



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE MEDICINA

HOSPITAL CENTRAL “DR. IGNACIO MORONES PRIETO”

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OBTENER EL DIPLOMA EN LA ESPECIALIDAD DE
ANATOMÍA PATOLÓGICA

**ASOCIACIÓN ENTRE LA INMUNOEXPRESIÓN DE LA BETA CATENINA EN EL
CARCINOMA PAPILAR DE TIROIDES Y LA PRESENCIA DE METÁSTASIS EN GANGLIOS
LINFÁTICOS PERITIROIDEOS.**

Dr. Pablo Javier Pedroza Díaz

DIRECTOR CLÍNICO

M. C NADIA JUDITH GÓMEZ HERNÁNDEZ

DIRECTOR METODOLÓGICO

M. C JUAN FRANCISCO HERNÁNDEZ SIERRA

© copyright

Enero 2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE MEDICINA

HOSPITAL CENTRAL “DR. IGNACIO MORONES PRIETO”

Trabajo de investigación para obtener el diploma en la especialidad de Anatomía Patológica

Asociación entre la inmunoexpresión de la beta catenina en el carcinoma papilar de tiroides y la presencia de metástasis en ganglios linfáticos peritiroideos.

Pablo Javier Pedroza Díaz

No. de CVU del CONACYT: 1196388

Identificador de ORCID: 0000-0003-1812-2023

DIRECTOR CLÍNICO

M. en C. Nadia Judith Gómez Hernández

No. de CVU del CONACYT: 251602

Identificador de ORCID: 0000-0002-4264-3851

DIRECTOR METODOLÓGICO

M. en C. JUAN FRANCISCO HERNÁNDEZ SIERRA

No. de CVU del CONACYT: 122511

Identificador de ORCID: 0000-0002-8765-7472

SINODALES

Dra. Mary Carmen Gutiérrez Gil
Presidente

Dr. David Miguel Martínez Galla
Sinodal

Dra. Claudia Peña Zepeda
Sinodal

Dra. Olga Johnson Ponce
Suplente



Asociación entre la inmunoexpresión de la beta catenina en el carcinoma papilar de tiroides y la presencia de metástasis en ganglios linfáticos peritiroideos. Por Pablo Javier Pedroza Díaz se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/). 4

Resumen.

Introducción: El carcinoma papilar de tiroides es la neoplasia endocrina más común a nivel mundial, su incidencia oscila entre 3.1 a 10.2 por cada 100,000 habitantes y tiene una tasa de mortalidad del 0.4 al 0.5%. Es más frecuente en el sexo femenino, con una edad de presentación entre los 25 a 65 años. Cuando se detecta en estadio clínico temprano la tasa de curación es del 98%, se ha descrito que en el 20% de los pacientes tendrán enfermedad recurrente y hasta un 15% presentarán metástasis al momento del diagnóstico. Las mutaciones oncogénicas más frecuentes son la alteración del BRAFV600E y los rearrreglos RET/PTC. En los últimos años, se ha estudiado una tercer vía implicada, la vía de la Beta catenina o WNT la cual participa en la replicación y en la migración epitelio mesenquimal. **Objetivo principal:** Determinar la asociación de la inmunexpresión de la B-catenina en el carcinoma papilar de tiroides y la presencia de metástasis ganglionares. **Diseño de estudio:** Observacional de tipo analítico retrospectivo; el cálculo del tamaño de la muestra y análisis estadístico fue muestreo consecutivo por conveniencia, tamaño de la muestra fue de 60 casos del periodo 2011 al 2020. **Análisis estadístico:** se calcularon medidas de tendencia central y de dispersión para cada una de las variables involucradas. Para la comparación entre los grupos para la B-catenina y la positividad de los ganglios se calculó regresión logística y se consideró positivo cuando $P < 0.05$. **Factibilidad:** En el laboratorio de patología, se contaron con los casos, el material y el personal capacitado para realizar el procedimiento. **Resultados:** El sexo predominante fue el femenino, edad promedio de 42.2 años y la variante predominante fue convencional. Se presentaron metástasis ganglionares en 48 casos, no se observó reacción nuclear de la b-catenina, el patrón predominante fue en membrana y citoplasma. **Conclusión:** No se encontró acumulación nuclear de la B-catenina, por lo que no se puede utilizar como un marcador pronóstico de metástasis ganglionares. No se identificó la mutación de la B-catenina por inmunohistoquímica.

Palabras Clave: Carcinoma papilar de tiroides, WNT, B-catenina, caderinas

ÍNDICE

	Página
Resumen	5
Índice.....	6
Lista de cuadros	8
Lista de figuras	9
Lista de gráficos	10
Lista de abreviaturas	11
Dedicatorias	12
Reconocimientos	12
Antecedentes	13
Justificación	20
Hipótesis	22
Objetivos	22
Sujetos y métodos	23
Análisis estadístico	26

Ética	27
Resultados	28
Discusión	39
Limitaciones y/o nuevas perspectivas de investigación	41
Conclusiones	42
Bibliografía	43
Anexo 1 (Carta Aprobación Comité Académico)	46
Anexo 2 (Solicitud Sometimiento .tesis)	47
Anexo 3 (Currículum Investigador Principal)	48
Anexo 4 (Carta Confidencialidad)	49
Anexo 5 (Carta de no Conflicto de Interés)	50
Anexo 6 (Cronograma de Actividades)	51
Anexo 7 (Hoja de Recolección de Datos)	53
Anexo 8 (Ficha Técnica de B-catenina)	54

LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. (Variables)	24
Cuadro 2. (Características de los casos estudiados con presencia de metástasis y sin metástasis ganglionares)	38

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. (Patrones de Inmunorreacción a B-catenina)	36

LISTA DE GRÁFICOS

	Página
Gráfica 1. (Distribución por género)	28
Gráfica 2. (Distribución por edad)	29
Gráfica 3. (Tamaño tumoral)	30
Gráfica 4. (Focalidad del carcinoma papilar de tiroides)	31
Gráfica 5. (Variantes Histológicas)	32
Gráfica 6. (Variantes mixtas)	33
Gráfica 7. (Metástasis ganglionares)	34
Gráfica 8. (Características de los casos positivos a metástasis ganglionares)	35
Gráfica 9. (Inmunomarcación de B-catenina en casos con ganglios positivos a metástasis)	36
Gráfica 10. (Inmunomarcación de B-catenina en casos negativos a metástasis ganglionares)	37

LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS.

- **B-Catenina:** Beta Catenina
- **OMS:** Organización de las naciones unidas
- **AJCC:** American Joint Committee on Cancer
- **CAP:** College of American Pathologists
- **μl:** Microlitros
- **ml:** Mililitros
- **cm:** Centímetros
- **ARN:** Ácido ribonucleico
- **WNT:** Wingleless-type
- **TTF1:** Thyroid Transcription Factor-1

Dedicatorias y Reconocimientos.

Este trabajo está dedicado a mis Padres por su apoyo incondicional, a mis profesores por sus grandes enseñanzas y a OAJ por su paciencia, apoyo e inspiración.

Mi mayor reconocimiento a Mine, Susana y Angélica por la dedicación y esmero para realizar los cortes e inmunohistoquímica.

Antecedentes.

El carcinoma papilar de tiroides es la neoplasia endocrina más común a nivel mundial, su incidencia oscila entre 3.1 a 10.2 por cada 100,000 habitantes, tiene una tasa de mortalidad del 0.4 al 0.5% y es más frecuente en el sexo femenino¹.

En México ocupa la sexta causa de cáncer en el sexo femenino, con una proporción mujer: hombre de 2-5:1. El rango de presentación oscila entre los 25 a 65 años.

Cuando se detecta en un estadio clínico temprano, la tasa de curación es del 98%, se ha descrito que en el 20% de los pacientes tendrán enfermedad recurrente y hasta un 15% presentarán metástasis al momento del diagnóstico². Existen varios factores de riesgo para el desarrollo del cáncer tiroideo entre los cuales destacan la deficiencia dietaria de yodo, poliposis adenomatosa familiar, síndrome de Cowden, cáncer de mama e historia familiar de cáncer tiroideo³. El factor de riesgo más importante que se ha asociado al carcinoma papilar de tiroides es la exposición a radiación ionizante mayor de 200 a 500 rads; lo cual aumenta la probabilidad del desarrollo de carcinoma papilar hasta un 2% por cada año de exposición; de igual manera se ha demostrado que la enfermedad puede aparecer veinte años después de la exposición a radiación^{4,5}.

Desde el punto de vista patológico: macroscópicamente son tumores de tamaño variable, blanquecinos, sólidos y de aspecto invasivo rodeados de una pseudocápsula fibrosa; microscópicamente destacan sus alteraciones nucleares, tales como núcleos grandes con imagen en vidrio despulido, nucléolos inconspicuos sobre una membrana nuclear engrosada, pseudoinclusiones nucleares, hendiduras nucleares y en algunos casos, la acumulación de microfilamentos nucleares; el estroma es fibroso, usualmente forma bandas fibrosas que atraviesan el tumor y puede variar entre esclerohialina hasta altamente celular; así mismo tienen formación de calcificaciones distróficas, que se observan como laminaciones concéntricas, denominadas cuerpos de psammoma.

