesoteliales. El mismo está presente en la mayoría de los cánceres de tiroides y ausente en lesiones benignas. Presenta una buena especificidad pero una baja sensibilidad, dado que no se expresa en casos de CPT con células oncocíticas.¹⁶

CK 19 presenta una gran sensibilidad para CPT, pero con una pobre especificidad, dado que el mismo se encuentra presente en los márgenes sanos de un tejido tumoral y en lesiones benignas, lo cual ha limitado la utilidad de este biomarcador.¹⁷

Galectina-3, un miembro de los beta-galactósidos con capacidad de unirse a lecitinas, se encuentra fuertemente expresado en el CPT, especialmente en la variante clásica. También se encuentra presente en algunos casos de CFT, por lo que se propone como marcador de lesión

maligna. Sin embargo el mismo presenta una baja especificidad, dado que también está presente en lesiones benignas y focos de tiroiditis.¹⁸⁻²²

Según lo expresado, ninguno de los distintos biomarcadores presenta sensibilidad y especificidad adecuadas para certificar el diagnóstico de carcinoma; sin embargo, la combinación de dos o tres marcadores brinda una ayuda complementaria en casos de lesiones controversiales.^{23,24}

El **c-Met proto-oncogen**, localizado en el brazo largo del cromosoma 7, codifica un receptor de tirosinquinasa llamado c-met que interacciona con un ligando celular (factor de crecimiento hepatocítico), y cuya activación promueve diferentes respuestas celulares. Dentro de los cánceres de tiroides, el CPT se asocia con una marcada sobreexpresión del c-met proto-oncogen, el cual raramente se expresa en otros tipos tumorales.^{25,26}

La **calcitonina (CT)** es producida por las células C, por lo tanto, la inmunorreacción positiva en células neoplásicas sumada a la presencia de Ac anti-CT hace diagnóstico casi inequívoco de CMT. Si bien es altamente específica de CMT, no es muy sensible, siendo la **cromogranina A** el marcador más sensible de CMT.^{27-30a} Las cromograninas son proteínas de secreción expresadas en el sistema neuroendocrino, y su detección puede usarse en la caracterización de ciertos tumores en dichos tejidos.^{30b}

MARCADORES MOLECULARES

Los marcadores moleculares tiroideos corresponden a mutaciones genéticas que se originan en las células tiroideas malignas, reconocibles por técnicas de biología molecular.³¹

Se han descrito varias alteraciones (mutaciones y/o rearrreglos genéticos) en neoplasias tiroideas, y se ha visto que diferentes genes y señales están implicados en el desarrollo de este tipo de tumores.³²

Las anomalías genéticas más comunes presentes en el CPT son las mutaciones en los genes BRAF, RAS y rearrreglos en RET/CPT, mientras que en el CFT se encuentran predominantemente fusiones genéticas PAX8/PPARg, pérdida de heterocigocis de los *loci* 3p y 7q, y mutaciones en RAS.³³

La expresión de cada marcador molecular puede estudiarse en fragmentos de biopsia de tejido tiroideo, por técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).³⁴

PROCESAMIENTO DE LA MUESTRAS PARA ESTUDIOS MOLECULARES

Durante la realización de la PAAF, una pequeña parte del material aspirado, luego de realizar los extendi-

dos, se coloca en una solución para preservación de ácidos nucleicos y se conserva a -80°C. Se prefiere que dicho procedimiento sea supervisado por un patólogo experimentado a fin de asegurar que las muestras sean adecuadas. Posteriormente se procede a la separación del ARN utilizando un método comercial. Luego a partir de dicho ARN se realiza una reacción de retrotranscripción para obtener el ADN que será utilizado en la PCR.

Detección de las mutaciones: Las mutaciones que se investigan con más frecuencia son BRAF V600E y K601E, NRAS codón 61, HRAS codón 61, y KRAS codones 12 y 13 mediante el método de PCR. Se pueden utilizar la variante convencional o la *real-time* PCR para el análisis.

Detección de rearrreglos: los rearrreglos RET/PTC1, RET/PTC3, y el PAX8/PPAR se pueden analizar mediante el método de de PCR anidada seguida por la secuenciación de los productos obtenidos. Como controles positivos para cada tipo de rearrreglo se utiliza ARN obtenido de uno más tumores o líneas celulares que contienen dicha alteración genética en particular.

