



UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA
DE MÉXICO

HOSPITAL
GENERAL
"Dr. Miguel
Silva"



SECRETARIA DE SALUD EN EL ESTADO DE MICHOACÁN

TESIS

**"EXPRESIÓN DE Ki-67 Y RECEPTOR ESTROGÉNICO EN EL
CARCINOMA DE LA GLÁNDULA TIROIDES"**

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALIDAD EN

ANATOMÍA PATOLÓGICA

PRESENTA:

DRA. JUANA ROSALBA GARCÍA RAMÍREZ

ASESORES DE TESIS:

**DR. JESÚS ÁNGEL VILLAGRÁN ÚRIBE
DRA. ROSA MARIA SILVA LÓPEZ**

MORELIA, MICHOACÁN: AGOSTO 2008



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AUTORIDADES

DR. JULIO FERNANDO NOCETTI TIZNADO
DIRECTOR DEL HOSPITAL

DR. CARLOS ARTURO AREAN MARTINEZ
JEFE DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION

DR. JESUS ANGEL VILLAGRAN URIBE
ASESOR Y JEFE DEL SERVICIO DE ANATOMIA PATOLOGICA

DRA. ROSA MARIA SILVA LOPEZ
ASESOR

DRA. JUANA ROSALBA GARCIA RAMIREZ
ASPIRANTE AL TITULO DE ANATOMIA PATOLOGICA

Dedicatoria:

A mis Maestros, por brindarme su conocimiento y guía,

A mi Familia, por su apoyo y amor incondicional,

Especialmente para Abril, por tú paciencia y comprensión sin límites, recuerda que siempre te llevo en mi corazón.

Índice

Resumen

Capítulo I. Antecedentes

Generalidades de las Neoplasias Tiroideas	1
Carcinoma Papilar	2
Carcinoma Folicular	5
Carcinoma de Células de Hurthle (Oncocítico)	6
Carcinoma de Células escamosas	6
Carcinoma Pobremente Diferenciado	7
Carcinoma Indiferenciado	8
Carcinoma Medular	9
Papel de los Estrógenos en el Desarrollo de las Neoplasias Tiroideas	9
Papel de Ki-67 en la Proliferación Celular	10
Grado de diferenciación del carcinoma tiroideo y Pronóstico	11
Justificación	13
Hipótesis	13

Capítulo II. Objetivos

2.1 Objetivo general	14
2.2 Objetivos específicos	14

Capitulo III. Metodología	
Tipo de estudio	15
Tamaño de la muestra	15
Criterios de inclusión	15
Criterios de eliminación	15
Grupo Control	15
Recursos Humanos	15
Recursos Materiales	16
Revisión de Casos	16
Técnica de tinción	17
Técnica de inmunohistoquímica	17
Conteo de inmunopositividad	19
Análisis estadístico	19
Capitulo IV. Resultados	20
Capitulo V. Discusión	29
Capitulo VI. Conclusiones	33
Bibliografía	34

I. ANTECEDENTES

Neoplasias Tiroideas

Los carcinomas de la glándula tiroides representan una entidad poco común, en los Estados Unidos representan alrededor del 1.5% de todos los cánceres. La mayoría de los casos se presentan en adultos aunque también se pueden originar en niños. Entre los pacientes que desarrollan cáncer tiroideo a edades tempranas y medias de la vida existe un predominio en mujeres, lo cual está probablemente relacionado con la expresión de receptores estrogénicos en el epitelio tiroideo neoplásico. ¹

La mayoría de las neoplasias clínicamente aparentes de la glándula tiroides son primarias de ese órgano y de origen histológico epitelial. Tradicionalmente se dividen en adenomas y carcinomas, el último grupo incorpora al carcinoma medular que se origina de las células parafoliculares junto con las lesiones más comunes compuestas de células foliculares. ²

El carcinoma de tiroides tiene una amplia variedad de subtipos histológicos, el más frecuente es el carcinoma papilar, le sigue en orden descendente el folicular, con menor frecuencia el carcinoma de células oncocíticas o de Hürtle, carcinoma de células claras, carcinoma escamoso, mucinoso, mucoepidermoide, carcinoma pobremente diferenciado o insular, carcinoma indiferenciado o anaplásico y otros tumores.

A continuación se realizará una breve descripción y características de cada uno de los tipos y algunos subtipos histológicos.

Carcinoma papilar de tiroides

Es el tipo más común de cáncer de tiroides, las mujeres están afectadas con mayor frecuencia que los hombres, la edad promedio de presentación es a los 40 años, en los niños corresponde a 90% de las neoplasias malignas. Estos tumores pueden ser microscópicos o alcanzar grandes dimensiones, de características sólidas, firmes y claramente invasivas, solo el 10% tienen cápsula bien definida, algunos presentan cambios quísticos y formaciones papilares.

Microscópicamente se caracteriza por contener varias papilas bien formadas, complejas con brazos orientados al azar, un centro fibrovascular central cubierto de células cúbicas que se disponen en una o varias capas, citológicamente se observan núcleos en vidrio despulido u ópticamente claros, pseudoinclusiones nucleares, barras nucleares y microfilamentos nucleares.³

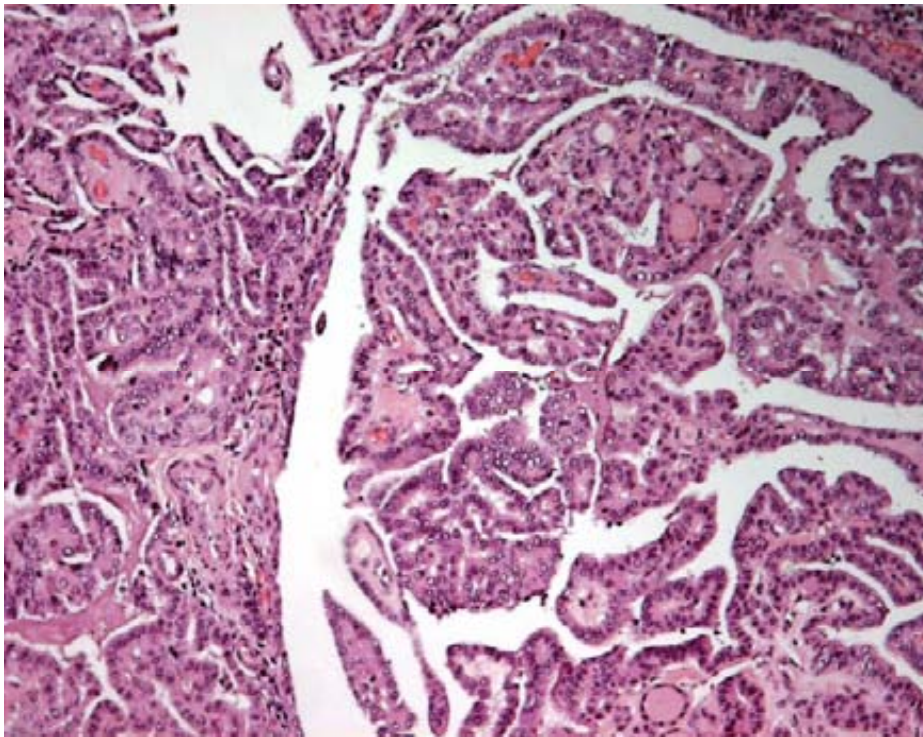


Fig. 1 Esta foto micrografía muestra una neoplasia compuesta por papilas con centro fibrovascular y algunos folículos tiroideos residuales.

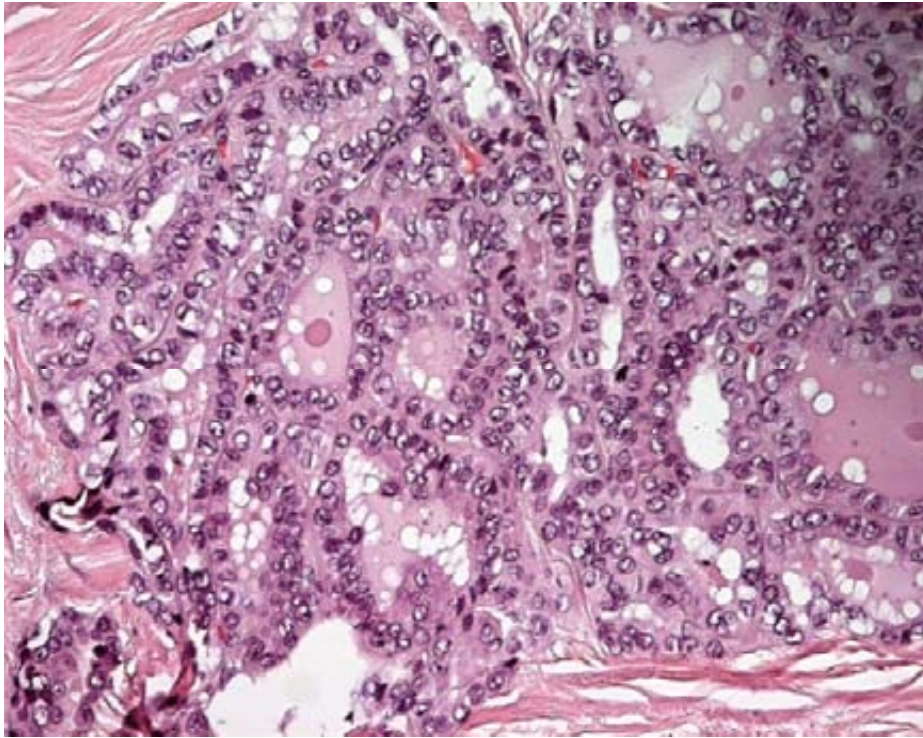
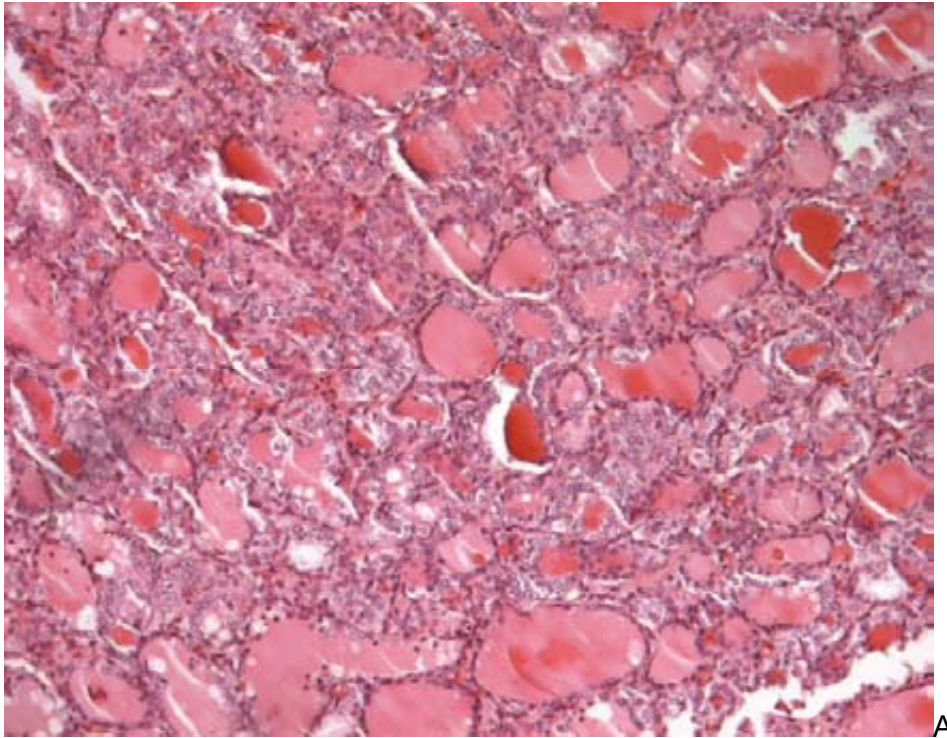


