La mutación del gen BRAFV600E en el carcinoma papilar de tiroides y la tiroiditis de Hashimoto

BRAF gene mutation in papillary thyroid carcinoma and Hashimoto's thyroiditis

LUIS M. ELIZONDO-HERNÁNDEZ*, MICHELLE FIGUEROA-ANDERE Y MIGUEL Á. PAZ-GONZÁLEZ

Departamento de Anatomía Patológica, Hospital Christus Muguerza de Alta Especialidad, Monterrey, Nuevo León, México

RESUMEN

Antecedentes: El carcinoma papilar es la neoplasia maligna más frecuente de la glándula tiroides. La tiroiditis de Hashimoto es la causa más común de tiroiditis inflamatoria y de hipotiroidismo en países con ingesta adecuada de yodo. El oncogén *BRAFV600E* ayuda a regular la vía MAPK que afecta la división y diferenciación celular, es el cambio genético más comúnmente asociado a un peor pronóstico en el carcinoma papilar de tiroides. **Objetivo:** Conocer la diferencia demográfica e histopatológica entre la presencia de la mutación *BRAFV600E* en el carcinoma papilar de tiroides con y sin tiroiditis de Hashimoto. **Métodos:** Estudio transversal, descriptivo y analítico, ambispectivo. Se incluyeron todos los casos con diagnóstico de carcinoma papilar de tiroides del año 2015 al 2020. Se realizó la identificación por inmunohistoquímica y reacción en cadena de la polimerasa de la mutación de *BRAFV600E*. Se compararon variables demográficas y clinicopatológicas entre grupos de pacientes. **Conclusión:** La prevalencia de la mutación de *BRAFV600E* en pacientes con carcinoma papilar de tiroides es del 42.1% en nuestra población. No encontramos un valor pronóstico de la mutación *BRAFV600E* V600E o de la tiroiditis de Hashimoto sobre el curso del carcinoma papilar de tiroides en nuestra muestra. Nuestros hallazgos están en concordancia con lo reportado en la literatura.

Palabras clave: Carcinoma papilar de tiroides. Tiroiditis de Hashimoto. Mutación *BRAFV600E*. PCR. Inmunohistoquímica.

ABSTRACT

Background: Papillary carcinoma is the most common malignant neoplasm of the thyroid gland. Hashimoto's thyroiditis is the most common inflammatory thyroiditis and causes hypothyroidism on countries with adequate iodine ingestion. *BRAFV600E* oncogene regulates MAPK pathway which affects the cell division and differentiation. It is the most common genetical mutation found on papillary thyroid carcinoma and is associated with worse prognosis. **Objective:** To determine the demographic and histopathological difference between the presence of the *BRAFV600E* mutation in papillary thyroid carcinoma with and without Hashimoto's thyroiditis measured by immunohistochemistry, as well as its concordance with PCR tests. **Methods:** Cross-sectional study, descriptive, analytic, ambispective. All cases with a diagnosis of Papillary Thyroid Carcinoma obtained by biopsy from 2015-2020. The *BRAFV600E* mutation was identified by immunohistochemistry and PCR. Demographic and clinicopathological variables were compared between groups of patients. **Conclusion:** In our population the prevalence of the *BRAFV600E* with papillary thyroid carcinoma is 42.1%. There was no prognostic value for the *BRAFV600E* mutation nor for Hashimoto's thyroiditis in the progress of papillary thyroid carcinoma in our sample. Our findings are in agreement with what has been reported in the literature.

Key words: Papillary thyroid carcinoma. Hashimoto's thyroiditis. *BRAFV600E* mutation. PCR. Immunohistochemistry.

Correspondencia:

*Luis M. Elizondo-Hernández
E-mail: luis.eh88@gmail.com

Fecha de recepción: 13-11-2020
Fecha de aceptación: 02-12-2020
DOI: 10.24875/RME.20000113

Disponible en internet: 02-11-2021
Rev Mex Endocrinol Metab Nutr. 2021;8:169-74

2462-4144 / © 2020 Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología, AC. Publicado por Permalyer. Este es un artículo *open access* bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

INTRODUCCIÓN

La tiroiditis de Hashimoto (TH) es la causa más común de tiroiditis inflamatoria y de hipotiroidismo. Afecta a 22 personas de cada 100,000 y es más frecuente en el sexo femenino, en una relación de 10:1¹.