BRAF

El gen BRAF codifica para una serina-treonina quinasa involucrada en la actividad mitógena tirosina-quinasa. Las mutaciones en el gene BRAF, localizado en el brazo largo del cromosoma 7, representan la alteración genética más común en el CPT, y se encuentran muy relacionadas a este tipo de cáncer, ya que no se halla presente en otros tipos histológicos. Las mutaciones de este gen en la posición 600 (BRAF V600E) y menos frecuentemente en la 599 y 601, resultan en una activación constitutiva de la quinasa, que se detectó en 26-69% de los CPT esporádicos. Generalmente se relacionan con la variedad clásica del CPT, con los cambios nucleares característicos y la arquitectura en papilas, aunque también se las encontró en otras variedades. En muchos estudios se encontró asociación entre la presencia de BRAF, mayor edad al diagnóstico, estadio más avanzado de la enfermedad al diagnóstico y mayor frecuencia de recurrencia y/o metástasis. También se encontró asociación con tumores indiferenciados.³⁵⁻⁵⁵

RET/PTC

La segunda alteración genética más frecuente descrita en el CPT es el rearrreglo conocido como RET/PTC. RET es un proto-oncogén localizado en el

cromosoma 10q11.2, que codifica un receptor transmembrana de tirosina quinasa. Los rearrreglos conocidos de este gen llevan a una activación constitutiva del receptor RET, que conducen a una cascada de señales que terminan promoviendo el crecimiento y la transformación celular. Los más comunes, RET/PTC1 y RET/PTC3, resultan de una inversión intranuclear del brazo largo del cromosoma 10, llevando a una fusión de RET con el gen H4/D10S170 o el RFG/ELE1. Estas alteraciones son más comunes en pacientes pediátricos y en expuestos a radiaciones externas.⁵⁶⁻⁶⁰

Los rearrreglos están restringidos al CPT, representando un marcador de este tipo de tumores, por lo que se propone su estudio en el material de las PAAF como información adicional a la citología de los nódulos tiroideos. Sin embargo, dado que su especificidad es baja –se lo encontró en lesiones foliculares benignas, tiroiditis de Hashimoto, tumores oncocíticos y otras lesiones–, se debe tener precaución en cuanto a su utilidad clínica diagnóstica.⁶¹⁻⁶⁵

RAS

Otro tipo de alteración genética encontrada en el carcinoma tiroideo son las mutaciones que involucran regiones específicas (codones 12, 13 y 61) de los tres oncogenes RAS, llamados H-RAS, K-RAS Y N-RAS. Las mutaciones en RAS se encontraron en el CPT, CAT y CFT, siendo su relación más cercana a este último. Tiene una incidencia de presentación variable entre 0 y 60%. La mayor prevalencia la tiene la variante folicular (CFT). Asimismo, se lo ha encontrado en lesiones benignas, por lo que podría especularse que su presencia sería un evento temprano en la progresión hacia lesiones malignas, no encontrándose aún utilidad en la diferenciación entre adenomas y carcinomas foliculares.⁶⁶⁻⁷⁷

PAX8/PPARG

La fusión de genes PAX8/PPARG y la pérdida de heterocigosis de los *loci* 3p y 7q representan potenciales biomarcadores moleculares de utilidad en el CFT.

El gene PAX8, localizado en el cromosoma 2q13 y el gen PPARG, localizado en el 3p25, codifican factores específicos de transcripción tiroideos. El gen PAX8 es esencial en el desarrollo de células foliculares, encontrándose mutado en casos de hipotiroidismo congénito por disgenesia tiroidea. PPARG pertenece a una familia de receptores nucleares hormonales, cuyos ligandos incluyen la hormona tiroidea, el ácido retinoico, los andrógenos y los estrógenos. Los dos genes están involucrados en la

translocación de cromosomas que lleva a la fusión de los exones 7, 8 y 9 de PAX8 con el exón 1 de PPARG, lo que ocasiona alteración en la función transcripcional normal. Este tipo de mutación se encuentra frecuentemente en el CFT y parece estar involucrada en la progresión de adenoma a carcinoma. Aún no se dispone de estudios clínicos que avalen su utilidad como biomarcador diferenciador en este tipo de lesiones.⁷⁸⁻⁸³

La pérdida de heterocigosis en regiones de los cromosomas 3p y 7q frecuentemente se encuentra en los primeros pasos de la transformación tumoral folicular. La mayoría de las alteraciones se han reportado en el *locus* 7q21.2, y su hallazgo podría ser una ayuda para los citopatólogos en el diagnóstico del CFT.⁸⁴⁻⁸⁵ Estas alteraciones se pueden investigar mediante la aplicación de PCR basada en la detección de secuencias microsatélites polimórficas.

RET

La transformación maligna de las células C se caracteriza por la aparición de defectos específicos del protooncogen RET, el cual codifica un receptor con actividad tirosinkinasa. Las mutaciones en este gen en la línea germinal son inherentes al carcinoma medular hereditario, mientras que las somáticas se ven en el carcinoma esporádico. Las primeras se encuentran relacionadas con el síndrome de neoplasia endocrina múltiple (MEN), siendo las mutaciones en los exones 10 y 11 las relacionadas con MEN-2A, y las del exón 16 con el MEN-2B.⁸⁶⁻⁸⁷ Esta alteración se investiga por amplificación mediante PCR de distintos exones del gen RET, seguido por secuenciación y búsqueda de las mutaciones.