La enfermedad se disemina vía linfática, a través de los ganglios linfáticos cervicales en el 60% de los casos, sobre todo en pacientes jóvenes. Los pacientes con enfermedad invasiva extratiroidea y con metástasis ganglionares tienen un peor pronóstico con una supervivencia a seis años del 50%⁶.

La Organización Mundial de la Salud, en su edición 2016, reconoce las siguientes variantes del carcinoma papilar de tiroides⁷.

- Microcarcinoma papilar: tumores que miden menos de un centímetro.
- Variante encapsulada: recubiertos totalmente por una cápsula fibrosa.
- Variante folicular: tumor parcial o totalmente folicular con presencia de alteraciones nucleares propias del carcinoma papilar.
- Variante Esclerosante difusa: esclerosis de uno o de ambos lóbulos tiroideos acompañados de abundantes cuerpos de psammoma.
- Variante Oncocítica: el citoplasma de la célula tumoral es abundante con gránulos oxínticos.
- Variante de Células altas: forma crecimientos papilares recubiertos por células altas de abundante citoplasma.
- Variante de células columnares: la neoplasia forma papilas delgadas y espacios glandulares revestidos por un epitelio columnar con alteraciones nucleares y un citoplasma amplio.
- Variante Sólida trabecular: ésta variante representa del 1 a 3% de los carcinomas papilares del adulto, es un tumor sólido con formación de trabéculas.
- Variante fusocelular: metaplasia de células en huso que varía del 5 al 95% del tumor, son células de origen epitelial con inmunorreacción a citoqueratinas y TTF1.
- Variante de células claras: es una variante rara, la cual se suele ver en combinación con el patrón oncocítico.

- Variante Warthinoide: es una lesión circunscrita, no encapsulada, las células son grandes con tinte eosinófilo y el tallo fibrovascular contiene un infiltrado linfoplasmocitario florido.
- Variante de células en tachuela: Es un patrón raro, por definición, el tumor debe contener >30% de células con forma de tachuela; arquitectalmente, forma papilas o micropapilas, las cuales están revestidas por células foliculares de citoplasma eosinofílico, núcleo apical y nucléolo prominente.

De acuerdo a lo reportado con el Colegio Americano de Patólogos o CAP por sus siglas, entre las variantes más agresivas de este carcinoma se encuentra el de células en tachuela, que tiene un grado alto de metástasis y recurrencia, la forma esclerosante difusa, que se relaciona con mayor agresividad regional y un número elevado de ganglios linfáticos positivos.

El Colegio Americano de Patólogos proporciona los criterios para clasificar y estadificar al carcinoma papilar de tiroides, son los siguientes: el tamaño tumoral, los tumores <1cm, tienen mejor un comportamiento poco agresivo en comparación con los tumores >4cm.

Extensión extra capsular, la cual se define como implantes tumorales macro o microscópicos hacia el tejido peritiroideo, lo que incluye vasos sanguíneos, nervios y parte del musculo o fascia peritraqueal.

Permeación angiolinfática, puesto que es la principal vía de diseminación del carcinoma papilar, sobre todo por vía linfática, se relaciona con metástasis a ganglios linfáticos, sobre todo cuando se observa en al menos dos focos.

Metástasis ganglionares: aportan un factor pronóstico, sobretodo en pacientes de edad avanzada⁸.

Alteraciones moleculares en el desarrollo del Carcinoma Papilar de Tiroides.

La patogénesis del carcinoma papilar de tiroides está ligado a oncogenes que inducen la desdiferenciación, invasión y metástasis; las mutaciones más frecuentemente asociadas son la mutación BRAFV600E, los rearrreglos del RET/PTC y en la actualidad, se ha descubierto la participación de la vía WNT.

La mutación oncogénica más frecuente es la alteración del BRAFV600E, en un 76%, en donde habrá un cambio de valina por glutamato en el codón 600, esta alteración es activada por RAS/MAPK e induce diferenciación y proliferación celular; esta vía produce inestabilidad genética que induce mutaciones de la fosfoinositidil-3-cinasaAkt serina/treonina cinasa (PI3K-AKT) lo que confiere agresividad a la neoplasia papilar⁹.

El rearrreglos RET/PTC, se localiza en el cromosoma 10q11; esta mutación creará receptores de tirosina cinasa activados, en particular al CPT1 y CPT2; la cual estará implicada en la exposición prolongada a radiación ionizante y se relaciona con la presencia de enfermedad en pacientes jóvenes y/o aquellos menores de 45 años, dicha fusión genética causará alteración en la vía MAPK^{10,11}.

Con relación a la participación de la vía WNT en el proceso de participación en las metástasis la fisiopatogenia implica que una célula tumoral cruza el tejido adyacente y entre al sistema circulatorio, donde se describen una serie de alteraciones estructurales denominados como transición epitelio-mesenquimal, donde la célula maligna expresa características de una célula mesenquimal y tendrá la capacidad de movimiento, esta transición se encuentra promovida por la vía WNT.^{12,13}

Caderinas y cáncer.

Las caderinas pertenecen a una familia de 114 proteínas dependientes de calcio que participan en la adhesión celular, haciendo uniones estrechas entre célula a célula, formando áreas de unión en el citoplasma para otras caderinas, que al momento de unirse, forman unión herméticas así como interacciones con la actina del citoesqueleto dando estabilidad citoplasmática y comunicación nuclear^{14,15}. Con relación a la participación de la caderinas en el cáncer, se conoce que estas proteínas actúan en estadios avanzados como promotores de migración celular, invasión y dediferenciación principalmente en la transición epitelio-mesenchimal, como mecanismo compensatorio de la hipoxia celular; a nivel citoplasmático habrá pérdida de la expresión de la E-cadherina promoviendo pérdida de la adhesión tisular, a través de mecanismos epigenéticos en la cual la e-cadherina expresa micro ARN-9/10b y junto con factores de transcripción se pierden las uniones celulares, a la par presenta sobreexpresión de Tiam-1, el cual actúa indirectamente sobre la vía de la B-catenina, de igual manera se activa el Rac-1, que actúa como un regulador y suprime así la actividad de la B-catenina, promoviendo la migración celular. ¹⁶⁻¹⁷.

Vía de la WNT/B Catenina y Carcinoma Papilar de Tiroides

Esta vía WNT/B-catenina (llamada "*Wingless-type*" por sus siglas en inglés) promueven la transcripción celular al proporcionar estabilidad citoplasmática de la B-catenina y actúa como una proteína supresora de tumores; dicho proceso corresponde a una red molecular en la que se intercalan ligandos de tipo lipoproteínas de baja densidad relacionadas al grupo proteico (LRP 5/LRP6) los cuales unidos a receptores transmembrana denominados "*Frizzled*" se activan de manera parácrina, inhibiendo complejos proteínicos y de esta forma bloquean la actividad enzimática de la glicogencinasa sintetasa-3B, promoviendo la transcripción¹⁶.

Cuando se estimulan los receptores transmembranales "*Frizzled*", la B- catenina penetra al núcleo celular, donde actúa como un agente de transcripción; una vez

terminada la acción biológica, la B-catenina activada es degradada. Cuando los niveles citoplasmáticos de la B-catenina son bajos, se detiene el complejo de destrucción nuclear a partir de un ligando denominado “*dishevelled*”, lo que provoca un bloqueo en la fosforilación, ubiquitinación y degradación de proteínas y se sintetizará nueva B-catenina que se acumulará en el citoplasma.

Cualquier mutación o sobreexpresión en esta vía, es un factor de riesgo para la predisposición de carcinomas; si se codifica una B-catenina defectuosa que fosforilará de manera incompleta a la GSK-3B, causando acumulación de B-catenina, primero a nivel citoplasmático y posteriormente a nivel nuclear¹⁷⁻¹⁸.

La desregulación de la B-catenina provoca hiperactivación del BRAFV600E y pérdida de la expresión de E-cadherina con acumulación de B-catenina, esta acumulación nuclear induce la proliferación de las células neoplásicas y activa al gen RET/PTC que fosforilará a la B-catenina obteniendo GSK3B ser/Thr, la cual participa como estabilizador de la B-catenina; una vez que se estabiliza, interactúa con los factores de transcripción TCF/LEF y bloquean la actividad de la ciclina D1, lo que causa mayor proliferación y transcripción. A la par, se da una activación no canónica, a partir de la estimulación del Wnt5A, que induce actividad del receptor Ror2, que expresará metaloproteasas que dan la señalización para la transición epitelial mesenquimal¹⁹.

Se han realizado estudios de inmunohistoquímica para demostrar esta acumulación nuclear de la B-catenina. De acuerdo con lo referido por Ishigaki²⁰ en un estudio por inmunocitoquímica, encontró una alteración en la expresión de B-catenina en todos los carcinomas tiroideos, no obstante; en el carcinoma papilar específicamente demostraron acumulación nuclear y citoplasmática intensa en comparación con el resto de los tumores y lo relacionaron a partir de inmunoensayo, con mutaciones en factores de transcripción, sobre todo TBE2. Dencic²¹, demostró que hay una asociación con la acumulación de la B-catenina nuclear y coexpresión de factor de crecimiento endotelial con un estadio clínico avanzado e invasión capsular y/o metástasis ganglionar a la cadena cervical. Tsiambas²² et al documentaron la pérdida de expresión de e-cadherina por

estudio de inmunohistoquímica en el carcinoma papilar de tiroides y relacionaron la alteración en las caderinas y la vía Wnt, según el grado de desdiferenciación y concluyeron que son punto clave en la generación de metástasis.