El carcinoma papilar de tiroides (CPT) es la neoplasia maligna más común de la glándula tiroides y su incidencia ha ido incrementando en los últimos años². Algunas publicaciones han asociado la TH al CPT, determinando que hasta el 35.4% de los pacientes presentan ambas enfermedades³. Sin embargo, la asociación entre causa y efecto permanece incierta. En los últimos años ha sido más relevante el uso de las pruebas diagnósticas como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) e inmunohistoquímica (IHQ) para el estadiaje y pronóstico de diferentes enfermedades, en especial las patologías neoplásicas⁴.

El *BRAFV600E* es un gen que codifica una proteína que es una cinasa específica de serina/treonina, de la familia de las cinasas Raf que regulan la vía de la MAPK que afecta la división y diferenciación celular. La mutación de *BRAFV600E* se encuentra frecuentemente asociada a CPT y muestra una fuerte asociación con la gravedad del pronóstico con características clínico-patológicas agresivas, así como con una mayor recurrencia de la enfermedad⁵. En artículos recientes la prueba por IHQ ha sido comparada con la prueba molecular *gold standard*, que es la PCR, teniendo ambas un 100% de concordancia, por este motivo la IHQ se considera una opción económica, rápida y confiable⁶.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un análisis ambispectivo, descriptivo y analítico de todas las muestras con diagnóstico de CPT en el Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Christus Muguerza de Alta Especialidad durante el periodo comprendido entre octubre de 2015 y agosto de 2020. Se obtuvieron datos clínicos como edad, sexo, mutación de *BRAFV600E*, TH, tamaño tumoral y tipo histológico. Las variables cualitativas fueron reportadas en frecuencias y porcentajes

y las cuantitativas en media $\pm$ desviación estándar o mediana (rango intercuartil), según la distribución de la muestra. Se realizaron las pruebas de chi cuadrada de Pearson, las pruebas de t de Student y de Mann-Whitney, y se utilizó el coeficiente kappa de Cohen para la concordancia. Se consideró como significativa un valor de $p < 0.05$.

Para el estudio de IHQ se realizaron microarreglos en bloques de parafina. Las áreas neoplásicas fueron seleccionadas. Se desparafinaron y se recuperó el antígeno. Posteriormente se aplicaron los anticuerpos primarios, se utilizó el sistema de visualización de multímero con sustrato de peroxidasa y se reveló con diaminobencidina. Se utilizó la inmunotinción de *BRAFV600E*, clona VE1 con inmunolocalización en citoplasma (Fig. 1).

Para el diagnóstico molecular de la mutación *BRAFV600E* se utilizó Idylla™ basado en PCR en tiempo real; se realizaron cortes del bloque de parafina en secciones de 5 micras, posteriormente se identificó el cartucho para el análisis, se abrió la compuerta y se introdujo el corte del bloque de parafina dentro del cartucho. Los resultados se reportaron de manera automática como detección y no detección de la mutación en el tejido analizado.

RESULTADOS

Se incluyeron un total de 57 pacientes con CPT, 45 (78.9%) mujeres, con una media de edad al diagnóstico de 45.1 ± 13.8 años. La mediana del tamaño tumoral fue de 1 (0.6-2.5) cm. El tipo histológico más frecuente fue el clásico (54.4%). Del total, 34 (59.6%) presentaron un estadio tumoral T1, T2 en 9 (15.8%) y T3 en 14 (24.6%). Veintiséis (45.6%) pacientes presentaron invasión angiolinfática. Detectamos por IHQ a 24 (42.1%) pacientes con *BRAFV600E* mutado. La tabla 1 resume las características sociodemográficas e histopatológicas de los pacientes. De los 57 pacientes con CPT, 28 (49.1%) presentaron tiroiditis linfocítica, 26 (92.9%) mujeres. En la tabla 2 se resumen las comparaciones sociodemográficas e histopatológicas entre pacientes con o sin tiroiditis linfocítica. Los pacientes con CPT y tiroiditis linfocítica fueron predominantemente

Tabla 1. Características sociodemográficas e histopatológicas del grupo de pacientes con carcinoma papilar de tiroides