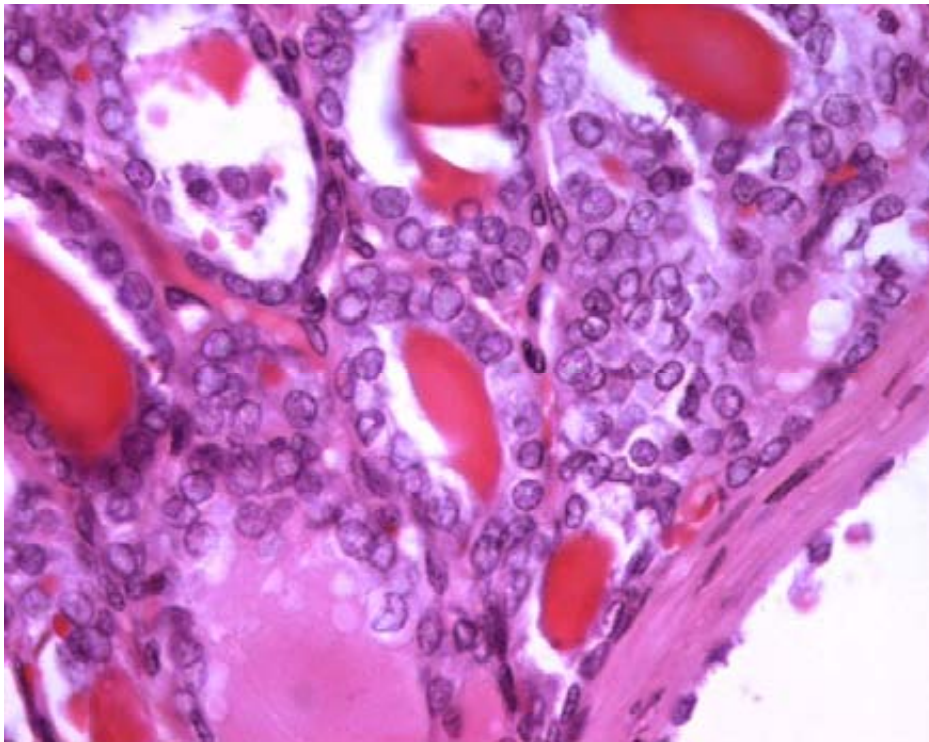
Fig. 2 Muestra las características citológicas de la neoplasia con núcleos ópticamente claros.

Se han descrito muchas variantes del carcinoma papilar de tiroides dentro de ellas se encuentran:

- **Microcarcinoma papilar**, el cual contiene todas las características ya descritas pero su tamaño no es mayor a 1 cm de diámetro.
- **Encapsulada**, cuya única diferencia esencial es que se encuentra totalmente encapsulado.⁴
- **Folicular**, en esta variante el carcinoma se encuentra formado exclusivamente por folículos, el diagnóstico se establece en base a las características citológicas. De esta variedad se desprenden 4 subtipos en base a su arquitectura, el sólido, el macro folicular, difusa multinodular y encapsulada folicular.⁵



A



B

Fig. 3 La foto micrografía teñida con Hematoxilina y Eosina muestra: **A**, Neoplasia tiroidea compuesta por folículos cuyas células exhiben **B**, cambios característicos del carcinoma papilar de tiroides.

- **Esclerosante difusa**, Se caracteriza por que involucra de manera difusa a uno o ambos lóbulos de la glándula, esclerosis densa, cuerpos de psammoma, foco sólido extenso, metaplasia escamosa, así como infiltración linfocítica intensa y permeación extensa a los ganglios linfáticos.
- **Oncocítica (oxifílica)**, en esta variante se conservan las características nucleares, sin embargo el citoplasma de las células es abundante, eosinofílico y finamente granular, puede estar o no encapsulado.⁶
- **Células altas o carcinoma de células claras columnares**, se trata de células columnares con abundante citoplasma, estas células deben estar presentes en más del 50% de del tejido tumoral.
- **Cribiforme morular**, se caracteriza por la presencia de un patrón de crecimiento cribiforme y formaciones a manera de morulas.
- **Carcinoma papilar con estroma parecido al de la fascitis nodular exuberante**, se trata de una variante rica en reacción estromal, donde el estroma puede ser tan abundante que oscurece el componente epitelial.⁷

Carcinoma Folicular

Se trata de un tumor maligno de la glándula tiroides que exhibe diferenciación de células foliculares, pero no incluye a la variante folicular del carcinoma papilar,⁸ al carcinoma de células de Hurthle, carcinoma insular poco diferenciado y el excepcionalmente raro carcinoma medular folicular mixto.

Microscópicamente se caracteriza por la formación de folículos y la presencia de una capsula de tejido fibroso que delimita la neoplasia parcial o totalmente infiltrada, los folículos pueden variar en tamaño e incluso tener un aspecto sólido, folículos pobremente formados, áreas cribiformes o trabeculares algunas veces en combinación. Puede haber permeación vascular, atíпия celular y mitosis o pueden estar completamente ausentes, no hay cuerpos de psammoma y la metaplasia escamosa es extraordinariamente rara.⁹

Carcinoma de Células de Hurthle (Oncocítico)

Generalmente aparece en personas adultas, predomina en mujeres. Macroscópicamente es un tumor bien definido, sólido y bien vascularizado, muchos son encapsulados.

Microscópicamente el patrón de crecimiento puede ser folicular, trabecular, sólido o papilar, el último es por mucho el más común, los septos cuando son grandes están separados por bandas gruesas de tejido fibroso, se caracteriza por células de abundante citoplasma finamente granular.¹⁰

Carcinoma de Células escamosas

Las células escamosas pueden encontrarse en la glándula tiroides como resultado de persistencia del conducto tirogloso o estructuras derivadas de las bolsas braquiales.

El carcinoma escamoso puro de tiroides es excepcional, algunos se han asociado a leucocitosis e hipercalcemia, conserva las características microscópicas de los carcinomas escamosos de otras áreas del organismo.¹¹

Carcinoma Pobremente Diferenciado

También llamado carcinoma insular, este tumor aparece en personas de mayor edad, muestran un aspecto infiltrativo y microscópicamente lo distingue la formación de nidos (patrón insular), con arreglo sólido o microfolicular, de células pequeñas, uniformes con actividad mitótica variable y necrosis tumoral que resulta en un patrón periteliomatoso.¹²

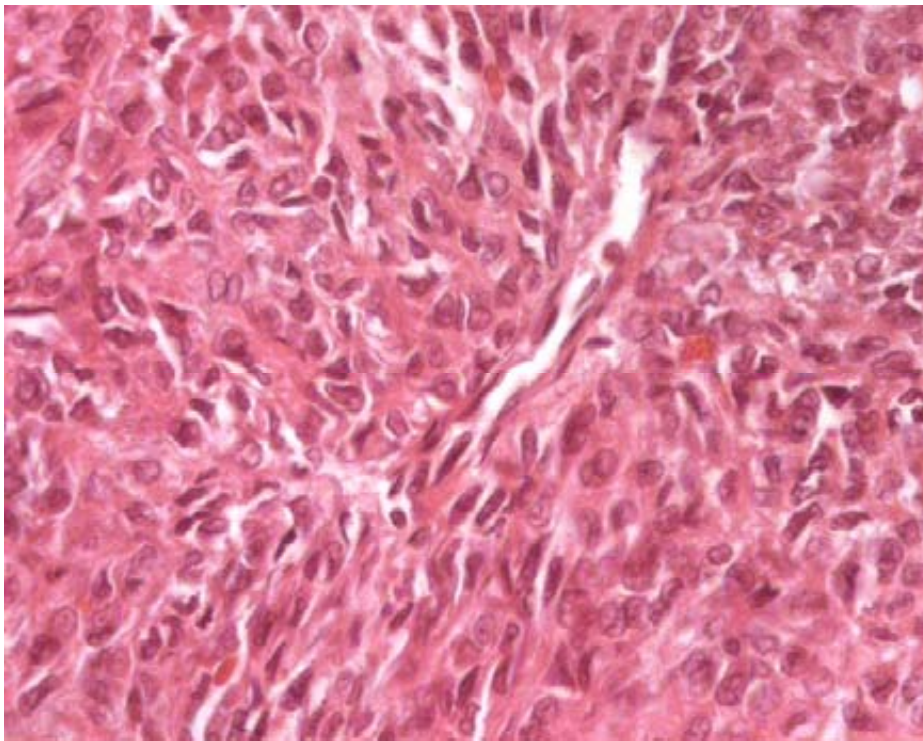


Fig. 4 Carcinoma Tiroideo pobremente diferenciado formado por nidos sólidos de células con pleomorfismo moderado y escasas mitosis.