Zhou²³ et al sugirieron que la pérdida de expresión de las cateninas está relacionado con una progresión de la enfermedad y un estadio TNM avanzado; mientras que Rezk²⁴, en su estudio señaló que en condiciones normales, la glándula tiroides tuvo una expresión de membrana en el 100% de las tiroides estudiadas con intensidad fuerte, y no observó expresión citoplasmática o nuclear, de igual forma puntualizó que en el 87% de los pacientes con carcinoma papilar de tiroides, se encontró acumulación nuclear del anticuerpo.

Terapia blanco a la vía WNT en Carcinoma Papilar de Tiroides.

La proteína Dickkopf-1, es una proteína secretora que inhibe a los receptores LRP 5/6, que bloquea el complejo de receptores "*Frizzled*"²⁵. Esta proteína, tiene una actividad biológica sobre el TCF/LEF, lo que se sugiere como el blanco nuclear de la vía Wnt/B-catenina; Se conoce que bloquea la transcripción en el 59% y clínicamente hay mejoría en la sobrevida en aquellos pacientes con estadios clínicos avanzados del carcinoma papilar de tiroides²⁶.

Justificación.

El presente estudio tiene como finalidad demostrar que en el cáncer de tiroides la Inmunoexpresión de la B-catenina es un factor de enfermedad agresiva, comparando la metástasis en ganglios linfáticos cervicales.

El carcinoma papilar de tiroides, es una neoplasia frecuente en nuestra población, principalmente en las mujeres, se conoce que la B-catenina, participa en la pérdida de la adhesión y aumento de la replicación celular tumoral por medio de la vía WNT, promoviendo la diseminación neoplásica. Se ha comprobado por medio de estudio de inmunohistoquímica, que la tinción aberrante de la B-catenina, donde hay pérdida de la reacción en membrana y muestra acumulación nuclear²³, ²⁴, podría usarse como un predictor de enfermedad agresiva.

En México, no se han realizado estudios de la vía WNT en pacientes con carcinoma papilar de tiroides: es importante conocer el papel que tiene esta vía en pacientes mexicanos en comportamiento, agresividad, extensión ganglionar y contemplarlo como otro factor de mal pronóstico.

Pregunta de investigación:

¿Existe asociación entre la inmunexpresión de B-catenina del carcinoma papilar de tiroides y la presencia de metástasis ganglionares?

Hipótesis.

Existe una asociación entre la inmunexpresión positiva a la B-catenina en carcinoma papilar de tiroides como factor de agresividad y la presencia de metástasis ganglionares.

Objetivos.

Objetivo General: Determinar la asociación de la inmunexpresión de B-catenina en carcinoma papilar de tiroides y la presencia de metástasis ganglionares cervicales.

Objetivo Específico: Evaluar la inmunexpresión tumoral de la B-catenina en pacientes con carcinoma papilar de tiroides

Objetivo Secundario: Evaluar la inmunexpresión tumoral de la B-catenina con las variantes agresivas del carcinoma papilar de tiroides. / Tamaño tumoral.

Sujetos y Método.

Se realizó un estudio observacional analítico de tipo retrospectivo, en el laboratorio de Anatomía patológica del hospital “Dr. Ignacio Morones Prieto”, los casos se seleccionaron a partir de los diarios de quirúrgicos disponibles ente el periodo del 2011 al 2020, los números de quirúrgico de pacientes con diagnóstico histopatológico de carcinoma papilar de tiroides que contaron con los criterios de selección:

Criterios de Inclusión:

- Pacientes mayores de 18 años.
- Diagnóstico histopatológico según la AJCC 2018 de carcinoma papilar de tiroides de cualquier variante histológica.
- Tiroidectomía total con disección linfática ≥ 1 ganglios linfáticos.
- Disponibilidad de bloques de parafina en el archivo.

Criterios de Exclusión:

- Todos aquellos casos que hayan tenido tratamiento neoadyuvante previo a la cirugía.
- Todos aquellos casos con material obtenido por biopsia por aspiración con aguja fina.
- Pacientes menores de 18 años.

Criterios de Eliminación:

- Productos referidos con disección linfática sin obtención de ganglios linfáticos.
- Bloques de parafina sin material o con material inadecuado para estudio de inmunohistoquímica

Se realizó la base de datos de los casos seleccionados y se evaluó el material para la selección del bloque para la realización del estudio de inmunohistoquímica

con el anticuerpo “*B-catenin Concentrated and Prediluted Monoclonal Antibody*” de BioCare (Anexo 8)

Cuadro 1. Variables:

DEPENDIENTE				
VARIABLE	DEFINICION OPERACIONAL	VALORES POSIBLES	UNIDADES	TIPO DE VARIABLE
Metástasis Ganglionares	Presencia o ausencia de metástasis	0: negativo 1: positivo		CATEGÓRICA
INDEPENDIENTE				
VARIABLE	DEFINICION OPERACIONAL	VALORES POSIBLES	UNIDADES	TIPO DE VARIABLE
Inmunoexpresión de B-Catenina	Expresión nuclear del anticuerpo en las células tumorales.	0:negativo 1:positivo		CATEGÓRICA
CONFUSIÓN/SOCIODEMOGRÁFICAS				
VARIABLE	DEFINICION OPERACIONAL	VALORES POSIBLES	UNIDADES	TIPO DE VARIABLE
Edad	Edad biológica del paciente	Años cumplidos	Años	DISCRETA
Tamaño tumoral	Diámetro mayor del tamaño tumoral	0-infinito	cm	CONTINUA

Técnica de Inmunohistoquímica.

- Se realizaron cortes de 3 micrómetros del caso problema y los controles, los cuales se montaron en laminillas electrocargadas *hydrophilic plus slides BioSB* y se desparafinaron durante 12 horas a 60°C.
- Posteriormente se sacaron las laminillas de la estufa y se colocaron en xilol durante 10 minutos y luego por agua destilada, alcohol de 96°, 80° y agua destilada.
- Se colocaron los casos en Buffer de desenmascaramiento *Immuno/DNA Retriever with citrate* de la marca BioSB dentro de olla de presión automatizada *Decloacking Chamber* de la marca BIOCARE. Una vez fuera de la olla automatizada, se enfriaron por 20 minutos, se enjuagaron en agua destilada por 5 minutos y en peróxido de hidrogeno al 3% por 15 minutos.
- Se lavaron con agua destilada por 5 minutos y se colocaron en Buffer TBS y se cubrieron con 100µl. de B-catenina, anticuerpo monoclonal concentrado, clona 14, Mouse/Rabbit Immunodetector DAB-HRP BioSB en dilución 1:200 y se incubó por 40 minutos en cámara húmeda.
- Luego de la incubación, se lavó con TBS y se cubrió el caso con anticuerpo secundario marcado con biotina *BIOTIN LINK* durante 10 minutos y se volvió a enjuagar con TBS.
- Se cubrieron los casos con polímero Streptavidina-HRP por 10 minutos y se enjuagaron por TBS.
- Se rebeló la actividad peroxidásica utilizando diaminobencidina bajo control microscópico y se sumergieron en agua destilado para detener la reacción.
- Se contratiñeron con Hematoxilina y Eosina de Harris por 30 segundos y se enjuagó con agua corriente, agua destilada y se deshidrataron por alcohol 96°, 100° y xileno.
- Finalmente se cubrieron con Entellan.
- Se evaluó la positividad del anticuerpo B-catenina a partir de una célula tumoral con inmunorreacción nuclear, citoplasmática y/o membrana.

Análisis Estadístico.

Se realizó un muestro consecutivo con cálculo de la muestra:

Metástasis Ganglionares = Positividad B. Catenina + Tamaño tumoral + edad

Por lo tanto, el cálculo del tamaño de la muestra será:

$N = G.I.(10) / \text{probabilidad del evento}$

Dónde: GL: grados de libertad. (1 B-catenina + 1 tamaño tumoral + 1 edad = 3)

Probabilidad del evento: 0.5

Por lo tanto:

$$N = 3(10) / 0.5 = 30 / 0.5 = 60$$

El tamaño de la muestra fue de 60 casos dentro del periodo 2011 al 2020.

Para el análisis, se calcularon medidas de tendencia central y de dispersión para cada una de las variables involucradas.