EVALUACIÓN PRONÓSTICA Y BIOMARCADORES

Existen diferentes sistemas de puntuación (*scoring*), basados en el análisis de regresión múltiple de la combinación de varios factores predictivos, que se utilizan para estratificar a los pacientes en grupos de alto y bajo riesgo. Los más utilizados para predecir sobrevida son el sistema TMN, donde se consideran el tamaño tumoral, la presencia de adenopatías y metástasis a distancia. Otros esquemas utilizados son el AGES, AMES y MACIS, que incluyen edad, extensión y tamaño tumoral. La elección de cada *score* depende de la experiencia personal de cada uno. No se encontraron diferencias significativas en un estudio comparativo de los mismos. Ninguno de los sistemas propuestos ha mostrado claras ventajas en predecir sobrevida en el cáncer diferenciado de tiroides.⁸⁸⁻⁹⁰

Otro marcador utilizado para predecir recurrencia o

persistencia en este cáncer es el dosaje de tiroglobulina sérica, en las personas que han sido sometidas a una tiroidectomía total y sin restos de tejido tiroideo⁹². La calcitonina, otro marcador sérico de enfermedad neoplásica, se utiliza exclusivamente para investigar recurrencias del CMT.⁹²

Nuevos biomarcadores pronósticos están siendo estudiados, sin embargo, hasta el momento se desconoce si son más adecuados que los utilizados actualmente. Los más estudiados son las mutaciones del gen BRAF, la sobre-expresión del Met, mutaciones somáticas del RET en el CMT, entre otros.⁹³

UTILIDAD COMO NUEVO BLANCO TERAPÉUTICO

Dado que las opciones terapéuticas para los pacientes con cánceres de tiroides agresivos, que no responden a las terapias estándar son limitadas, el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas es un objetivo importante de investigación.⁹⁴

Las quinasas RET y BRAF, y su cascada de efectos,

representan posibles blancos para nuevas terapias para el cáncer.

La quinasa RET representa un blanco potencial para nuevas drogas que ayuden al tratamiento de ambos tipos de tumores de tiroides, papilar y medular, en los cuales las mutaciones activantes en el proto-oncogén se han descrito como iniciadoras del proceso oncogénico. Asimismo, las activaciones de la quinasa BRAF también constituyen un evento inicial en la tumorigénesis papilar tiroidea, y su presencia se relaciona con mayor agresividad de los tumores, por lo que su utilidad terapéutica está siendo estudiada en múltiples ensayos internacionales. Otros tipos de mecanismos de trasducción de señales potencialmente involucrados también están siendo investigados como posibles blancos terapéuticos.⁹⁵

La Tabla I resume los genes o regiones cromosómicas más comúnmente alteradas en los cánceres de la glándula tiroides.

(Recibido: Diciembre de 2010. Aceptado: Marzo de 2011)

Tabla I. Genes o regiones cromosómicas más comúnmente alteradas en los cánceres de la glándula tiroides.

	GEN O REGIÓN CROMOSÓMICA ALTERADA	FUNCIÓN TRANSCRIPTO	REFERENCIAS CARCINOMA FOLICULAR
CARCINOMA FOLICULAR	N-RAS k-RAS	Proteínas segundos mensajeros	96-102
	PAX8/PPAR	Genes fusionados por translocación (2q:3p)(13:25)	96, 97, 100-103
	PI3K/AKT y PTEN	Fosfo-inositol quinasa/proteínquinasa B PTEN: Inhibidor de PI3K	103
CARCINOMA PAPILAR	Pérdida de heterocigosis en cromosomas 3p y 7q		102
	BRAF	Serina treonina quinasa tipo B	96-104
	RET/PTC (RET/PTC1, RET/PTC3)	Fusión gen RET con genes del carcinoma tiroideo papilar	96-103
	RAS	Proteína G de membrana	98, 100, 101
	NTRK1	Receptor tirosina quinasa	99, 103
CARCINOMA MEDULAR	RET (10q11.2)		98, 101-103, 105