Carcinoma Indiferenciado

También llamado anaplásico se presenta en pacientes de edad avanzada como neoplasia de rápido crecimiento asociado a dolor a la deglución, disfagia y disnea. Microscópicamente es un tumor sólido hemorrágico que se encuentra reemplazando grandes dimensiones de la tiroides.¹³

Microscópicamente es evidente su apariencia epitelial y puede tomar alguno de los siguientes patrones histológicos: 1. De células gigantes, pleomórficas incluyendo las células gigantes de tipo osteoclastico, 2. De células fusiformes con apariencia sarcomatoide y 3. Escamoide compuesto de células neoplásica de aspecto epitelial sin un patrón específico y puede formar focos de queratina.

14

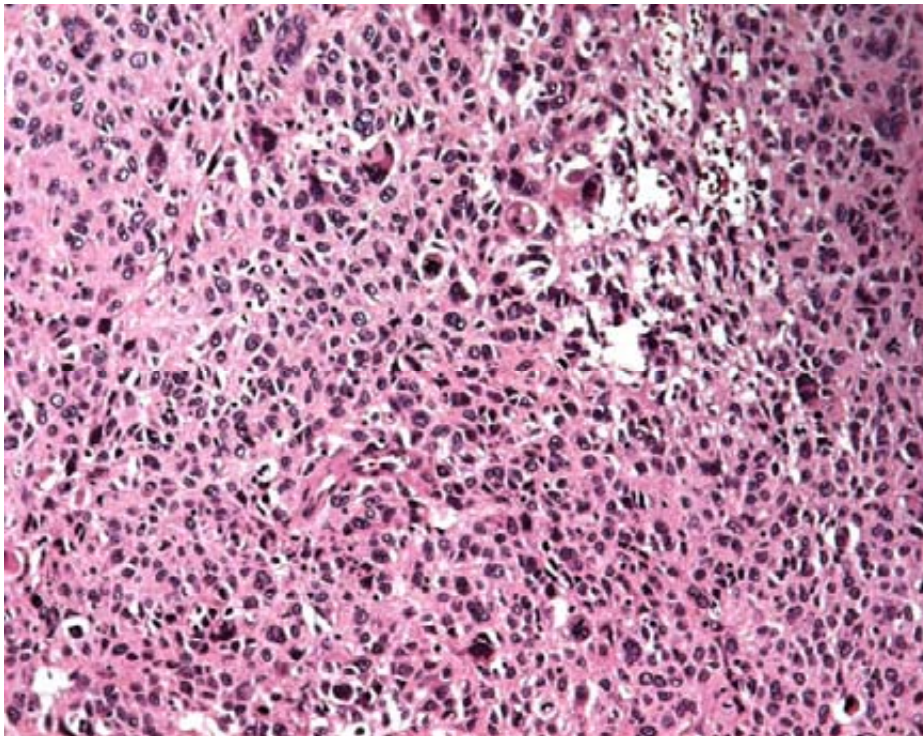


Fig. 5 Carcinoma Tiroideo Indiferenciado visto con microscopio de luz a alto poder (40x) exhibe un patrón de crecimiento sarcomatoide compuesto por células de naturaleza epitelial con pleomorfismo marcado.

Carcinoma Medular

Se compone de células parafoliculares o células C. Se trata de un tumor relativamente bien circunscrito, firme, sólido y no encapsulado.

Histológicamente se encuentra la proliferación sólida de células poligonales o redondas con citoplasma eosinófilo granular y núcleo de mediano tamaño separado por estroma altamente vascularizado, hialinizado o amiloideo. Tiene patrón de crecimiento variado que puede tener una apariencia similar a la del paraganglioma, del carcinoide, o bien glandular o trabecular.^{15,16}

Papel de los Estrógenos en el Desarrollo de las Neoplasias Tiroideas

El cáncer de tiroides es 3 veces más frecuente en mujeres que en hombres, pero esta incidencia varía durante la vida reproductiva, es casi igual durante la infancia, se incrementa a 3 en la pubertad y se mantiene así hasta la menopausia, donde sufre una disminución a 1.5 a la edad de 67 años.

Esta diferencia con respecto al sexo se observa en todo el mundo y sugiere que el crecimiento y progresión de los tumores tiroideos se encuentra probablemente influenciada por las hormonas sexuales, particularmente los estrógenos, tal como se observa en el cáncer de mama o de endometrio.¹⁷

También se ha reportado un incremento en el riesgo en mujeres que usan estrógenos por terapia ginecológica, pero no en aquellas que usan bajas dosis como tratamiento de reemplazo hormonal durante la menopausia.^{18,19}

A partir de 1980 se incrementó el interés en demostrar la presencia de receptores estrogénicos en la glándula tiroides, en 1993 se publicaron artículos donde se demuestra la presencia de receptores de estrógenos, progesterona y andrógenos tanto por inmunohistoquímica como por ensayo de unión.²⁰

Con el advenimiento de nuevas técnicas tales como la reacción en cadena de polimerasa de transcripción en reversa, se realizó análisis cuantitativo de la expresión del RNA mensajero de los receptores estrogénicos (RE) alfa y beta tanto en tejido normal como en tejido neoplásico.

En dicho estudio se encontró que los niveles de RNAm de RE alfa fueron ligeramente más altos en carcinomas foliculares y anaplásicos comparados con tejido tiroideo normal, bocio, adenoma folicular y carcinoma papilar.²¹

Un estudio realizado por Lewy reportó la presencia de receptores de estrógenos y progesterona medidos por inmunohistoquímica en neoplasias diferenciadas de tiroides, pero no en tejido de tiroides no neoplásico o en tiroides sana adyacente a la neoplasia.²²

Otro estudio realizado en ratas hembras a las cuales se les indujo tumores tiroideos mediante la administración de N-nitrosodiisopropanolamina (DHPN) y fenobarbital (PB), se demostró que la ovariectomía disminuyó la incidencia de tumores inducidos por los medicamentos ya mencionados, cuando se compararon con ratas con ovarios intactos, incluso la incidencia de tumores se incrementó con la suplementación de estradiol/testosterona. Lo cual implica en este estudio, a los estrógenos en el desarrollo de tumores tiroideos.²³

Papel de Ki-67 en la Proliferación Celular

El ki 67 fue descrito en 1983 por Gerdes²⁴ es una proteína nuclear de gran tamaño (345-395 KDa) con numerosos dominios que intervienen en el mantenimiento del ciclo celular.²⁵

La expresión de esta proteína se relaciona estrechamente con la proliferación celular. Durante la interfase el antígeno se detecta únicamente dentro del

núcleo, mientras que durante la mitosis la mayor parte de esta proteína se localiza en la superficie de los cromosomas.

De tal modo que se encuentra presente durante todas las fases activas del ciclo celular (G1,S,G2 y mitosis) pero no se encuentra durante la fase quiescente (G0), lo cual lo hace ideal para determinar la fracción de crecimiento.²⁶

El índice de tinción de ki-67 correlaciona bien con el índice mitótico, como es bien conocido las neoplasias más agresivas tienen mayor índice mitótico que las neoplasias mejor diferenciadas, de tal suerte que se ha visto mayor expresión de ki-67 en neoplasias agresivas y en consecuencia se considera como un factor pronostico importante en el comportamiento de algunas neoplasias humanas principalmente en el cáncer de mama,^{27,25} pero también en próstata,²⁸ pulmón,²⁹ tumores del estroma gastrointestinal³⁰, y otros³¹ entre ellos en el carcinoma de tiroides.³²

En un estudio realizado por Erickson et al. Se mostró que ki 67 se encuentra tres veces más elevado en los carcinomas que en los adenomas de células de Hurtle, lo cual tiene utilidad práctica dadas las similitudes histológicas de estas neoplasias.^{33, 34}

Aún dentro de las neoplasias malignas de alto grado en tiroides como el carcinoma anaplásico, se ha visto que la expresión de Ki-67 es un factor pronóstico importante tanto de sobrevida como de metástasis.³⁵⁻³⁶

Grado de diferenciación del carcinoma tiroideo y Pronostico

Los tumores bien diferenciados están compuestos de células que se semejan a las células normales maduras del tejido que les da origen, en contraparte los tumores indiferenciados tienen células no especializadas con aspecto primitivo o altamente anaplásicas.¹

Los carcinomas de tiroides se clasifican en 1. Bien diferenciados (Carcinoma papilar, folicular, oncocítico, de células claras, escamoso puro, mucoepidermoide y mucinoso), 2. Pobremente diferenciados (Insular) e 3. Indiferenciado o Anaplásico. Cuanto más indiferenciada es una neoplasia pierde la especialización de sus células pero incrementa su número de mitosis, cantidad de necrosis y pleomorfismo nuclear.^{2,37}

El grado de diferenciación se correlaciona con el pronóstico, los carcinomas tiroideos mejor diferenciados como el carcinoma papilar tiene una mortalidad de 6% a 30 años que contrasta fuertemente con la mortalidad del 95% a 6 meses del carcinoma Anaplásico. El carcinoma pobremente diferenciado tiene una supervivencia intermedia del 60% a 5 años.³⁷

Justificación

Actualmente existe controversia con respecto a la expresión de estrógenos en las neoplasias de tiroides, así mientras algunos estudios muestran que los estrógenos y sus receptores se encuentran aumentados en algunas neoplasias tiroideas, otros estudios muestran que no existe diferencia alguna, sin embargo estos estudios se han realizado analizando ciertos subtipos histológicos de neoplasias tiroideas y en otras regiones del mundo, por otra parte se sabe que una neoplasia se comportará de forma más agresiva si muestra índices altos de proliferación celular, lo cual ya se ha demostrado en muchos estudios, existen pocos estudios que midan el grado de expresión de receptores estrogénicos con el índice de proliferación celular y en nuestro medio no se ha realizado, creemos que es importante analizar estos aspectos en las neoplasias tiroideas y de ser posible analizar el impacto que tienen en el pronóstico aplicado a los pacientes cuyos diagnósticos se han emitido en este departamento.