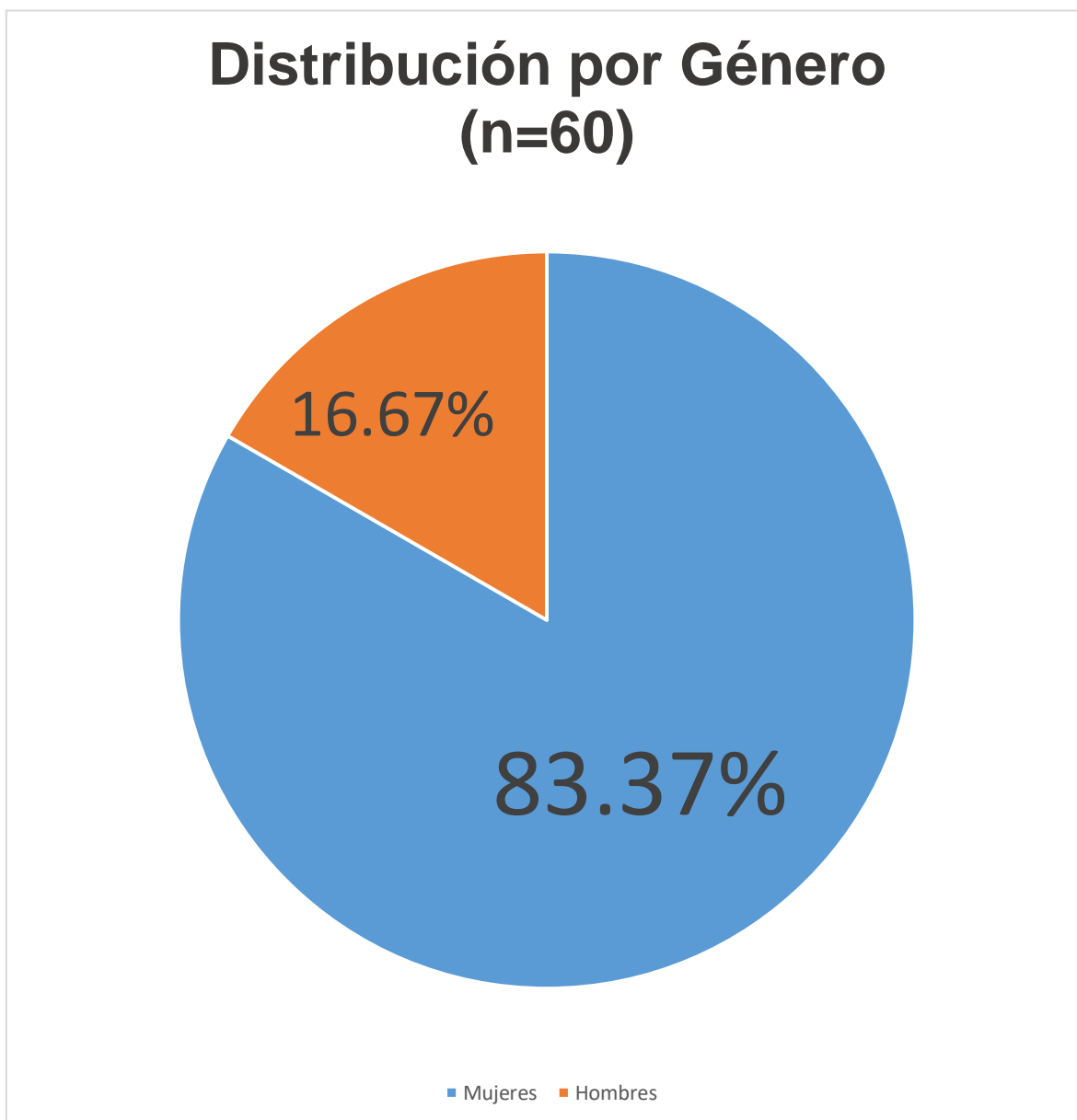
Para la comparación entre los grupos para la B-catenina y la positividad de los ganglios se calculó regresión logística y se consideró positivo cuando $p < 0.05$.

Ética:

Posterior a la revisión de la declaración de Helsinki (1964 y su última revisión en el 2013), en su Artículo 8 en el que se habla sobre el derecho del paciente a tomar decisiones informadas y el derecho a su autodeterminación, aunado al Artículo 5 en el que se expresa que el bienestar del paciente debe ser siempre precedente sobre los intereses de la ciencia o de la sociedad, también posterior a revisar la Norma Oficial Mexicana-004-SSA3-2012, del expediente clínico en su apartado 4.2 sobre el consentimiento informado y Ley General de Salud en el su Artículo 13 en el que se expresa que toda investigación en la que el ser humano sea sujeto de estudio, deberán prevalecer el criterio del respeto a su dignidad y la protección de sus derechos y bienestar sumado a su Artículo 16 en el que establece que en las investigaciones en seres humanos; se protegió la privacidad del individuo sujeto de investigación, identificándolo sólo cuando los resultados fueron requeridos y éste lo autorizó; entendido esto y así como lo marca esta última Ley; se concluyó que fue una investigación sin riesgo, ya que fue un estudio que empleó técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y no se realizó ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los individuos que participaron en el estudio. Así mismo, no se consideraron cuestionarios, entrevistas, revisión de expedientes clínicos y otros, en los que no se le identifique ni se traten aspectos sensitivos de su conducta. Para el presente estudio no se hizo partícipe al paciente, sólo se utilizaron los informes histopatológicos y los bloques de parafina de los mismos. Los datos con los cuales se identificó el material fueron con el número de quirúrgico asignado y fueron manejados con estricta confidencialidad y sujetos a los lineamientos de COFEPRIS Y CONBIOÉTICA.

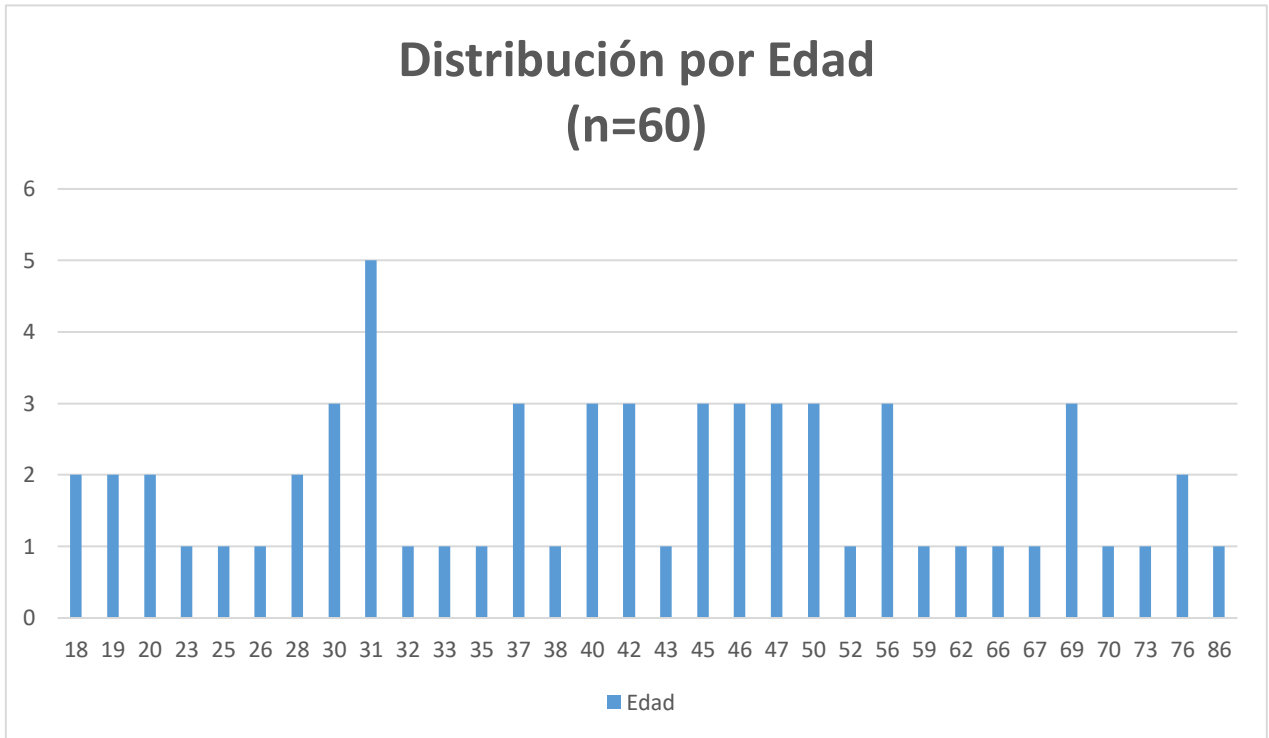
Resultados.