Características	n = 57
Sexo	
Femenino	45 (78.9%)
Masculino	12 (21.1%)
Edad al diagnóstico (años)	45.1 ± 13.87
Edad < 45 años	28 (49.1%)
Edad ≥ 45 años	29 (50.9%)
Tamaño de tumor (cm)	1.0 (0.6-2.5)
Tamaño > 0.8 cm	33 (57.9%)
Tamaño ≤ 0.8 cm	24 (42.1%)
BRAFV600E (+)	24 (42.1%)
Invasión angiolinfática	26 (45.6%)
Tamaño tumoral (T)	
T1	34 (59.6%)
T2	9 (15.8%)
T3	14 (24.6%)

Tabla 2. Comparaciones de características sociodemográficas e histopatológicas entre pacientes con carcinoma papilar de tiroides con y sin tiroiditis linfocítica

Características	PTC con tiroiditis linfocítica n (%)	PTC sin tiroiditis linfocítica n (%)	p
n = 57	28	29	
Sexo			0.021
Femenino	26 (92.9%)	19 (65.5%)	
Masculino	2 (7.1%)	10 (34.5%)	
Edad al diagnóstico (años)	40.4 ± 11.7	49.6 ± 14.4	0.011
< 45	16 (57.1%)	12 (41.4%)	0.234
≥ 45	12 (42.9%)	17 (58.6%)	
Tamaño de tumor (cm)	0.85 (0.5-2.0)	1.2 (0.75-2.9)	0.253
> 0.8	14 (50%)	10 (34.5%)	0.236
≤ 0.8	14 (50%)	19 (65.5%)	
BRAFV600E (+)	15 (53.6%)	9 (31%)	0.085
Invasión angiolinfática	13 (46.4%)	13 (44.8%)	0.903
Tipo histológico folicular	7 (25%)	11 (37.9%)	0.294
Tipo histológico clásico	15 (53.6%)	16 (55.2%)	0.903
Tamaño tumoral (T)			0.426
T1	19 (67.9%)	15 (51.7%)	
T2	4 (14.3%)	5 (17.2%)	
T3	5 (17.9%)	9 (31%)	
T1 vs. T2/T3	19 (67.9%)	15 (51.7%)	0.215

PTC: carcinoma papilar de tiroides.

mujeres (92.9 vs. 7.1%; $p = 0.021$) y con una edad al diagnóstico más joven (40.4 ± 11.7 vs. 49.6 ± 8.8 años; $p = 0.011$). A pesar de que el porcentaje de pacientes

con *BRAFV600E* (+) por IHQ fue mayor en los pacientes con tiroiditis linfocítica, no encontramos diferencia significativa (53.6 vs. 31%; $p = 0.085$).

Tabla 3. Identificación de factores asociados a la presencia de mutación de BRAFV600E por inmunohistoquímica

Características	BRAFV600E mutado (+)	BRAFV600E mutado (-)	p	OR (IC 95%)
n = 57	24	33		
Sexo femenino	20 (83.3%)	25 (75.8%)	0.489	1.60 (0.42-6.08)
Edad < 45 años	12 (50%)	16 (48.5%)	0.91	1.06 (0.37-3.04)
Tamaño tumoral > 0.8 cm	13 (54.2%)	20 (60.6%)	0.627	0.76 (0.26-2.22)
Invasión angiolinfática	14 (58.3%)	12 (36.4%)	0.1	2.45 (0.83-7.19)
PTC con tiroiditis linfocítica	15 (62.5%)	13 (39.4%)	0.085	2.56 (0.86-7.56)
Tipo histológico folicular	9 (37.5%)	9 (27.3%)	0.412	1.60 (0.51-4.93)
Tipo histológico clásico	11 (45.8%)	20 (60.6%)	0.269	0.55 (0.19-1.59)
T1 vs. T2/T3	16 (66.7%)	18 (54.5%)	0.357	1.66 (0.56-4.96)

OR: odds ratio; IC: intervalo de confianza; PTC: carcinoma papilar de tiroides.