Hipótesis

Los receptores estrogénicos y el factor Ki-67 se expresan con mayor intensidad en las neoplasias de tipo histológico más agresivo de la glándula tiroides.

II. OBJETIVO GENERAL

Analizar la expresión por inmunohistoquímica de los receptores estrogénicos y KI-67 en las neoplasias de la glándula tiroides.

Objetivos particulares

1. Clasificar el tipo y patrón histológico de las neoplasias de tiroides
2. Analizar la expresión por inmunohistoquímica del factor Ki-67 en las neoplasias de la glándula tiroides
3. Analizar la expresión por inmunohistoquímica de los receptores estrogénicos en los tumores de la glándula tiroides
4. Correlacionar el grado de diferenciación del carcinoma tiroideo con la expresión de Ki-67 y receptores estrogénicos.

III. MATERIAL Y METODOS

Se trató de un estudio retrospectivo y observacional.

Se realizó una revisión de todos los casos la patología quirúrgica de la glándula tiroides presentados en el lapso de los últimos 6 años, lo cual abarca el periodo de enero del 2000 a diciembre del 2006.

Criterios de inclusión

Se incluyeron todos los casos de neoplasia maligna de tiroides diagnosticados dentro del periodo de tiempo de enero 2000 a diciembre del 2006 en el departamento de patología del Hospital general “Dr. Miguel Silva” y que contaran con tejido en bloque de parafina para realizar los estudios de inmunohistoquímica.

Criterios de eliminación

Se excluyeron para fines de análisis estadístico los casos de revisión de laminillas o aquellos que no contaron con el tejido en bloque de parafina para realizar los estudios de inmunohistoquímica

Grupo control

En cuanto a la medición del Ki-67 y receptores estrogénicos se analizo el tejido sano adyacente a la neoplasia de 87 casos elegidos al azar.

Recursos humanos

Se contó con la participación de los tres patólogos adscritos del departamento de patología, dos químicas y un residente encargado del proyecto.

Recursos materiales

Archivo de patología

Laminillas y bloques de parafina

Procesador de tejidos

Batería de tinciones

Laminillas y cubreobjetos

Microscopio

Anticuerpos para receptores estrogénicos y Ki-67

Computadora

Revisión de Casos

Se realizó la revisión de los casos de patología tiroidea en los archivos de registro de patología quirúrgica con los que se cuenta en el departamento de patología, se realizó la selección de casos de neoplasias tiroideas malignas, se anotó el número de registro de los casos a incluir en el protocolo de estudio y posteriormente se realizó la búsqueda intencionada de las laminillas y bloques de parafina en el archivo del mismo departamento.

Se revisaron los casos seleccionados y se clasificaron de acuerdo al diagnóstico establecido, tomando en cuenta el tipo, el patrón histológico predominante y el patrón histológico secundario. Los datos se tomaron de la solicitud de estudio histopatológico y del reporte histopatológico. Se registró la edad y el género del paciente, el servicio de procedencia de la pieza, el tipo de espécimen, así como el tamaño, peso y tamaño del tumor cuando estuvieron presentes en el reporte. Se anotó la presencia o no de invasión a la cápsula, la infiltración a tejidos blandos, metástasis a ganglios linfáticos así como la presencia y tipo de otra patología tiroidea.

A todos los casos se les solicitó inmunotinción para receptores estrogénicos y Ki-67, cuando no se contó con el bloque o este no tenía suficiente tejido se eliminaron del análisis estadístico.

Técnica de tinción

Se utilizó la técnica de tinción con hematoxilina y eosina procedimiento de Harris, el cual requirió de tejido tiroideo previamente fijado en formol al 10% y embebido en parafina, después de haber realizado cortes de 4 a 6 micrómetros, se colocó sobre una laminilla portaobjetos y se aplicaron los siguientes pasos:

1. Desparafinización con xilol y deshidratación con alcohol al 95%, agua.
2. Tinción en la solución de hematoxilina de Harris por 3 a 5 minutos
3. Lavar en agua durante 5 minutos
4. Colocar en alcohol ácido al 1% (baño rápido)
5. Colocar en agua amoniacal al 1% (baño rápido)
6. Contrateñir con solución de eosina durante 2 minutos
7. Deshidratar con alcohol 95%, alcohol absoluto, xilol por 1 minuto cada uno
8. Montar con resina

Como resultado de esta tinción el núcleo se tiñe de azul y el citoplasma de rosa.

Técnica de inmunohistoquímica

Se trata de una técnica que mediante el uso de anticuerpos específicos identifica antígenos específicos, es una prueba extraordinariamente sensible para detectar cantidades muy pequeñas (nanogramos) o moléculas individuales de una sustancia.

Las tinciones de inmunohistoquímica se realizaron sobre cortes de tejido previamente embebido en parafina de 3 a 4 micras de espesor con el anticuerpo monoclonal de ratón Ki-67 (Cell Marque) dilución 1:50, después de un pretratamiento con buffer y recuperación de antígeno.

Se utilizó con técnica manual el método de detección de inmunoperoxidasa de avidina-estepravidina que se detalla a continuación.

Numero	Paso	Veces	Minutos	Reactivo-solución
1	Desparafinizar	2	3	Xilol
2	Deshidratar	2	3	Alcohol 100%
3	Deshidratar		3	Alcohol 95%
4	Rehidratar	2	5	TBT o agua
5	Recuperación Ag	1	15	Declere o trilogy
6	Reposo	1	20	Declere o trilogy
7	Lavado	1	5	TBT
8	Bloqueo peroxidasa endógena	1	5	H2O2 3%
9	Lavado	1	5	TBT
10	Anticuerpo primario	1	30	Anticuerpo (diluido)
11	Lavado	1	5	TBT
12	Ac. Secundario	1	30	LINK=Biotilado de unión
13	Lavado	1	5	TBT
14	Terciario	1	30	HRP= estepravidina peroxidasa
15	Lavado	1	5	TBT
16	Cromógeno	1	10	1 gota DAB
17	Lavado	1	5	TBT
18	Contratinción	1		Hematoxilina
19	Montaje	1		Acuoso o permanente

TBT= TRIS-HCL 50nM, pH 7.4-7.6, Tween 20 0.1%

Conteo de Inmunopositividad

El conteo de la positividad para los receptores estrogénicos y Ki-67 se realizó en un microscopio de luz de co-observación a alto poder (400x). En cada caso los campos fueron simultáneamente analizados por un patólogo adscrito (RMS) y por el residente a cargo del proyecto (RGR). Se realizó el conteo de 10 campos con densidad celular similar. La inmunoreactividad nuclear fue considerada como positiva sin importar su intensidad. Cuando las diferencias interobservador fueron de más del 5 % los casos fueron reevaluados usando un microscopio de co-observación.

Análisis estadístico

Se realizaron análisis de frecuencias y estadística descriptiva dependiendo de la distribución de los datos se realizó media, mediana, moda y desviación estándar y porcentajes.

Se realizó comparación entre el tipo y patrón histológico, la edad y el grado de expresión de Ki-67 mediante tablas cruzadas.