En el periodo comprendido de enero del 2011 a diciembre del 2020 se recolectaron 60 casos de tiroidectomías totales con linfadenectomía con diagnóstico de carcinoma papilar de tiroides, los cuales correspondieron a 50 casos al sexo femenino (83.37%) y 10 casos sexo masculino (16.67%). (Gráfica 1)



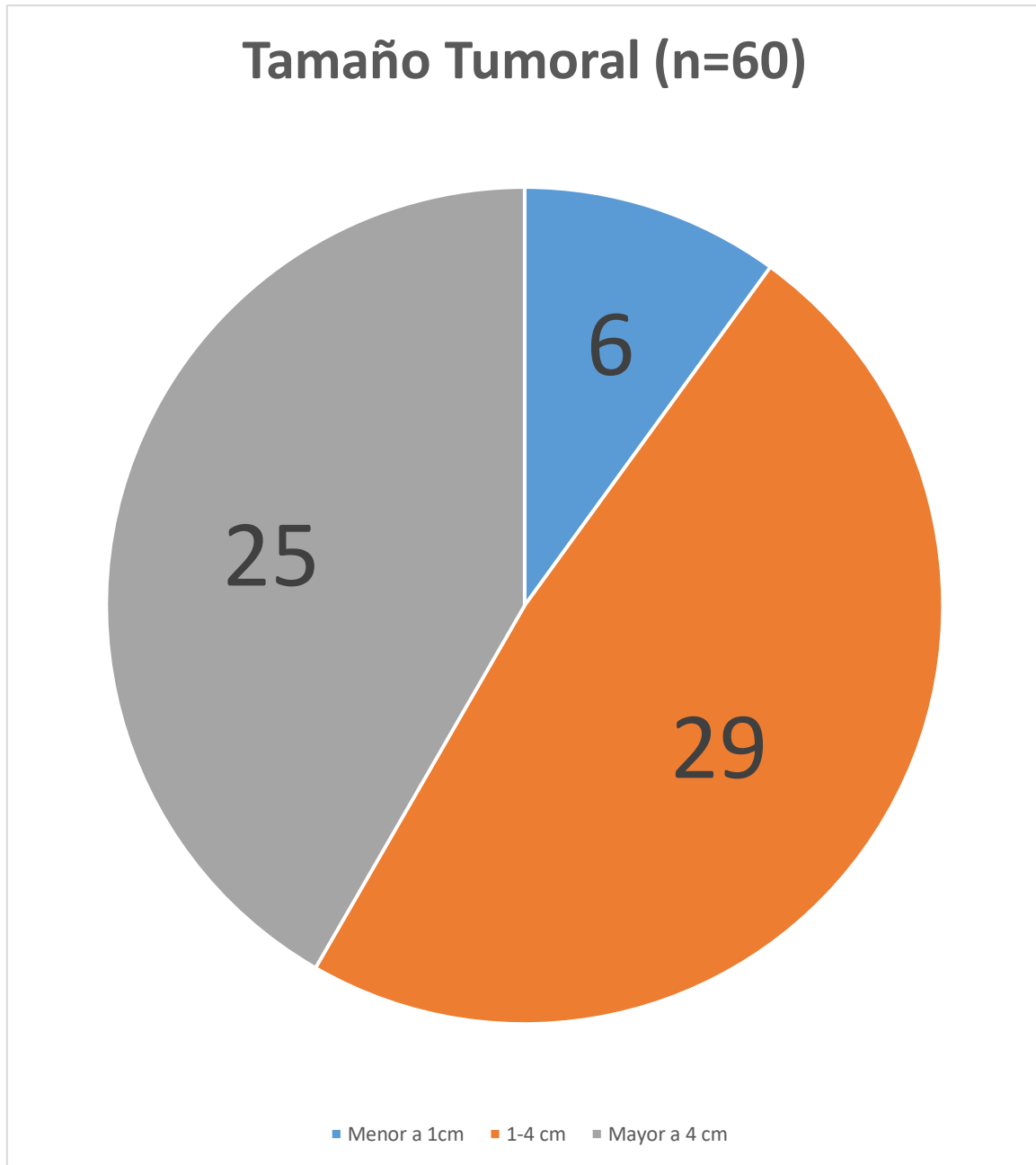
Gráfica 1: Distribución por género.

El rango etario (n=60), se distribuyó entre los 19 y 86 años con una edad media de 42.2 años (Gráfica 2).



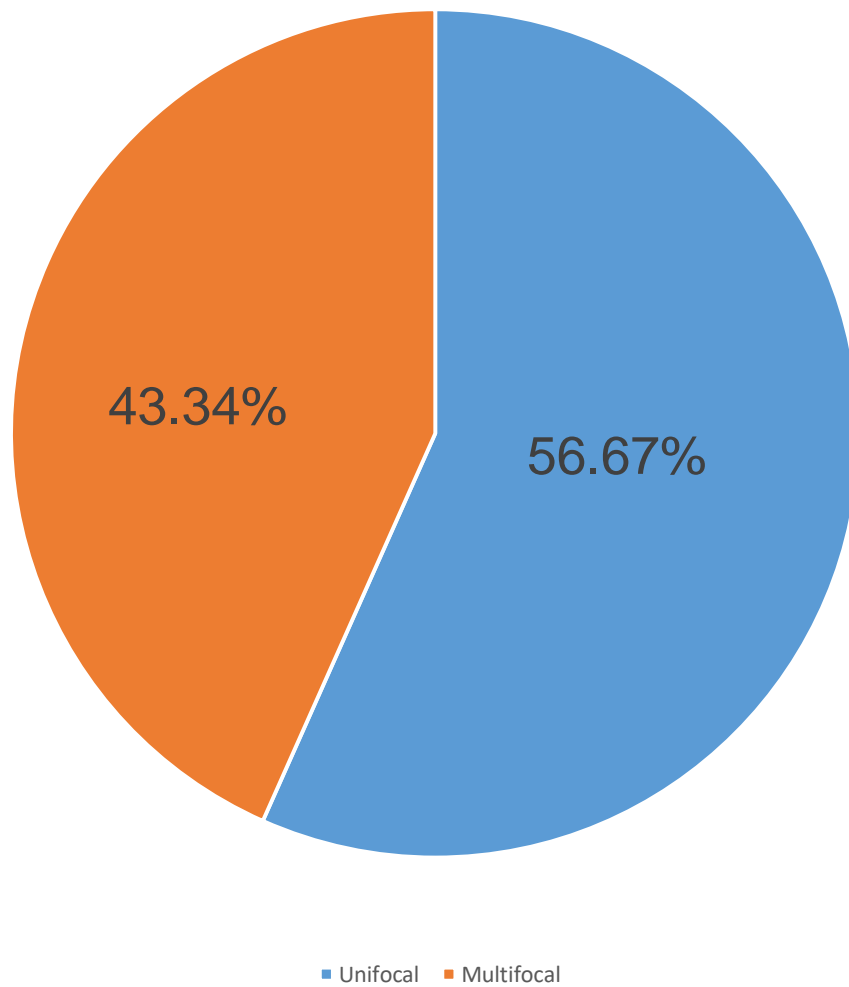
Gráfica 2: Distribución por edad.

El tamaño promedio del tumor fue de 3.9 cm de diámetro (Gráfica 3); con una distribución unifocal en 34 casos (56.67%) y multifocal en 26 casos (43.34%),(Gráfica 4).



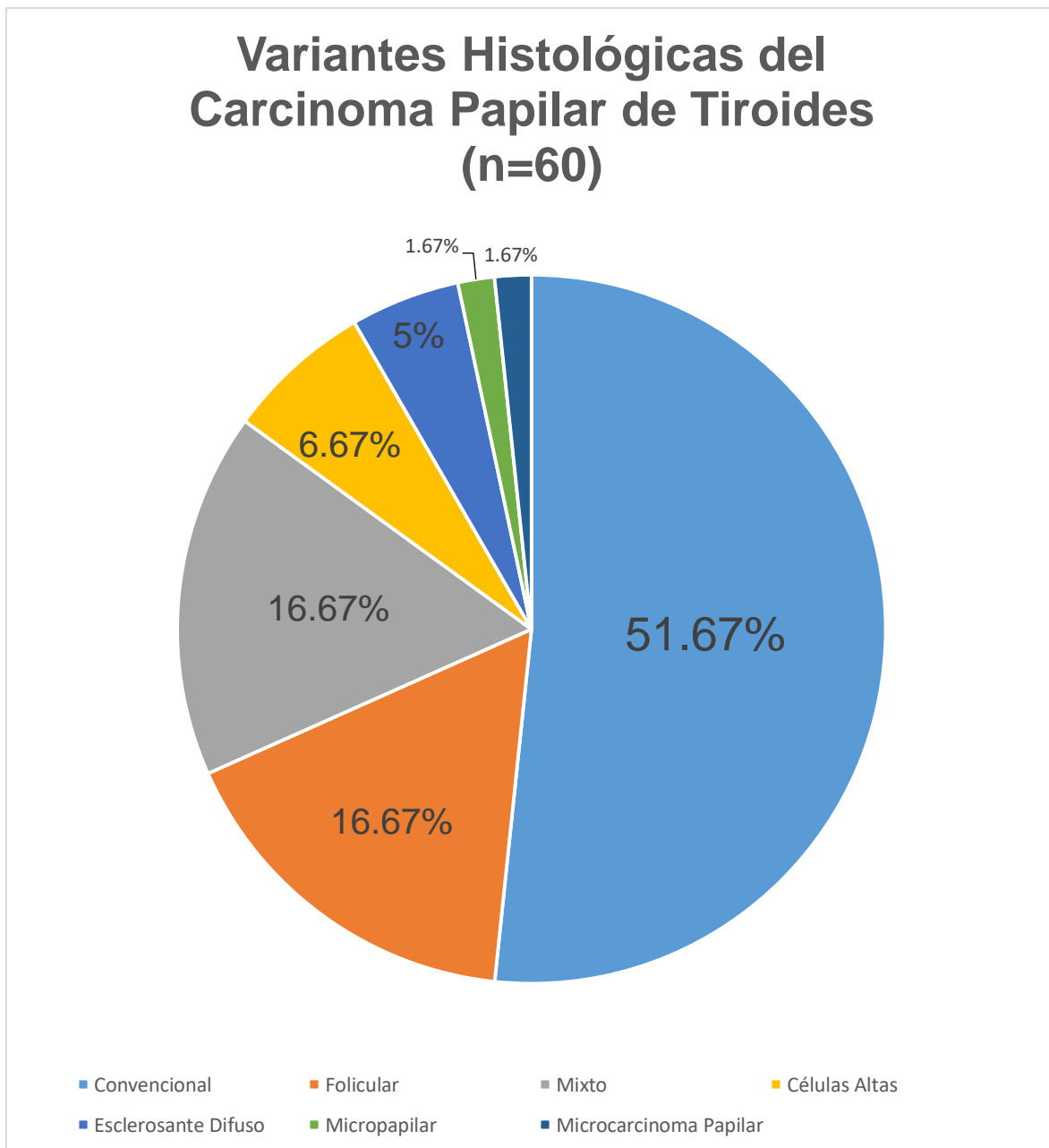
Gráfica 3: Tamaño tumoral, de acuerdo con la AJCC 2018.