REFERENCIAS

1. Mazzaferri EL. *Management of a solitary thyroid nodule*. N Engl J Med 328: 553-9, 1993.
2. Gharib H. *Changing trends in thyroid practice: understanding nodular thyroid disease*. Endocr Pract 10: 31-9, 2004.
3. Hegedüs L. *Clinical practice. The thyroid nodule*. N Engl J Med 351: 1764-71, 2004.
4. Sánchez A. Marcadores tumorales en carcinoma medular de tiroides (CMT). En: *Patología quirúrgica de la glándula tiroides* (Novelli JL, Piazza MV, Sánchez A, eds). UNR Editora; Rosario, 1997. Pp 173-9.
5. Gharib H. *Changing trends in thyroid practice: understanding nodular thyroid disease*. Endocr Pract 10: 31-9, 2004.
6. Mazzaferri EL, de los Santos ET, Rofagha-Keyhani S. *Solitary thyroid nodule: diagnosis and management*. Med Clin North Am 72: 1177-211, 1988.
7. Wang C, Crapo LM. *The epidemiology of thyroid disease and implications for screening*. Endocrinol Metab Clin North Am 26:189-218, 1997.
8. Maciel RMB. *Patogénesis molecular del carcinoma papilar de tiroides*. En: *Carcinoma papilar de tiroides* (Kowalski LP, Novelli JL, eds). UNR Editora; Rosario, 2010. Pp 29-34.
9. Mathur A, Weng J, Moses W, y col. *A prospective study evaluating the accuracy of using combined clinical factors and candidate diagnostic markers to refine the accuracy of thyroid fine needle aspiration biopsy*. Surgery 148: 1170-7, 2010.
10. Cheung CC, Ezzat S, Freeman JL, y col. *Immunohistochemical diagnosis of papillary thyroid carcinoma*. Mod Pathol 14: 338-42, 2001.
11. Bartolazzi A, Gasbarri A, Papotti M, y col. *Application of an immunodiagnostic method for improving preoperative diagnosis of nodular thyroid lesions*. Lancet 357: 1644-50, 2001.
12. Asa SL. *The role of immunohistochemical markers in the diagnosis of follicular-patterned lesions of the thyroid*. Endocr Pathol 16: 295-309, 2005.
13. Baloch ZW, Fleisher S, LiVolsi VA, Gupta PK. *Diagnosis of "follicular neoplasm": a gray zone in thyroid fine-needle aspiration cytology*. Diagn Cytopathol 26: 41-4, 2002.
14. Deveci MS, Deveci G, LiVolsi VA, y col. *Fine-needle aspiration of follicular lesions of the thyroid. Diagnosis and follow-up*. Cytojournal 7: 3-9, 2006.
15. Vasko VV, Gaudart J, Allasia C, y col. *Thyroid follicular adenomas may display features of follicular carcinoma and follicular variant of papillary carcinoma*. Eur J Endocrinol 151: 779-86, 2004.
16. Nasr MR, Mukhopadhyay S, Zhang S, y col. *An immunohistochemical panel consisting of GAL3, FN.1 and HBME1 may be useful in the diagnosis of follicular cell-derived thyroid tumors*. Mol Pathol 19: 1631-7, 2006.
17. de Matos PS, Ferreira AP, de Oliveira Facuri F, y col. *Usefulness of HBME-1, cytokeratin 19 and galectin-3 immunostaining in the diagnosis of thyroid malignancy*. Histopathology 47: 391-401, 2005.
18. Gasbarri A, Martegani MP, Del Prete F, y col. *Galectin-3 and CD44v6 isoforms in the preoperative evaluation of thyroid nodules*. J Clin Oncol 17: 3494-502, 1999.
19. Sapio MR, Guerra A, Posca D, y col. *Combined analysis of galectin-3 and BRAFV600E improves the accuracy of fine-needle aspiration biopsy with cytological findings suspicious for papillary thyroid carcinoma*. Endocr Relat Cancer 14: 1089-97, 2007.
20. Mehrotra P, Okpokam A, Bouhaidar R, y col. *Galectin-3 does not reliably distinguish benign from malignant thyroid neoplasms*. Histopathology 45: 493-500, 2004.
21. Collet JF, Hurbain I, Prengel C, y col. *Galectin-3 immunodetection in follicular thyroid neoplasms: a prospective study on fine-needle aspiration samples*. Br J Cancer 14: 1175-81, 2005.
22. Orlandi F, Saggiorato E, Pivano G, y col. *Galectin-3 is a presurgical marker of human thyroid carcinoma*. Cancer Res 58: 3015-20, 1998.
23. Mazzaferri EL, de los Santos ET, Rofagha-Keyhani S. *Solitary thyroid nodule: diagnosis and management*. Med Clin North Am 72: 1177-211, 1988.
24. Pacini F, Schlumberger M, Dralle H, y col.; European Thyroid Cancer Taskforce. *European consensus for the management of patients with differentiated thyroid carcinoma of the follicular epithelium*. Eur J Endocrinol 154: 787-803, 2006.
25. Di Renzo MF, Olivero M, Serini G, y col. *Overexpression of the c-MET/HGF receptor in human thyroid carcinomas derived from the follicular epithelium*. J Endocrinol Invest 18: 134-39, 1995.