Se utilizó el paquete estadístico SPSS 12.0

IV. RESULTADOS

Se analizaron 37542 especímenes quirúrgicos en el periodo de 6 años comprendido de 01 de Enero del 2000 al 31 de Diciembre del 2006 en el departamento de Anatomía Patológica del Hospital Dr. Miguel Silva. De los cuales 2373 correspondieron a patología de cabeza y cuello, con 938 neoplasias malignas de la misma región. (Fig. 6)

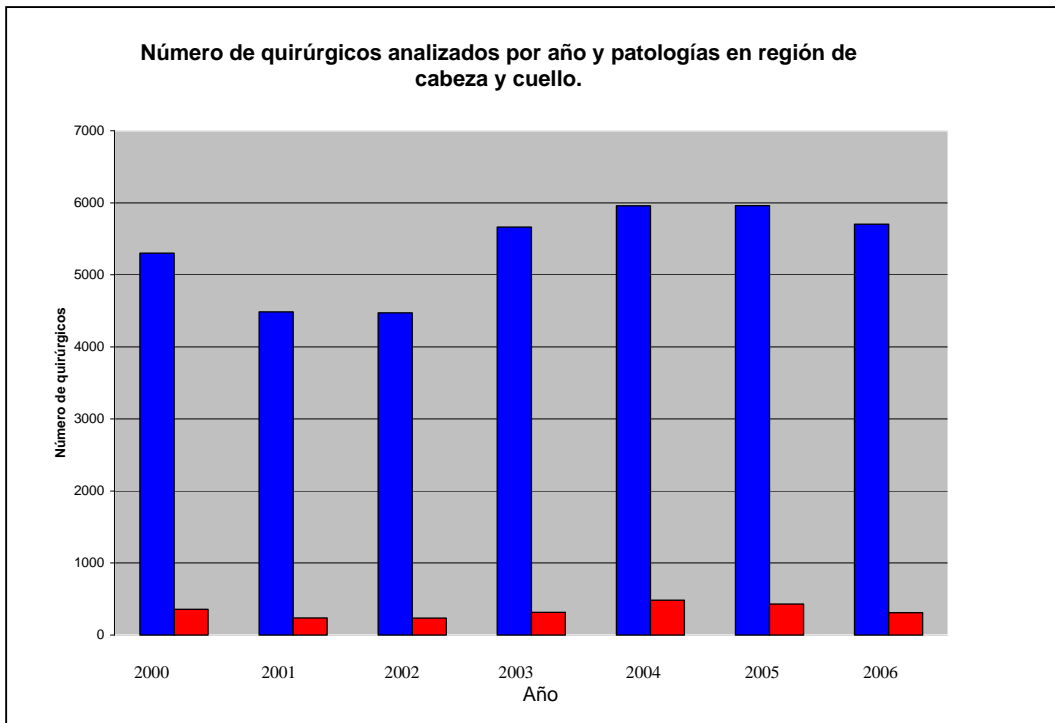


Fig. 6 El número de quirúrgicos vistos en el departamento de Patología se ha incrementado en los últimos años, con ligeros cambios en los casos de cabeza y cuello

- Total de quirúrgicos
- Quirúrgicos de cabeza y cuello

Se recibieron 230 casos de patología tiroidea para su análisis, que resultaron en 132 patologías benignas y 98 neoplasias malignas de glándula tiroides. (Fig. 7.) El diagnóstico de carcinoma tiroideo primario se realizó en 93 especímenes procesados y examinados en el laboratorio de patología, y 5 foráneos o casos de consulta.

Patología de la Glándula Tiroides

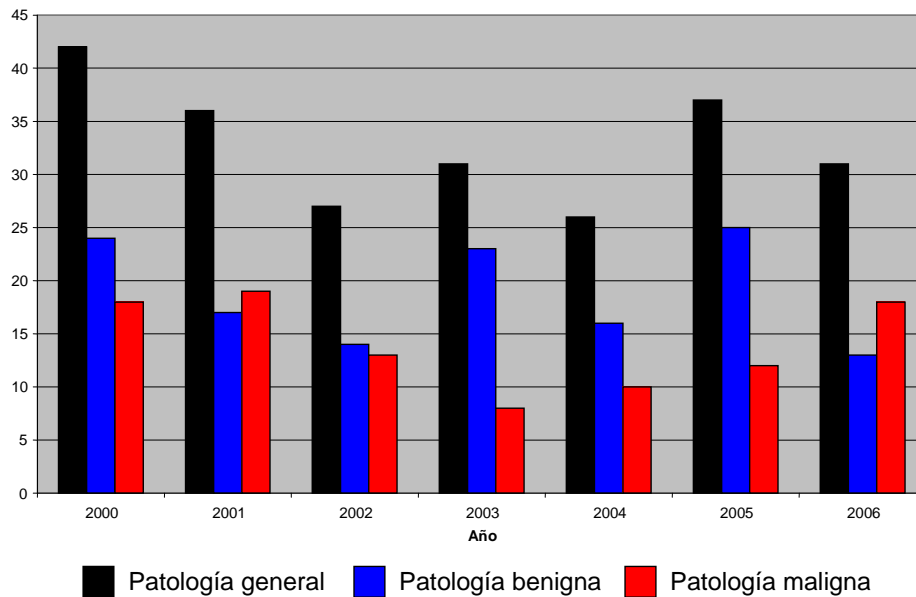


Fig. 7 Presenta los casos de Carcinoma tiroideo en relación a las patologías benignas de la glándula Tiroides

Los 93 casos analizados en el laboratorio contaron con características macroscópicas, cortes histológicos del tumor, en algunos casos la afectación a cápsula, afectación del tejido adyacente, bordes y ganglios linfáticos de la región enviada, mientras que solo se obtuvieron las laminillas de los 5 casos de consulta.

De los 98 casos de patología maligna tiroidea 57 (58.2%) fueron enviados del Centro Estatal de Oncología, 38 casos (39.8%) del servicio de Cirugía y 2 casos (2%) del servicio de Medicina Interna. Con respecto al tipo de cirugía, se

realizaron 37 (39.7%) tiroidectomías totales con disección radical de cuello, 36 (38.7%) tiroidectomías totales y 20 (21.5%) hemitiroidectomías.

El carcinoma de tiroides afectó a 86 mujeres (87.8%) y a 12 hombres (12.2%), la edad de presentación osciló entre 18 a los 84 años con una media de 48.7 años. (Fig. 8)

El tipo histológico más frecuente fue el carcinoma papilar de tiroides con 89 casos (90.8%), seguido por el carcinoma anaplásico 5 casos (5.1 %), carcinoma folicular 2 casos (2 %), carcinoma indiferenciado 1 caso (1%) y carcinoma insular 1 caso (1%). (Tabla 2.)

Relación Entre la Edad y los Tipos Histológicos de Carcinoma de Glándula Tiroides

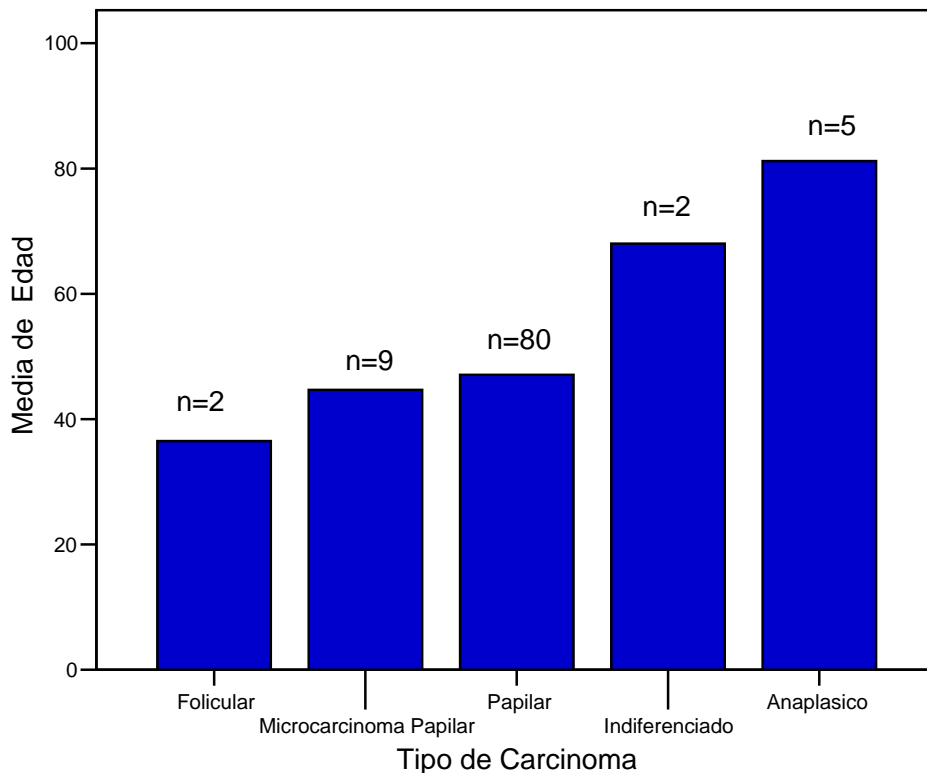


Fig. 8 La edad de presentación de los pacientes con carcinoma indiferenciado fue en promedio mayor a la edad de presentación de carcinomas bien diferenciados como el Papilar y el folicular.

En lo que respecta al patrón del carcinoma papilar de tiroides, el tipo convencional o papilar se presentó en 63 casos (70.7%), el patrón folicular en 16 casos (17.9%), el patrón microcarcinoma papilar en 9 casos (10.1%), y finalmente el patrón de células columnares altas en 1 caso (1.1%).

El carcinoma anaplásico de tiroides se diagnosticó como patrón único 3 de 5 casos, en dos casos se diagnosticó como anaplásico con patrón sarcomatoide y se registró un patrón adicional en estos dos últimos casos, un epidermoide y otro con diferenciación de sarcoma osteogénico.