Focalidad del Carcinoma Papilar de Tiroides (n=60)



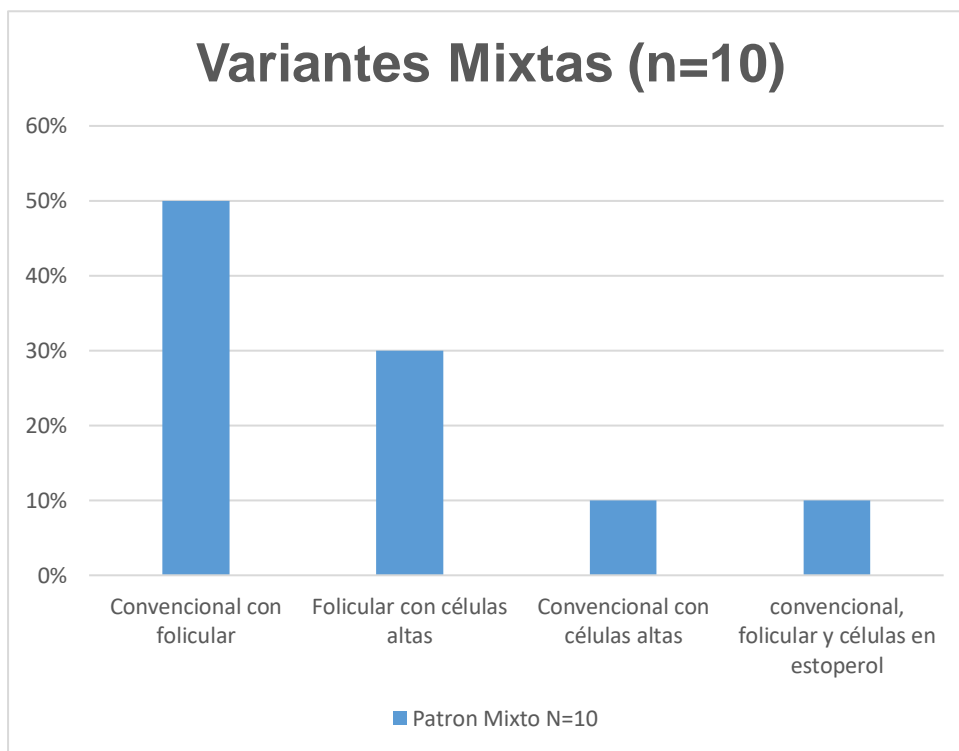
Gráfica 4: Focalidad del carcinoma papilar de tiroides.

Las variantes histológicas del carcinoma papilar de tiroides que se encontraron en el estudio fueron: (n=60) clásico: 31(51.67%), folicular: diez (16.67%), mixto diez casos (16.67%), células altas: cuatro casos (6.67%), esclerosante difuso: tres casos (5%), microcarcinoma papilar: un caso (1.67%) y carcinoma micropapilar: un caso (1.67%) representadas en la gráfica 5.



Gráfica 5. Variantes histológicas

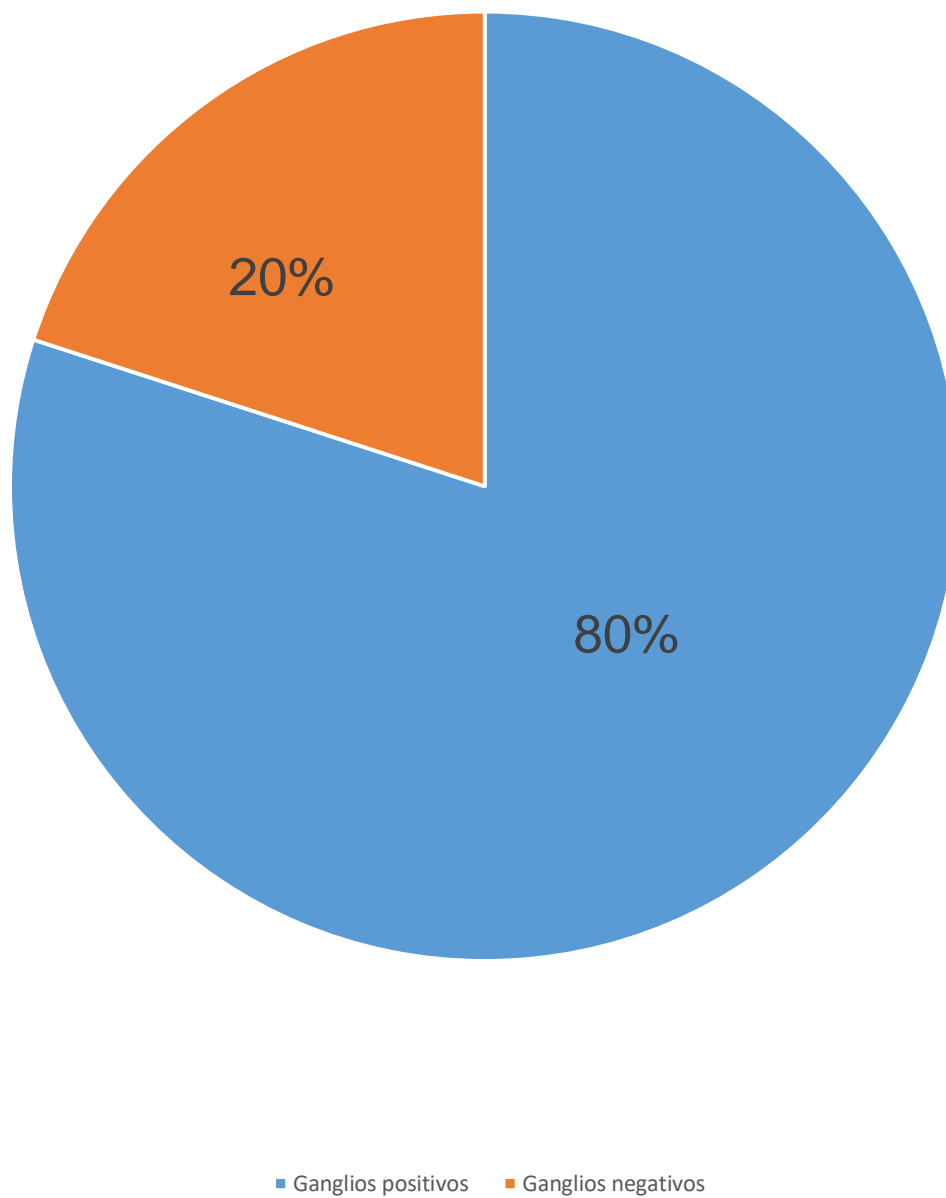
Las variantes mixtas que se encontraron (n=10) estas correspondieron a: variante clásica y folicular en cinco casos (50%), folicular con células altas en tres casos (30%), convencional con células altas en un caso (10%) y convencional, folicular y células en estoperol en un caso (10%), representadas en la gráfica 6.