26. Oyama T, Ichimura E, Sano T, y col. *C-Met expression of thyroid tissue with special reference to papillary carcinoma*. *Pathol Int* 48: 763-8, 1998.
27. Pacini F, Fontanelli M, Fugazzola L, y col. *Routine measurement of serum calcitonin in nodular thyroid diseases allows the preoperative diagnosis of unsuspected sporadic medullary thyroid carcinoma*. *J Clin Endocrinol Metab* 78: 826-9, 1994.
28. Iacobone M, Niccoli-Sire P, Sebag F, y col. *Can sporadic medullary thyroid carcinoma be biochemically predicted? Prospective analysis of 66 operated patients with elevated serum calcitonin levels*. *World J Surg* 26: 886-90, 2002.
29. Ito Y, Takeda T, Kobayashi T, y col. *Plasminogen activation system in active even in thyroid tumors; an immunohistochemical study*. *Anticancer Res* 16: 81-9, 1996.
- 30a. Jemal A, Siegel R, Ward E, y col. *Cancer statistics*. *CA Cancer J Clin* 57: 43-66, 2007.
- 30b. Huttner WB, Gerdes HH, Rosa P. *The granin (chromogranin/secretogranin) family*. *Trends Biol Sci* 16: 26-30, 1991.
31. Gharib H, Papini E. *Thyroid nodules: clinical importance, assessment, and treatment*. *Endocrinol Metab Clin North Am* 36: 707-35, 2007.
32. Yassa L, Cibas ES, Benson CB, y col. *Long-term assessment of a multidisciplinary approach to thyroid nodule diagnostic evaluation*. *Cancer* 111: 508-16, 2007.
33. Adeniran AJ, Zhu Z, Gandhi M, y col. *Correlation between genetic alterations and microscopic features, clinical manifestations, and prognostic characteristics of thyroid papillary carcinomas*. *Am J Surg Pathol* 30: 216-22, 2006.
34. Sciacchitano S, Paliotta DS, Nardi F, Sacchi A, Andreoli M, Pontecorvi A. *PCR amplification and analysis of ras oncogenes from thyroid cytologic smears*. *Diagn Mol Pathol* 3: 114-21, 1994.
35. 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* 63: 1454-7, 2003.
36. Xing M. *BRAF mutation in papillary thyroid cancer: pathogenic role, molecular bases, and clinical implications*. *Endocr Rev* 28: 742-62, 2007.
37. Xing M, Tufano RP, Tufano AP, y col. *Detection of BRAF mutation on fine needle aspiration biopsy specimens: a new diagnostic tool for papillary thyroid cancer*. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 2867-72, 2004.
38. Elisei R, Ugolini C, Viola D, Lupi C, y col. *BRAF(V600E) mutation and outcome of patients with papillary thyroid carcinoma: a 15-year median follow-up study*. *J Clin Endocrinol Metab* 93: 3943-9, 2008.
39. Espinosa AV, Porchia L, Ringel MD. *Targeting BRAF in thyroid cancer*. *Br J Cancer* 96: 16-20, 2007.
40. Kebebew E, Weng J, Bauer J, y col. *The prevalence and prognostic value of BRAF mutation in thyroid cancer*. *Ann Surg* 246: 466-70, 2000.
41. Kim TY, Kim WB, Song JY, y col. *The BRAF mutation is not associated with poor prognostic factors in Korean patients with conventional papillary thyroid microcarcinoma*. *Clin Endocrinol* 63: 588-93, 2005.
42. Begum S, Rosenbaum E, Henrique R, y col. *BRAF mutations in anaplastic thyroid carcinoma: implications for tumor origin, diagnosis and treatment*. *Mod Pathol* 17: 1359-63, 2004.
43. Ciampi R, Knauf JA, Kerler R, y col. *Oncogenic AKAP9-BRAF fusion is a novel mechanism of MAPK pathway activation in thyroid cancer*. *J Clin Invest* 115: 94-101, 2005.
43. Cohen Y, Xing M, Mambo E, y col. *BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma*. *J Natl Cancer Inst* 95: 625-7, 2003.
45. Namba H, Nakashima M, Hayashi T, y col. *Clinical implication of hot spot BRAF mutation, V599E, in papillary thyroid cancers*. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 4393-7, 2003.
46. Nikiforova MN, Kimura ET, Gandhi M, y col. *BRAF mutations in thyroid tumors are restricted to papillary carcinomas and anaplastic or poorly differentiated carcinomas arising from papillary carcinomas*. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 5399-404, 2003.
47. Durante C, Puxeddu E, Ferretti E, y col. *BRAF mutations in papillary thyroid carcinomas inhibit genes involved in iodine metabolism*. *J Clin Endocrinol Metab* 92: 2840-3, 2007.
48. Fugazzola L, Puxeddu E, Avenia N, y col. *Correlation between BRAF-V600E mutation and clinico-pathologic parameters in papillary thyroid carcinoma: data from a multicentric Italian study and review of the literature*. *Endocr Relat Cancer* 13: 455-64, 2006.