Realizamos un subanálisis para identificar algunos factores asociados a la presencia de la mutación de *BRAFV600E* (+) que se resume en la tabla 3. No encontramos diferencias entre el sexo, la edad < 45 años al diagnóstico, el tamaño tumoral > 0.8 mm, la presencia de invasión angiolinfática, la presencia de tiroiditis linfocítica, el tipo histológico folicular o clásico ni el grado tumoral. Sin embargo, la edad al diagnóstico fue mayor en los pacientes con el gen *BRAFV600E* mutado (45.1 ± 13.8 vs. 40.2 ± 11.7 años; $p = 0$). Se realizaron las pruebas de *BRAFV600E* por PCR en los 24 pacientes identificados con mutación de *BRAFV600E* por IHQ, detectando como positivos por PCR a todos los pacientes. De acuerdo con el análisis de concordancia, se encontró un índice de kappa de Cohen de 1.00 entre ambas pruebas diagnósticas.

DISCUSIÓN

El CPT es el cáncer de tiroides más frecuente, mientras que la TH es el trastorno inflamatorio más frecuente de la glándula tiroidea, resultando en hipotiroidismo. Ambos han presentado un aumento en la incidencia en los últimos años en diversos países⁷, la prevalencia de la coexistencia de ambos trastornos se ha reportado en el 42 al 56%⁸. Se ha identificado recientemente la mutación en el oncogén *BRAFV600E* con una sustitución de aminoácidos V600E, identificado como un marcador molecular pronóstico en

Figura 1. Presencia de la mutación BRAFV600E, positivo en citoplasma.

pacientes con CPT⁹, asociado con características clinicopatológicas de agresividad, metástasis linfática, extensión extratiroidea y estadiaje avanzado, así como recurrencia y peor supervivencia¹⁰.

Por otro lado, tras la identificación de la asociación entre la TH y el CPT, se ha debatido el efecto del primero sobre el pronóstico del carcinoma papilar, en el que se le ha asociado con mejor pronóstico, menor tasa de recurrencia y menor agresividad a la presentación¹¹. A pesar de reportes relacionados con la asociación entre TH, la mutación de *BRAFV600E* y las características clinicopatológicas del CPT, aún existe controversia entre la asociación de esta mutación con la TH¹². Por ello, el objetivo de nuestro estudio fue identificar la diferencia demográfica e histopatológica entre la mutación de *BRAFV600E* en CPT con y

sin TH, así como evaluar la concordancia de la identificación de la mutación por IHQ y por PCR. En este estudio analizamos en una población de pacientes con diagnóstico de CPT la presencia de la mutación del oncogén *BRAFV600E* y la TH y su diferencia con las características sociodemográficas, así como su correlación mediante las pruebas de IHQ y el PCR.

Diversos estudios encontraron que la TH se asocia con menor frecuencia a la mutación de *BRAFV600E* y que se presenta con mayor frecuencia en mujeres, además encontraron que la TH se asocia de forma más significativa a un peor pronóstico, otros lo identifican como un factor protector contra la progresión del CPT y un factor independiente para el estado de mutación de *BRAFV600E*¹³⁻¹⁵.

En nuestro trabajo, a pesar de encontrar una mayor prevalencia de mutación de *BRAFV600E* en pacientes con TH, no fue significativamente mayor que en pacientes con CPT aislado. Además, se puede confirmar en nuestro trabajo que la presencia de TH es más prevalente en el grupo de pacientes del sexo femenino, y que se asocia con menor edad al diagnóstico, sin embargo, no logramos identificar que la presencia de este trastorno inmunitario se asocie con mejor pronóstico. Es importante recalcar que la proporción de pacientes con estadiaje tumoral T3 fue menor en pacientes con TH (17.9 vs. 31%), lo que podría asociarse también con menor progresión tumoral en este grupo de pacientes, sin embargo, no logramos confirmar dicha teoría. Es importante hacer hincapié también que, en nuestro estudio, a todos los pacientes con la mutación *BRAFV600E* identificada por IHQ se les realizó PCR para identificar la mutación, dicha prueba resultó positiva, lo que podría demostrar que la evaluación IHQ es altamente específica. Sin embargo, debido a que no fue realizada en pacientes con mutación negativa por IHQ, el verdadero rendimiento de la sensibilidad de la prueba debe ser evaluado.