Gráfica 6. Variantes Mixtas del Carcinoma Papilar de Tiroides

Con relación a los casos estudiados que presentaron metástasis, los resultados obtenidos fueron: (n=60) 48 casos (80%) presentaron metástasis ganglionares y 12 casos (20%) fueron negativos para metástasis, de manera global, se researon 15.6 ganglios linfáticos en promedio y la media de ganglios positivos fue de 7. (Gráfica 7)

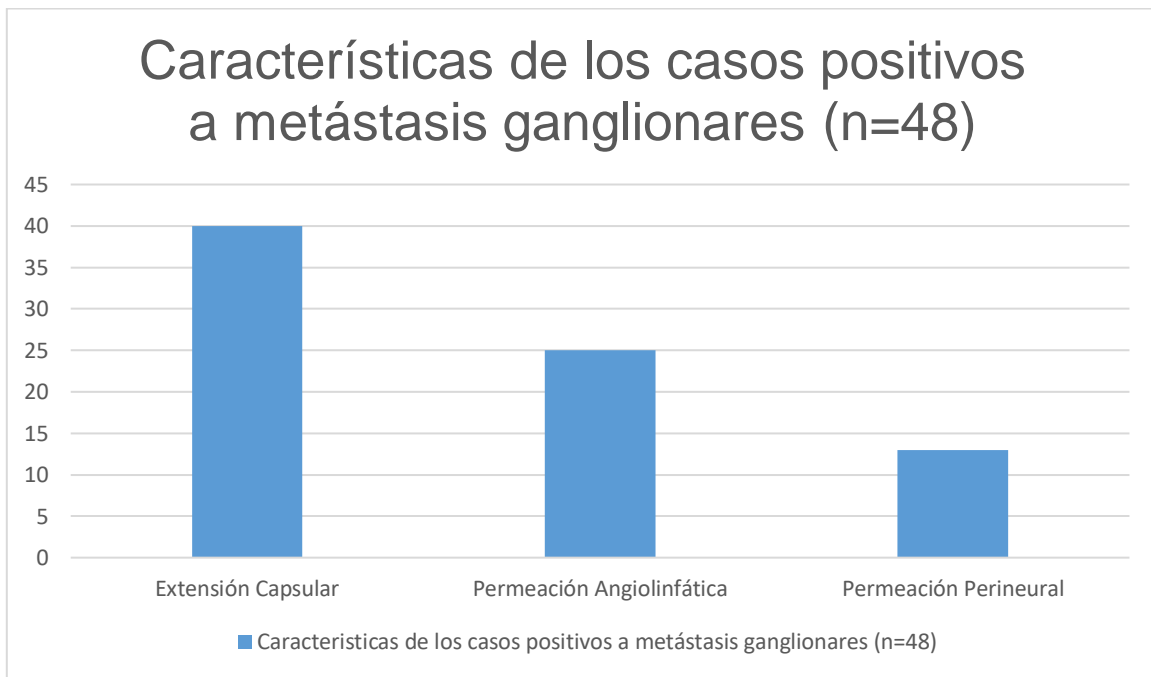
Metástasis Ganglionares (n=60)



Gráfica 7. Metástasis Ganglionares

De los casos con metástasis ganglionares; se encontró (n=48) que en 40 casos se observó extensión extracapsular, 35 casos presentaron permeación angiolinfática y 13 casos invasión perineural.

(Gráfica 8). No se encontró una relación con la invasión y la presencia de ganglios positivos a metástasis (p=0.7).



Gráfica 8. Características de los casos positivos a metástasis ganglionares

Con respecto a los casos sin metástasis ganglionares (n=12), no se observó extensión extracapsular, invasión angiolinfática ni perineural en ninguno de los casos.

La inmunorreacción a B-catenina (figura 1) en los casos con presencia de metástasis ganglionares (n=48) fue de 16 casos (33.35%) para reacción de membrana, 8 casos (16.64%) para tinción citoplasmática y 24 casos (50%) con patrón de reacción en membrana y citoplasma (Gráfica 9). Ninguno de los casos presentó inmunomarcación nuclear.

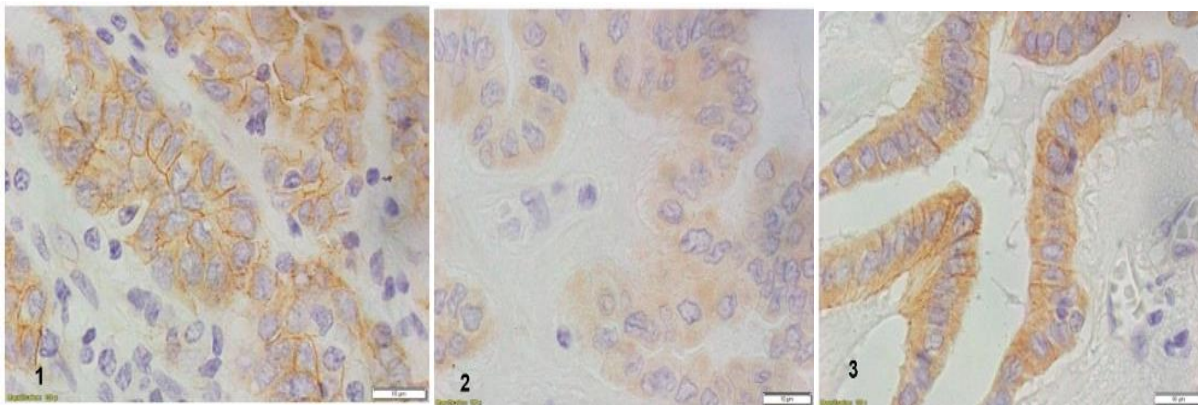
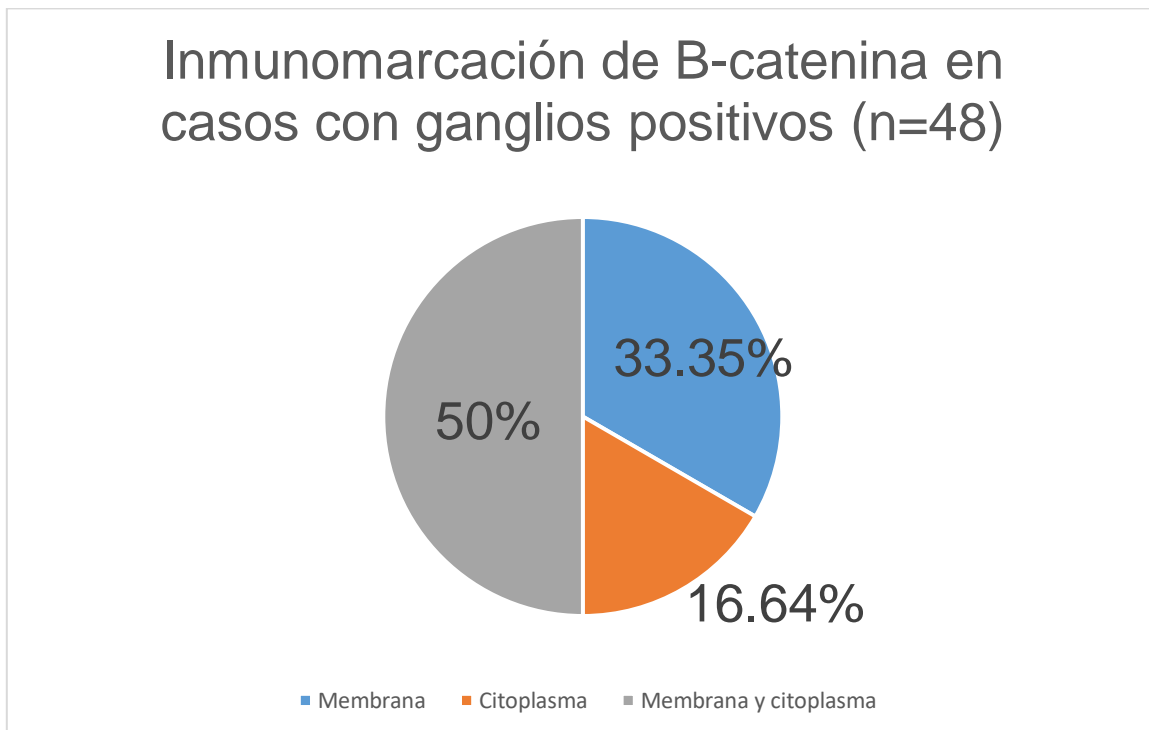
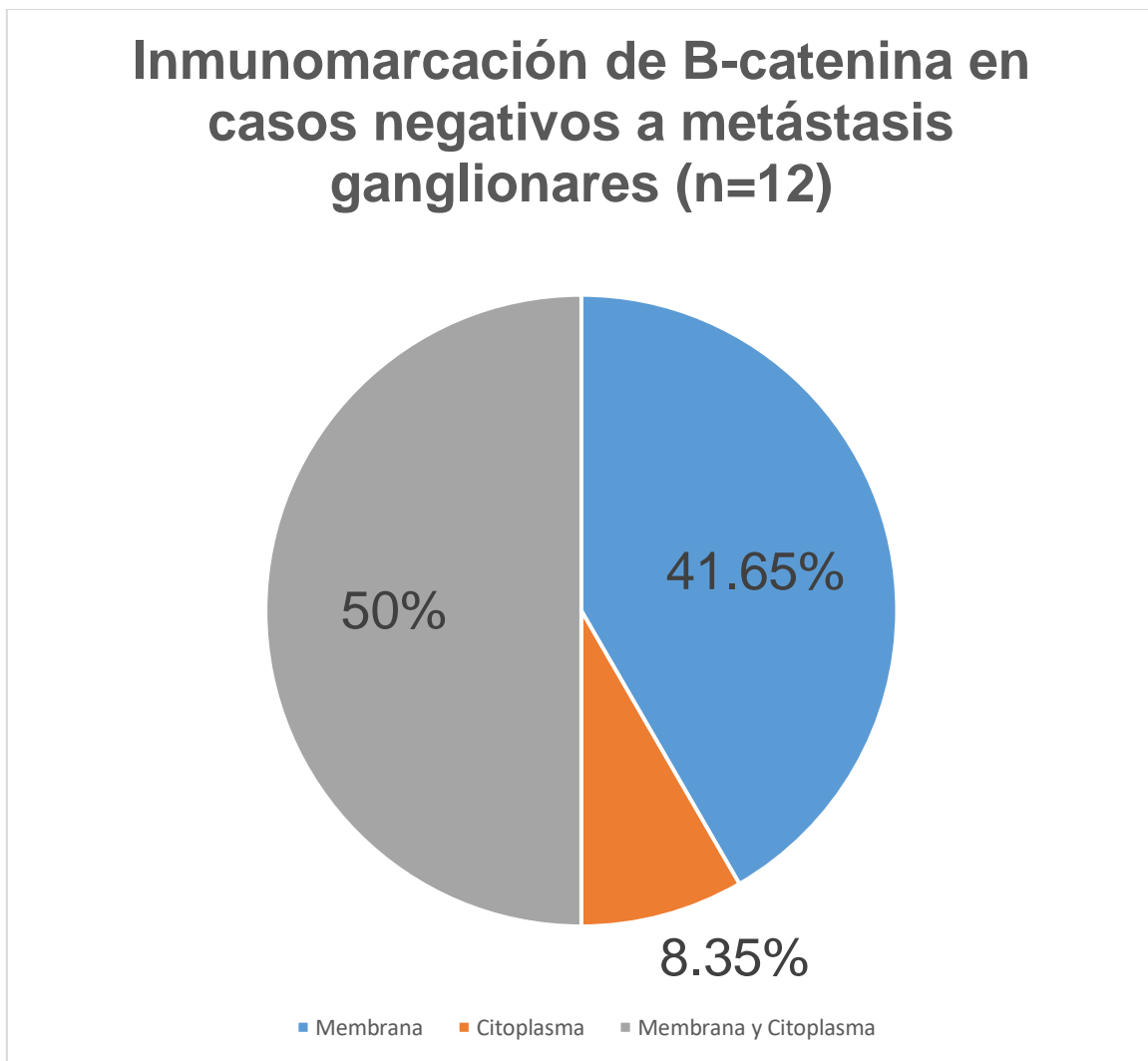