Adicionalmente al diagnóstico principal de carcinoma tiroideo se concluyó con otra enfermedad asociada en el mismo espécimen de 32 casos (32.6%). Correspondieron a las siguientes enfermedades, Bocio nodular en 19 casos (59.3%), adenoma folicular en 4 casos (10.2%), tiroiditis crónica inespecífica en 3 casos (9.3%), tiroiditis de Hashimoto en 3 casos (9.3%), absceso en 1 caso (3.1%), lesión quística 1 caso (3.1%) y tuberculosis en 1 caso (3.1%). (Fig. 9)

Patología adicional al diagnóstico de Carcinoma Tiroideo

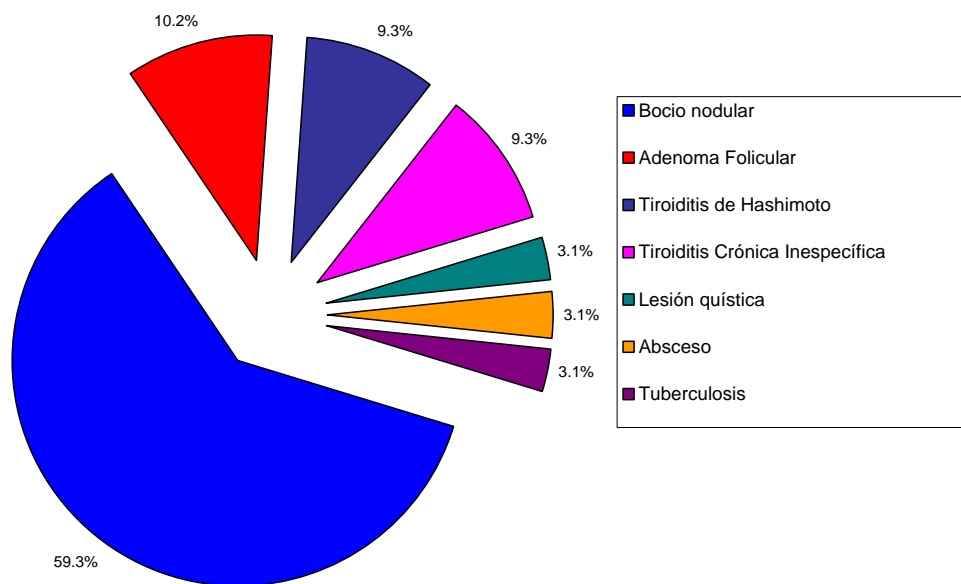


Fig. 9 Se observó patología benigna en relación al carcinoma tiroideo en 32.6% de los casos, la figura muestra los porcentajes relativos de las patologías reportadas.

La descripción macroscópica de la pieza incluyó tamaño del espécimen completo en 89 casos, peso en 26 casos, tamaño del tumor en 28 casos invasión o no de la cápsula en 94 casos, infiltración o no a los tejidos blandos en 84 casos y metástasis o no a los ganglios linfáticos en 40 casos.

En cuanto al tamaño de los 89 casos registrados, la pieza quirúrgica más pequeña fue de 3 cm. Y la mayor de 17 cm. Con una media de 8.14 cm. El peso de 26 casos, osciló entre 12 gr. Y 300 gr. Con una media de 83 gr. El tamaño del tumor de los 28 casos registrados presento una media de 3 cm. Con un mínimo de 1 cm. y máximo de 8 cm.

La invasión a la cápsula estuvo presente en 67 casos (71.2%) y negativa en 27 casos (28.8%). No se registró este dato en 4 resultados histopatológicos. Se apreció infiltración de tejidos blandos en 34 casos (40.6%), (Fig. 10) metástasis en ganglios linfáticos en 27 casos y ausente en 13 casos, corresponde al 67.5% y 32.5% respectivamente. El número de ganglios con metástasis en promedio fue de 7.9 (1-32).

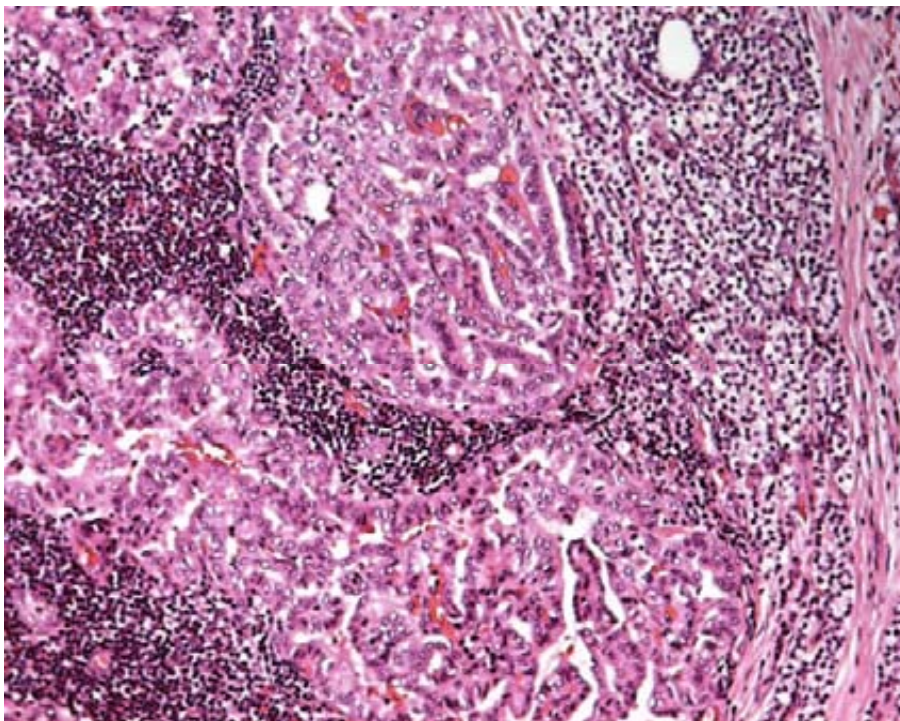


Fig. 10 Infiltración de Carcinoma Papilar de Tiroides a glándula paratiroides.

Agrupamos a los carcinomas de tiroides de acuerdo a su grado de diferenciación, con los siguientes resultados: 91 casos de carcinoma bien diferenciado, 2 casos de carcinoma poco diferenciado y 5 casos de carcinoma indiferenciado y se realizó una tabla cruzada con respecto a su distribución entre los diferentes grupos de edad.

Encontramos que todos los casos de carcinoma indiferenciado se presentaron en personas de más de 70 años, los carcinomas Poco diferenciados en la el grupo de personas de 50 a 70 años y El carcinoma bien diferenciado fue mas frecuente en el grupo de edad de los 30 a 49 años. (Tabla 1.)

Tabla 1

Diferenciación de Carcinoma Tiroideo por grupo de edad

Diferenciación	< 30 ^a .	30-49 ^a .	50-69 ^a .	> 70 ^a .	Total
Bien Diferenciado	12	46	24	9	91
Poco Diferenciado			2		2
Indiferenciado				5	5
Total	12	46	26	14	98

a. años

Los receptores estrogénicos no mostraron positividad en el núcleo de las células tiroideas neoplásicas o sin patología. Se observó positividad variable en el citoplasma de células neoplásicas sin embargo no fue cuantificado. (Fig. 11)

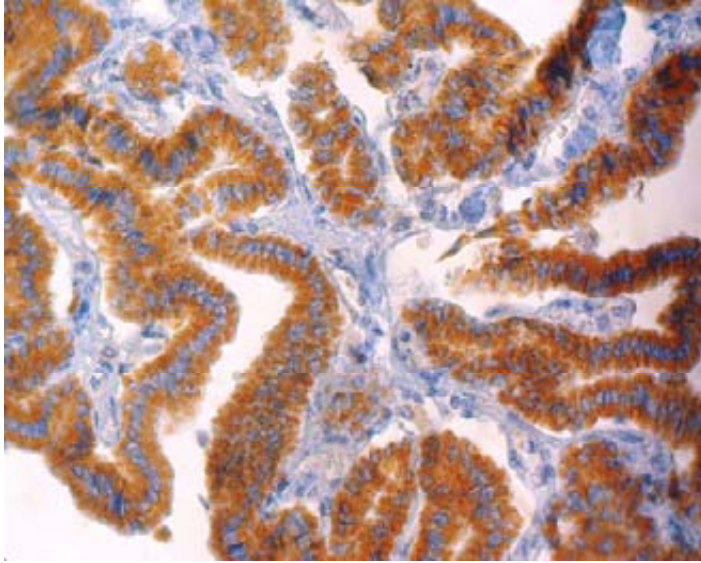


Fig. 11 Carcinoma Papilar de Tiroides, la fotomicrografía muestra la inmunoreactividad del citoplasma para los receptores estrogénicos.

El ki-67 fue positivo en el núcleo de las células neoplásicas, en diferentes intensidades, el conteo se realizó por 10 campos de alto poder (/10CAP). Y se reporto como núcleos positivos por 10 campos de alto poder (np/10CAP). (Fig 12)

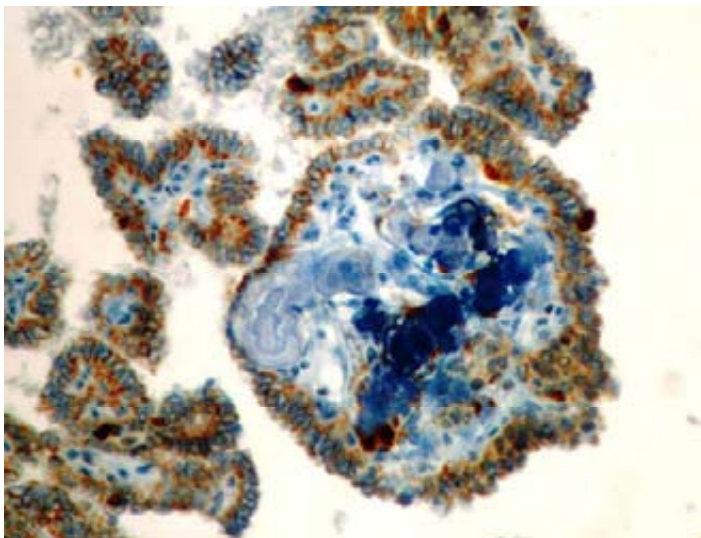


Fig. 12 Inmunopositivdad nuclear de algunas células en el carcinoma papilar de tiroides bien diferenciado en campo de alto poder (40X)

Se tomó como tejido control el tejido sano adyacente a la neoplasia disponible en 87 casos. Este tejido mostró una inmunopositividad nuclear de 0 a 8 np/10CAP con un promedio de 1.2 np/10CAP.