49. Giannini R, Ugolini C, Lupi C, y col. *The heterogeneous distribution of BRAF mutation supports the independent clonal origin of distinct tumor foci in multifocal papillary thyroid carcinoma.* J Clin Endocrinol Metab 92: 3511-6, 2007.
50. Lupi C, Giannini R, Ugolini C, y col. *Association of BRAF V600E mutation with poor clinicopathological outcomes in 500 consecutive cases of papillary thyroid carcinoma.* J Clin Endocrinol Metab 92: 4085-90, 2007.
51. Abrosimov A, Saenko V, Rogounovitch T, y col. *Different structural components of conventional papillary thyroid carcinoma display mostly identical BRAF status.* Int J Cancer 120: 196-200, 2007.
52. Mitsiades CS, Negri J, McMullan C, y col. *Targeting BRAFV600E in thyroid carcinoma: therapeutic implications.* Mol Cancer Ther 6: 1070-8, 2007.
53. Moretti S, Macchiarulo A, De Falco V, y col. *Biochemical and molecular characterization of the novel BRAF (V599Ins) mutation detected in a classic papillary thyroid carcinoma.* Oncogene 13: 4235-40, 2006.
54. Frasca F, Nucera C, Pellegriti G, y col. *BRAF V600E mutation and the biology of papillary thyroid cancer.* Endocr Relat Cancer 15: 1-16, 2008.
55. Oler G, Eбина KN, Michaluart P, y col. *Investigation of BRAF mutation in a series of papillary thyroid carcinoma and matched lymph node metastasis reveals a new mutation in metastasis.* Clin Endocrinol 62: 509-11, 2005.
56. Salvatore G, Giannini R, Faviana P, y col. *Analysis of BRAF point mutation and RET/PTC rearrangement refines the fine-needle aspiration diagnosis of papillary thyroid carcinoma.* J Clin Endocrinol Metab 89: 5175-80, 2004.
57. Cheung CC, Carydis B, Ezzat S, Bedard YC, Asa SL. *Analysis of ret/PTC gene rearrangements refines the fine needle aspiration diagnosis of thyroid cancer.* J Clin Endocrinol Metab 86: 2187-90, 2001.
58. Elisei R, Romei C, Cosci B, y col. *RET genetic screening in patients with medullary thyroid cancer and their relatives: experience with 807 individuals at one center.* J Clin Endocrinol Metab 92: 4725-9, 2007.
59. Chiefari E, Russo D, Giuffrida D, y col. *Analysis of RET protooncogene abnormalities in patients with MEN-2A, MEN-2B familial or sporadic medullary thyroid carcinoma.* J Endocrinol Invest 21: 358-64, 1998.
60. Cinti R, Yin L, Ilc K, y col. *RET rearrangements in papillary thyroid carcinomas and adenomas detected by interphase FISH.* Cytogenet Cell Genet 88: 56-61, 2000.
61. Domingues R, Mendonça E, Sobrinho L, y col. *Searching for RET/PTC rearrangements and BRAF V599E mutation in thyroid aspirates might contribute to establish a preoperative diagnosis of papillary thyroid carcinoma.* Cytopathology 16: 27-31, 2005.
62. Elisei R, Romei C, Vorontsova T, y col. *RET/PTC rearrangements in thyroid nodules: studies in irradiated and not irradiated, malignant and benign thyroid lesions in children and adults.* J Clin Endocrinol Metab 86: 3211-6, 2001.
63. Carlomagno F, Vitagliano D, Guida T, y col. *Efficient inhibition of RET/papillary thyroid carcinoma oncogenic kinases by 4-amino-5-(4-chloro-phenyl)-7-(t- utyl) pyrazolo[3,4-d]pyrimidine (PP2).* J Clin Endocrinol Metab 88: 1897-902, 2003.
64. Nikiforova MN, Caudill CM, Biddinger P, y col. *Prevalence of RET/PTC rearrangements in Hashimoto's thyroiditis and papillary thyroid carcinomas.* Int J Surg Pathol 10: 15-22, 2002.
65. Komminoth P, Kunz EK, Matias-Guiu X, y col. *Analysis of RET protooncogene point mutations distinguishes heritable from nonheritable medullary thyroid carcinomas.* Cancer 76: 479-89, 1995.
66. Haugen BR, Woodmansee WW, McDermott MT. *Towards improving the utility of fine needle aspiration biopsy for the diagnosis of thyroid tumours.* Clin Endocrinol 56: 281-90, 2002.
67. Namba H, Rubin SA, Fagin JA. *Point mutations of ras oncogenes are an early event in thyroid tumorigenesis.* Mol Endocrinol 4: 1474-9, 1990.
68. Ezzat S, Zheng L, Kolenda J, Safarian A, Freeman JL, Asa SL. *Prevalence of activating ras mutations in morphologically characterized thyroid nodules.* Thyroid 6: 409-16, 1996.
69. Zhu Z, Gandhi M, Nikiforova MN, Fischer AH, Nikiforov YE. *Molecular profile and clinical-pathologic features of the follicular variant of papillary thyroid carcinoma. An unusually high prevalence of ras mutations.* Am J Clin Pathol 120: 71-7, 2003.
70. Manenti G, Pilotti S, Re FC, Della Porta G, Pierotti MA. *Selective activation of ras oncogenes in follicular and undifferentiated thyroid carcinomas.* Eur J Cancer 30A: 987-93, 1994.