CONCLUSIONES

No encontramos una asociación en la presencia de la mutación con la TH. No encontramos a la mutación

de *BRAFV600E* como factor de pobre pronóstico en el CPT. Tampoco pudimos comprobar que dicha mutación se relaciona con la presencia de TH. Nuestros hallazgos están en concordancia con lo reportado en la literatura. La limitación de este estudio fue el número acotado de pacientes, así como los costos altos de las pruebas diagnósticas.

FINANCIAMIENTO

Los autores no recibieron patrocinio para llevar a cabo este artículo.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

RESPONSABILIDADES ÉTICAS

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores han obtenido el consentimiento informado de los pacientes y/o sujetos referidos en el artículo. Este documento obra en poder del autor de correspondencia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Graceffa G, Patrone R, Vieni S, Campanella S, Calamia S, Laise I, et al. Association between Hashimoto's thyroiditis and papillary thyroid carcinoma: A retrospective analysis of 305 patients. *BMC Endocr Disord.* 2019;19(Suppl 1):26.

2. Lim H, Devesa S, Sosa J, Check D, Kitahara C. Trends in thyroid cancer incidence and mortality in the United States, 1974-2013. *JAMA*. 2017;20892:1-11.
3. Girardi FM, Barra MB, Zettler CG. Papillary thyroid carcinoma: Does the association with Hashimoto's thyroiditis affect the clinicopathological characteristics of the disease? *Braz J Otorhinolaryngol*. 2015;81(3):283-7.
4. Ahn D, Heo SJ, Park JH, Kim JH, Sohn JH, Park JY, et al. Clinical relationship between Hashimoto's thyroiditis and papillary thyroid cancer. *Acta Oncol*. 2011;50(8):1228-34.
5. Elisei R, Ugolini C, Viola D, Lupi C, Biagini A, Giannini R, et al. BRAFV600E mutation and outcome of patients with papillary thyroid carcinoma: A 15-year median follow-up study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:3943-9.
6. Martinuzzi C, Pastorino L, Andreotti V. A combination of immunohistochemistry and molecular approaches improves highly sensitive detection of BRAFV600E mutations in papillary thyroid cancer. *Endocrine*. 2016;53(3):672-80.
7. Antonaci A, Consorti F, Mardente S, Giovannone G. Clinical and biological relationship between chronic lymphocytic thyroiditis and papillary thyroid carcinoma. *Oncology Research*. 2009;17:495-503.
8. Elisei R, Ugolini C, Viola D. BRAFV600E(V600E) mutation and outcome of patients with papillary thyroid carcinoma: a 15-year median follow-up study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(10):3943-9.
9. Kim TY, Kim WB, Rhee YS. The BRAFV600E mutation is useful for prediction of clinical recurrence in low-risk patients with conventional papillary thyroid carcinoma. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2006;65:364-8.
10. Ahn D, Heo SJ, Park JH. Clinical relationship between Hashimoto's thyroiditis and papillary thyroid cancer. *Acta Oncologica*. 2011;50:1228-34.
11. Marotta V, Guerra A, Zatelli MC. BRAFV600E mutation positive papillary thyroid carcinoma is less advanced when Hashimoto's thyroiditis lymphocytic infiltration is present. *Clin Endocrinol*. 2013;79(5):733-8.
12. Kim SJ, Myong JP, Jee HG. Combined effect of Hashimoto's thyroiditis and BRAFV600E V600E mutation status on aggressiveness in papillary thyroid cancer. *Head Neck*. 2014;38:95-101.
13. Marotta V, Guerra A, Zatelli MC. BRAFV600E mutation positive papillary thyroid carcinoma is less advanced when Hashimoto's thyroiditis lymphocytic infiltration is present. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2013;79:733-8.
14. Zeng RC, Jin LP, Chen ED, Dong SY, Cai YF, Huang GL. Potential relationship between Hashimoto's thyroiditis and BRAFV600E mutation status in papillary thyroid cancer. *Head Neck*. 2015;38(S1):E1019-E1025.
15. Kim SK, Song KH, Lim SD, Lim YC, Yoo YB, Kim JS. Clinical and pathological features and the BRAFV600E mutation in patients with papillary thyroid carcinoma with and without concurrent Hashimoto thyroiditis. *Thyroid*. 2009;19(2):137-41.