Se dispuso de tejido neoplásico suficiente en 90 casos para el conteo de inmunopositividad de Ki-67, realizamos grupos de corte arbitrariamente de la siguiente forma Grupo 1: Todos los casos con menos de 50 np/10CAP, Grupo 2: casos con 50 a 199 np/10CAP, Grupo 3: los casos de 200 a 349 np/10CAP y Grupo 4: todos los casos con mas de 350 np/10CAP.

Se realizó una tabla cruzada para comparar la positividad de ki-67 con respecto al grado de diferenciación. Los carcinomas Poco diferenciados y los carcinomas indiferenciados mostraron > 350 np/10CAP (Tabla 2)

Tabla 2.

Inmunopositividad de Ki-67 en los Carcinomas tiroideos con diferentes grados de diferenciación

Ki-67 NP/10CAP	C Bien Diferenciado n=83	C. Poco Diferenciado n=2	C. Indiferenciado n=5
< 50	35	0	0
50-199	38	0	0
200-349	5	0	0
>350	5	2	5
Total	83	2	5

NP/10CAP= Núcleos Positivos por 10 Campos de Alto Poder C= Carcinoma

Con la prueba de ANOVA se analizó la diferencia entre las medias de NP/100 CAP para Ki-67 con relación al grado de diferenciación de los carcinomas tiroideos, la cual mostró diferencia estadísticamente significativa entre los grupos ($p < 0.0001$) El análisis Post Hoc con la prueba de Tukey mostró diferencia estadísticamente significativa entre todos los grupos ($p < 0.0001$) (Fig. 14)

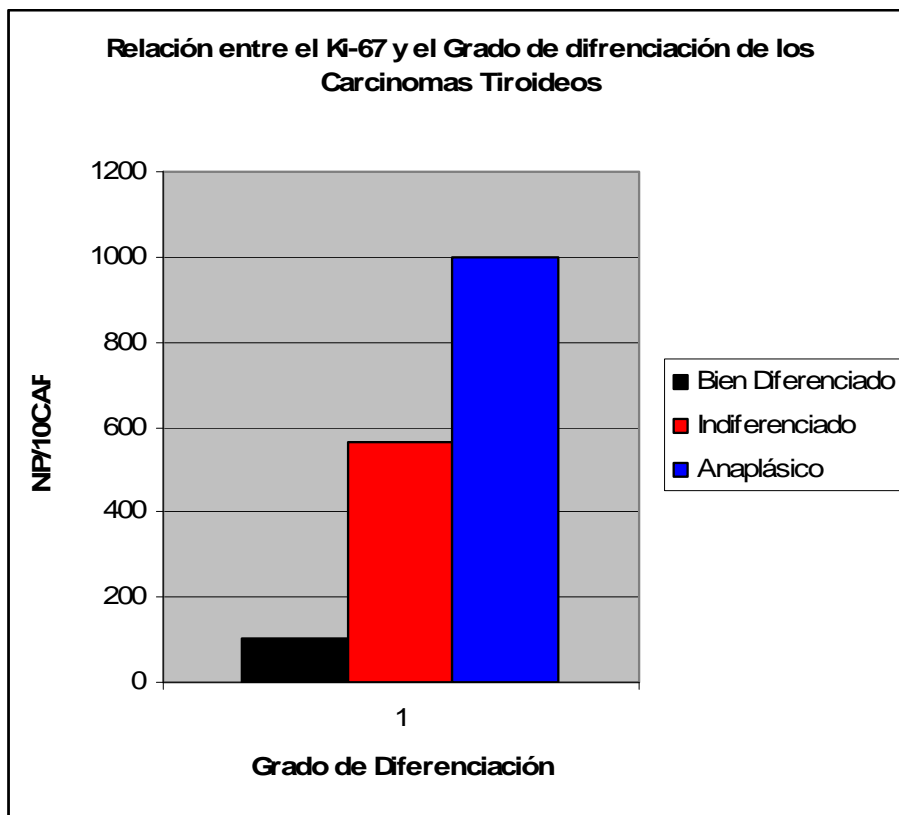


Fig. 14 Gráfico que muestra las diferencias entre las medias del np/10CAP (núcleos positivos para ki-67 por 10 Campos de Alto Poder) con respecto al grado de diferenciación del Carcinoma tiroideo.

V. DISCUSIÓN

El Departamento de Patología presta servicio principalmente al Hospital general "Dr. Miguel Silva" sin embargo también es el principal centro de referencia de piezas quirúrgicas del Centro Estatal de Atención Oncológica, recibe en menor medida material para diagnóstico de diversos Hospitales del estado de Michoacán, por lo tanto nuestros datos son el resultado del análisis de piezas quirúrgicas y biopsias recibidas de este hospital (Cirugía y Medicina Interna) así como del Centro Estatal de Atención Oncológica.

En un periodo de 6 años se diagnosticaron 2373 patologías de cabeza y cuello (938 neoplasias malignas) de las cuales 230 casos correspondieron a patología tiroidea con 98 neoplasias malignas que representaron el 10.44% de las neoplasias malignas de cabeza y cuello lo cual es mas bajo que el 29 % reportado por Davies L. y col. En un estudio realizado con la base de datos del National Cancer Institute`s Surveillance Epidemiology and End Results (SEER) program.³⁸

En cuanto a la distribución de las neoplasias malignas de tiroides en relación al género, se presentó con mayor frecuencia en mujeres 87.8% contra 12.2% en hombres, (relación 7.2-1) mientras que los datos reportados en diferentes partes del mundo refieren que son de 2.5 a 3 veces más frecuentes en mujeres.²⁰⁻²³

En México, un estudio realizado en el hospital de Oncología del IMSS en el 2002 analizó diversos factores de riesgo en 180 carcinomas de tiroides bien diferenciados, se mostró un predominio de presentación en mujeres con relación 4.8-1.⁴¹

En nuestro estudio se muestra un alto predominio de la neoplasia en mujeres, más alto que el reportado en diferentes artículos, lo cual se deba posiblemente al hecho de que las mujeres buscan atención médica con mayor frecuencia que los hombres.

La edad promedio de presentación fue de 48.7 años y concuerda con lo reportado en la literatura médica consultada.^{1-3,39.}

Con respecto a la distribución de los diferentes tipos histológicos, en este estudio el carcinoma papilar de tiroides se presentó en 89 casos (90.8%), seguido por el carcinoma anaplásico 5 casos (5.1 %), carcinoma folicular 2 casos (2 %), carcinoma indiferenciado 1 caso (1%) y carcinoma insular 1 caso (1%). Mientras que otros estudios muestran una frecuencia similar del carcinoma papilar de Tiroides (75-85%), una mayor frecuencia del carcinoma Folicular (6-20%) y frecuencias similares del carcinoma medular y anaplásico (1-5%)^{1-2,38,40.}

El carcinoma papilar de tiroides de tipo convencional se diagnosticó en el 70.7%, el patrón folicular en 17.9%, el microcarcinoma en 10.1%, y patrón de células columnares altas en 1.1%. Estos datos son congruentes con lo observado en otros estudios.^{39,42}

El carcinoma Indiferenciado o anaplásico tuvo con una frecuencia ligeramente mayor a la reportada (5.1% vs 1%, 1.6%)^{38,40} El patrón histológico se incluyó únicamente en 2 de los 5 casos (patrón sarcomatoide con patrón epidermoide y patrón sarcomatoide con diferenciación de sarcoma osteogénico).

La descripción macroscópica de la pieza registró tamaño del espécimen completo en 89 casos, peso en 26 casos, tamaño del tumor en 28 casos invasión o no de la cápsula en 94 casos, infiltración o no a los tejidos blandos en 84 casos y metástasis o no a los ganglios linfáticos en 40 casos.

La falta de registro de los datos en la totalidad de los casos se debe a varios factores, dentro de los cuales el cambio constante del personal en formación tal

vez sea el más importante, otro factor es que no se cuenta con un formato específico para la descripción de las diferentes piezas, esto ocasiona que se omitan algunos datos por olvido o premura.

En la población estudiada el carcinoma papilar de tiroides se presentó con mayor frecuencia en el grupo de los 30 a 49 años de edad y afectó en menor proporción a los mayores de 70 años. El carcinoma poco diferenciado afectó el grupo de 50 a 69 y todos los casos de carcinoma Indiferenciado o anaplásico se presentaron en adultos mayores de 70 años de edad, lo cual coincide con los datos reconocidos en las diferentes fuentes consultadas.^{1-3, 37-38}

Los casos analizados tanto neoplásicos como de tejido normal mostraron negatividad para los receptores estrogénicos, como testigo positivo se utilizó tejido con cáncer de mama, se analizaron las posibles causas de la negatividad ante la evidencia de la literatura médica revisada. Los posibles factores detectados fue el almacenamiento por largo tiempo del tejido en bloques de parafina, sin embargo descartamos la posibilidad ante la positividad de tejidos con cáncer de mama de épocas similares.

Por otra parte el personal técnico esta bien entrenado en la técnica de inmunohistoquímica y los receptores estrogénicos son parte de los receptores que se miden rutinariamente en este departamento ya que su expresión es factor pronóstico en el carcinoma de mama.

Por tanto podemos afirmar con certeza que los casos analizados fueron verdaderamente negativos para estos receptores, en los núcleos de tejido neoplásico y en tejido sano.

Aún cuando se observo positividad en el citoplasma de las células neoplásicas, consideramos esta reacción como inespecífica y no valorable debido a que los receptores estrogénicos tienen posición nuclear.