71. Esapa CT, Johnson SJ, Kendall-Taylor P, Lennard TW, Harris PE. *Prevalence of Ras mutations in thyroid neoplasia*. Clin Endocrinol 50: 529-35, 1999.
72. Garcia-Rostan G, Zhao H, Camp RL, y col. *Ras mutations are associated with aggressive tumor phenotypes and poor prognosis in thyroid cancer*. J Clin Oncol 21: 3226-35, 2003.
73. Basolo F, Pisaturo F, Pollina LE, y col. *N-ras mutation in poorly differentiated thyroid carcinomas: correlation with bone metastases and inverse correlation to thyroglobulin expression*. Thyroid 10: 19-23, 2000.
74. Sciacchitano S, Paliotta DS, Nardi F, Sacchi A, Andreoli M, Pontecorvi A. *PCR amplification and analysis of ras oncogenes from thyroid cytologic smears*. Diagn Mol Pathol 3: 114-21, 1994.
75. Zhu Z, Gandhi M, Nikiforova MN, Fischer AH, Nikiforov YE. *Molecular profile and clinical-pathologic features of the follicular variant of papillary thyroid carcinoma. An unusually high prevalence of ras mutations*. Am J Clin Pathol 120: 71-7, 2003.
76. Lemoine NR, Mayall ES, Wyllie FS, y col. *High frequency of ras oncogene activation in all stages of human thyroid tumorigenesis*. Oncogene 4: 159-64, 1989.
77. Manenti G, Pilotti S, Re FC, Della Porta G, Pierotti MA. *Selective activation of ras oncogenes in follicular and undifferentiated thyroid carcinomas*. Eur J Cancer 30A: 987-93, 1994.
78. Nikiforova MN, Biddinger PW, Caudill CM, y col. *PAX8-PPAR gamma rearrangement in thyroid tumors: RT-PCR and immunohistochemical analyses*. Am J Surg Pathol 26: 1016-23, 2002.
79. Aiello A, Pandini G, Frasca F, y col. *Peroxisomal proliferator activated receptor-gamma agonists induce partial reversion of epithelial-mesenchymal transition in anaplastic thyroid cancer cells*. Endocrinology 147: 4463-75, 2006.
80. Nikiforova MN, Lynch RA, Biddinger PW, y col. *RAS point mutations and PAX8-PPAR rearrangement in thyroid tumors: evidence for distinct molecular pathways in thyroid follicular carcinoma*. J Clin Endocrinol Metab 88: 2318-26, 2003.
81. Nakabashi CC, Guimarães GS, Michaluart P, y col. *The expression of PAX8-PPAR gamma rearrangements is not specific to follicular thyroid carcinoma*. Clin Endocrinol 61: 280-2, 2004.
82. Lacroix L, Mian C, Barrier T, y col. *PAX8 and peroxisome proliferator activated receptor gamma 1 gene expression status in benign and malignant thyroid tissues*. Eur J Endocrinol 151: 367-74.
83. Gregory Powell J, Wang X, Allard BL, y col. *The PAX8/PPAR gamma fusion oncoprotein transforms immortalized human thyrocytes through a mechanism probably involving wild-type PPARgamma inhibition*. Oncogene 23: 3634-41, 2004.
84. Au AY, McBride C, Wilhelm KG, y col. *PAX8-peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) disrupts normal PAX8 or PPARgamma transcriptional function and stimulates follicular thyroid cell growth*. Endocrinology 147: 367-76, 2006.
85. Cheung L, Messina M, Gill A, y col. *Detection of the PAX8-PPAR gamma fusion oncogene in both follicular thyroid carcinomas and adenomas*. J Clin Endocrinol Metab 88: 354-7, 2003.
86. Ouyang B, Knauf JA, Smith EP, y col. *Inhibitors of Raf kinase activity block growth of thyroid cancer cells with RET/PTC or BRAF mutations in vitro and in vivo*. Clin Cancer Res 12: 1785-93, 2006.
87. Elisei R, Cosci B, Romei C, y col. *Prognostic significance of somatic RET oncogene mutations in sporadic medullary thyroid cancer: a 10-year follow-up study*. J Clin Endocrinol Metab 87: 1941-6, 2007.
88. Jukkola A, Bloigu R, Ebeling T, y col. *Prognostic factors in differentiated thyroid carcinomas and their implications for current staging classifications*. Endocr Relat Cancer 11: 571-9, 2004.
89. Hermanek P, Sobin LH. *Thyroid gland (ICD-OC73). TNM Classification of Malignant Tumors, 6th edition*. International Union Against Cancer. Springer-Verlag; New York, 2002.
90. Lang B, Lo CY, Chan WF, Lam KY, Wan KY. *Restaging of differentiated thyroid carcinoma by the sixth edition AJCC/UICC TNM staging system: stage migration and predictability*. Ann Surg Oncol 14: 1551-9, 2007.
91. Basolo F, Pisaturo F, Pollina LE, y col. *N-ras mutation in poorly differentiated thyroid carcinomas: correlation with bone metastases and inverse correlation to thyroglobulin expression*. Thyroid 10: 19-23, 2000.
92. Kebebew E, Ituarte P, Siperstein A, y col. *Medullary thyroid carcinoma: clinical characteristics,*

- treatment, prognostic factors, and a comparison of staging systems.* Cancer 88: 1139-48, 2000.
93. Giordano TJ, Kuick R, Thomas TG, y col. *Molecular classification of papillary thyroid carcinoma: distinct BRAF, RAS, and RET/PTC mutation-specific gene expression profiles discovered by DNA microarray analysis.* Oncogene 24: 6646-56, 2005.
 94. Yip L, Kebebew E, Milas M, y col. *Summary statement: Utility of molecular marker testing in thyroid cancer.* Surgery 148: 1313-5, 2010.
 95. Fagin JA. *Genetics of papillary thyroid cancer initiation: implications for therapy.* Trans Am Clin Climatol Assoc 116: 259-69, 2005.
 96. Melillo R, Santoro M, Vecchio G. *Differential diagnosis of thyroid nodules using fine-needle aspiration cytology and oncogene mutation screening: are we ready?* F1000 Medicine Reports 2: 62, 2010.
 97. McLeod D. *Current concepts and future directions in differentiated thyroid cancer.* Clin Biochem Rev 31: 9-19, 2010.
 98. Williams M. *Integration of biomarkers including molecular targeted therapies in head and neck cancer.* Head Neck Pathol 4: 62-9, 2010.
 99. Moses W, Weng J, Sansano I, y col. *Molecular testing for somatic mutations improves the accuracy of thyroid fine-needle aspiration biopsy.* World J Surg 34: 2589-94, 2010.
 100. Fagin J, Mitsiades N. *Molecular pathology of thyroid cancer: diagnostic and clinical implications.* Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 22: 955-69, 2008.
 101. Nikiforov Y. *Thyroid carcinoma: molecular pathways and therapeutic targets.* Mod Pathol 21(Suppl 2): S37-S43, 2008.
 102. Ruggeri R, Campenni A, Baldari S, Trimarchi F, Trovato M. *What is new on thyroid cancer biomarkers.* Biom Insights 3: 237-52, 2008.
 103. Giusti F, Falchetti A, Franceschelli F, Marini F, Tanini A, Brandi M. *Thyroid Cancer: current molecular perspectives.* J Oncol 2010:351679, 2010.
 104. Kebebew E, Weng J, Bauer J, y col. *The prevalence and prognostic value of braf mutation in thyroid cancer.* Ann Surg 246: 466-71, 2007.
 105. Tainsky M. *Genomic and proteomic biomarkers for cancer: a multitude of opportunities.* Biochim Biophys Acta 1796: 176-93, 2009.

Todavía es múltiple e inmediata la adhesión a lo que detestamos, a la vez que dispersa y morosa la adhesión a lo que buscamos (...) Uno podría pensar que en pocos sitios como en la Argentina es más aplicable aquella observación de Foucault de que, así como para Aristóteles el hombre era un animal viviente con capacidad para la política, el hombre moderno es un animal cuya política amenaza a su modalidad como ser viviente.

ENRIQUE VALIENTE NOAILLES