La positividad nuclear del factor de proliferación celular resulto notoriamente mas bajo en los carcinomas bien diferenciados cuando se comparo con los carcinomas pobremente diferenciados e Indiferenciados. Estos datos se apoyan con los estudios realizados por otros autores que han reportado mayor expresión de este marcador en tumores poco diferenciados. ^{33-35,37}

VI. CONCLUSIONES

Las neoplasias tiroideas analizadas en el departamento de Patología mostraron datos similares a los reportados en la literatura médica especializada revisada, en cuanto a las características clínicas y patrones histopatológicos, llama la atención un ligero incremento en la frecuencia de carcinoma Indiferenciado que posiblemente se debe a que este departamento recibe casos no solo de este hospital que atiende a una población abierta, de hecho los 5 casos de carcinoma Indiferenciado se enviaron del Centro Estatal de Atención Oncológica fue evidentemente es un centro de referencia específico de neoplasias malignas.

Los casos de carcinoma tiroideo analizados para receptores estrogénicos resultaron negativos, lo cual contrasta con la mayor parte de los artículos publicados que indican positividad o sobreexpresión de dichos receptores a nivel nuclear.

Aún cuando se observó positividad en el citoplasma de las células neoplásicas, consideramos esta reacción como inespecífica y no valorable debido a que los receptores estrogénicos tienen posición nuclear.

La proliferación celular medida por Ki-67 se muestra inversamente proporcional al grado de diferenciación del carcinoma tiroideo y muy reducida en el tejido sano adyacente a la neoplasia.

VII. BIBLIOGRAFIA

1. Robbins y Cotran. Patología estructural y funcional 7.a ed. Elsevier 2005 p. 521-530
2. Rosai and Ackerman. Surgical Pathology 9th ed. New York: Elsevier; 2004 p. 2438-2443
3. Kakudo K, Tang W, Ito Y, Mori I, Nakamura Y and Miyauchi A. Papillary carcinoma of the thyroid in Japan: subclassification of common type and identification of low risk group. Journal of Clinical Pathology 2004;57:1041-1046
4. Al-Brahim N, and Asa SL. Papillary thyroid carcinoma: an overview. Arch Pathol Lab Med. 2006;130:1057-62
5. Loyd RV, Erickson LA, Casey MB et al. Observer Variation in the diagnosis of follicular variant of papillary thyroid carcinoma. American journal Surgical Pathology. 2004;10:1336-40
6. Albores-Saavedra J, Wu J. The many faces and mimics of papillary thyroid carcinoma. Endocr Pathol. 2006;17:1-18
7. Liska J, Altanerova V, Galbavy S, Stvrtina S, and Brtko J. Thyroid Tumors: Histological Classification and genetic factors involved in the development of thyroid cancer. Endocrine Regulations 2005;39:73-83
8. Burningham AR, Krishnan J, Davidson BJ, Ringel MD, and Burman KD. Papillary and follicular variant of papillary carcinoma of the thyroid: initial presentation and response to therapy. Otolaryngol Head Neck Surg. 2005; 132:840-4
9. Frank W, Shen L, Aldred MA, et al. Genetic Classification of benign and malignant Thyroid Follicular Neoplasia Based on a Three-gene combination. The Journal of clinical Endocrinology and metabolism. 2005;90:2512-2521
10. Maxwell EL, Palme CE, Freeman J. Hurthle cell tumors: applying molecular markers to define a new management algorithm. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 2006;132(1):54-58
11. Booya F, Sebo TJ, Kasperbauer JL, Fatourechi V. Primary Squamous cell carcinoma of the thyroid; report of ten cases. Thyroid 2006;16(1):89-93

12. Patel KN, Shaha AR. Poorly differentiated and anaplastic thyroid cancer. *Cancer Control* 2006;13(2):119-28
13. Wiseman SM, Masoudi H, Niblock P. et al. Anaplastic thyroid carcinoma: Expression profile of Targets for therapy offers new insights for disease treatment. *Ann Surg Oncol* 2006;10
14. Chandrakanth A, and Shaha AR. Anaplastic thyroid carcinoma: biology, pathogenesis, prognostic factors, and treatment approaches. *Annals of Surgical Oncology* 2006;13(4):453-464
15. Fialkowski EA, Moley JF. Current approaches to medullary thyroid carcinoma, sporadic and familial. *J Surg Oncol.* 2006;15(8):737-47
16. Roman S, Lin R, Sosa L. Prognosis of medullary thyroid carcinoma: demographic, clinical and pathological predictors of survival in 1252 cases. *Cancer* 2006;107(9):2134-42
17. Valle LD, Ramina A, Vianello S, Fassina A, Paola B, and Colombo L. Potential for Estrogen synthesis and action in human normal and neoplastic thyroid tissues. *Endocrinol metab* 1998;83:3702-3709
18. Ron E, Kleinerman RA, Boice Jr JD, LiVolsi VA, Flannery JT, Fraumeni Jr JF. A population-based case-control study of thyroid cancer. *J Natl Cancer* 1987;79:1-12
19. Persson I, Yuen J, Bergkvist L, Schairer C. Cancer incidence and mortality in women receiving estrogen and estrogen-progestin replacement therapy-long-term follow-up of a Swedish cohort. *Int J Cancer* 1996;67:327-332
20. Yane K, Kitahori Y, Konishi N, et al. Expresión of the estrogen receptor in human thyroid neoplasms. *Cancer lett* 1994;84:59-66
21. Egawa C, Miyoshi Y, Iwao K, Shiba E, Noguchi S. Quantitative analysis receptor-alpha and -beta Messenger RNA expression in normal and malignant thyroid tissues by real-time polymerasa Chain reaction. *Oncology* 2001;61(4):293-8.
22. Lewy-Trenda I. Estrogen and progesterone receptors in neoplastic and non-neoplastic thyroid lesions. *Pol J Pathol* 2002;53(2):67-72

23. Thiruvengadam A, Govindarajulu P, Aruldhas MM. Modulatory effect of estradiol and testosterone on the development of N-nitrosodiisopropanolamine induced thyroid tumors in female rats. *Endocr Res.* 2003;29(1):43-51
24. Lelle RJ. In situ determination of the Ki-67 growth fraction (Ki-67 GF) in human cancer (studies in breast cancer). *Acta Histochem Suppl.* 1990;39:109-24
25. Diest PJV, Wall ED, Baak JPA. Prognostic value of proliferation in invasive breast cancer; a review. *J Clin Pathol* 2004;57:675-681
26. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol* 2000;182:311-22
27. Lau R, Grimson R, Sansome C, Tornos C, Moll UM. Low levels of cell cycle inhibitor p27kip1 combined with high levels of Ki-67 predict shortened disease-free survival in T1 and T2 invasive breast carcinomas. *Int J Oncol.* 2001;18(1):17-23.
28. Claudio PP, Zamparelli A, Garcia FU, et al. Expression of cell-cycle-regulated proteins pRb2/p130, p107, p27(kip1), p53,mdm-2, and Ki-67 (MIB-1) in prostatic gland adenocarcinoma. *Clin Cancer Res.* 2002; 8(6):1808-15.
29. Hommura F, Dosaka-Akita H, Mishina T, et al. Prognostic significance of p27KIP1 protein and ki-67 growth fraction in non-small cell lung cancers. *Clin Cancer Res.* 2000;6(10):4073-81.
30. Nakamura N, Yamamoto H, Yao T, et al. Prognostic significance of expressions of cell-cycle regulatory proteins in gastrointestinal stromal tumor and the relevance of the risk grade. *Hum Pathol.* 2005;36(7):828-37.
31. Gerdes J. Ki-67 and other proliferation markers useful for immunohistological diagnostic and prognostic evaluations in human malignancies. *Semin Cancer Biol.* 1990;1(3):199-206.
32. Lantsov D, Meirmanov S, Nakashima M, Cyclin D1 overexpression in thyroid papillary microcarcinoma: its association with tumour size and aberrant beta-catenin expression. *Histopathology.* 2005;47(3):248-56.

33. Erickson LA, Jin L, Goellner JR, Lohse C. Pathologic features, proliferative activity, and cyclin D1 expression in Hurthle cell neoplasms of the thyroid. *Mod Pathol.* 2000;13(2):186-92.
34. Pisani T, Pantellini F, Centanni M, Vecchione A, Giovagnoli MR. Immunocytochemical expression of Ki67 and laminin in Hurthle cell adenomas and carcinomas. *Anticancer Res.* 2003;23(4):3323-6.
35. Tisell LE, Oden A, Muth A, Altiparmak G, Molne J, Ahlman H, Nilsson O. The Ki67 index a prognostic marker in medullary thyroid carcinoma. *Br J Cancer.* 2003;89(11):2093-7.
36. Fadare O, Sinard JH. Glandular patterns in a thyroid carcinoma with insular and anaplastic features: a case with possible implications for the classification of thyroid carcinomas. *Ann Diagn Pathol.* 2002;6(6):389-98.
37. Salman B, Singh B, Hedvat CV, et al. Patterns of expression of cell cycle/apoptosis genes along the spectrum of thyroid carcinoma progression. *Surgery* 2006;140:899-906
38. Davies L, Welch G. Epidemiology of head and neck cancer in the United States. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery.* 2006;135:451-457.
39. Lang BH-H, Lo C-Y, Chan W-F et al. Classical and follicular variant of papillary thyroid carcinoma: a comparative study on clinicopathologic features and long-term outcome. *World J Surg* 2006;30:1-7
40. Are C, Shaha AR. Anaplastic Thyroid Carcinoma. Biology, Pathogenesis, Prognostic factors, and treatment approaches. *Annals of Surgical oncology*;13(4):453-464
41. Rodriguez-Cuevas S, Labastida-Almendaro S, Cortez-Arroyo H. et al. Multifactorial Analysis of survival and recurrences in differentiated thyroid cancer. Comparative evaluation of usefulness of AGES, MACIS and risk group scores in Mexican population. *J Exp Clin Cancer Res* 2002;21(1):79-86
42. Furlan JC, Bedard YC, Rosen IB. Role of fine-needle aspiration biopsy and frozen section in the management of papillary thyroid carcinoma subtypes. *World J Surg* 2004; (28):880-885