Figura 1: Patrones de inmunorreacción de la B-catenina: 1. De membrana. 2. Citoplasmático. 3. Citoplasmático y de membrana.



Gráfica 9: Inmunomarcación de B-catenina en casos con ganglios positivos.

Con respecto a los casos negativos para metástasis ganglionares (n=12), se encontró que cinco casos (41.65%) tuvieron reacción de membrana, un caso (8.35%) citoplasmática y seis casos (50%) en membrana y citoplasma; no se encontró relación entre las inmunexpresiones de B-catenina y las metástasis ganglionares ($p=0.7$). (Gráfica 10). Ninguno de los casos expresó reacción nuclear.



Gráfica 10: Inmunomarcación de B-catenina en casos negativos a metástasis ganglionares.

Se resume la información de las características de los casos con y sin metástasis en la tabla 2.

Tabla 2. Características de los casos estudiados con presentación de metástasis y sin metástasis ganglionar.		
Características	Metástasis ganglionar (n=48)	Sin metástasis ganglionar. (n=12)
Variante histológica		
Clásico	25 (52.08%)	6 (50%)
Folicular	6 (12.5%)	4(33.34%)
Células Altas	4 (8.34%)	-
Esclerosante Difuso	3 (6.25%)	-
Mixto	10 (20.84%)	-
Microcarcinoma	-	1 (8.35%)
Micropapilar	-	1 (8.35%)
Invasión Extracapsular	40	-
Invasión Angiolinfática	35	-
Invasión Perineural	13	-
Inmunorreacción a B-Catenina		
Membrana	16 (33.35%)	5 (41.65%)
Citoplasma	8 (16.64%)	1 (8.35%)
Membrana y citoplasma	24 (50%)	6 (50%)
Nuclear	0	0

Discusión.

El carcinoma papilar de tiroides es la neoplasia endócrina más frecuente a nivel mundial y la sexta neoplasia con mayor incidencia en nuestro país, el cual se presenta principalmente en el sexo femenino¹, se ha descrito que el 20% de los pacientes tendrá enfermedad recurrente y hasta el 15% tendrán metástasis al momento del diagnóstico². Se ha relacionado a la activación de la vía del *WNT* con factores de mal pronóstico, tales como metástasis ganglionar ya que dicha vía participa de dos formas diferentes, acumulación nuclear de B-catenina y bloqueo de la Ciclina D1, que permite mayor replicación celular y la segunda, relacionada alteraciones en el citoesqueleto de la célula neoplásica, lo cual provoca pérdida de la adhesión y migración epitelio mesenquimal^{11, 15}. La familia de las cadherinas se expresan de manera usual en la membrana citoplasmática de las células foliculares tiroideas y es un indicador de uniones celulares estrechas dependientes de calcio entre célula a célula, esto tiene una función importante la contención de células tumorales; se ha relacionado la pérdida de reacción de membrana de las caderinas con la invasión, progresión y metástasis de neoplasias epiteliales malignas^{27, 28}.

Se han desarrollado diversos estudios comparando la inmunorreacción de la B-catenina en diferentes escenarios, en un estudio realizado por Khalifa²⁹, donde se valoraron 53 casos de neoplasias tiroideas, de las cuales 38 casos correspondieron a carcinoma papilar de tiroides y 15 casos se diagnosticaron como lesiones benignas tiroideas, a ambos grupos se les realizó b-catenina por inmunohistoquímica donde se observó que 39.5% de los carcinomas papilares tiroideos presentaron una pérdida de la expresión de membrana con acumulación en citoplasma, en el estudio, el 76.3% correspondió a la variante clásica, 18.4% variante folicular y 5.3% micropapilar. El estudio demostró una relación entre el carcinoma papilar de tiroides y la acumulación citoplasmática ($p < 0.05$), en el estudio realizado, la variante histológica predominante fue la clásica, en 52.08% en los casos con metástasis ganglionares y 50% en los casos sin metástasis ganglionares, tales casos demostraron acumulación citoplasmática en el 16.64% y 8.34% respectivamente, lo cual no fue significativo ($p: 0.7$).

Ziari³⁰ en su estudio, evaluó 63 casos de carcinoma papilar de tiroides, donde también la variante más frecuente fue la clásica (73%) seguida de la folicular (11%), el 77.8% se denominaron como carcinomas bien diferenciados; ellos encontraron que existe una relación entre la pérdida de reacción de membrana y acumulación citoplasmática de la B-catenina con mayor recurrencia tumoral ($p= 0.008$), con mayor número de ganglios linfáticos positivos a malignidad ($p= 0.003$), grado de diferenciación ($p= 0.005$) y metástasis a distancia ($p= 0.001$), en comparación con el estudio realizado, no se encontró una relación con la pérdida de reacción membranal con metástasis ganglionares. Cabe mencionar que los casos estudiados fueron carcinomas de bien a moderadamente diferenciados, en el estudio efectuado por Ziari, no se obtuvieron casos que mostraran tinción nuclear.

Ishigaki¹⁹, estudio 132 casos de enfermedad tiroidea, de los cuales 78 fueron carcinomas papilares de tiroides, 20 carcinomas foliculares y 34 adenomas foliculares, para el desarrollo del estudio, realizaron cultivos celulares para posterior realizar B-catenina por inmunohistoquímica, ellos observaron que en el 91% de las células cultivadas de los adenomas foliculares, tuvieron reacción de membrana en comparación con el 67% de los carcinomas papilares de tiroides que mostraron acumulación citoplasmática-nuclear de B-catenina, aunque no encontraron una relación con el desarrollo de metástasis ganglionares ($p=0.5$). Similar al estudio realizado, donde a pesar que no hubo reacción nuclear, la acumulación citoplasmática no se relaciona con el desarrollo de metástasis ganglionares ($p= 0.7$).

Limitaciones y nuevas perspectivas.

Utilización de carcinomas papilares de alto grado histológico, ya que en el estudio se usaron diferentes tipos histológicos.

Uso de técnicas moleculares, para corroborar la existencia o no de mutaciones en el gen de la B-catenina.

En nuevos estudios, la realización de la asociación de b-catenina y ciclina D1 podría arrojar una perspectiva diferente, ya que la ciclina D1 forma parte importante de la vía WNT y en la replicación de la célula tumoral.

Conclusiones:

No se observó acumulación nuclear de B-catenina en los casos estudiados, por lo que no se puede usar como un elemento pronóstico de metástasis en la población estudiada.

Por Inmunohistoquímica no se pudo determinar la presencia de alteración en el gen de la B-catenina.

Referencias Bibliográficas.

- 1- Tate G. Merissa, Marzo R. Iris et al, Caracterización clínica, patológica y epidemiológica de pacientes con carcinoma diferenciado de tiroides. MEDISAN 2019;23(4).p:692-701
- 2- Guía de Práctica Clínica: Diagnóstico y Tratamiento del tumor maligno de tiroides, Instituto Mexicano del Seguro Social: 166 09
- 3- Song S. Young, Genomic Characterization of Differentiated Thyroid Carcinoma. Endocrinol Metab 2019; 34(1).p:1-10
- 4- Dralle H, Machens A, Basa J, Fatourechí V, Franceschi S, Hay ID, et al. Follicular cell-derived thyroid cancer. Nat Rev Dis Primers 2015;1:15077.
- 5- Delgado D. Dahiana, Generalidades del cáncer de tiroides, Rev Med de Cost rica y centroam 2016; 620(73). p: 633 - 636
- 6- Tallini G. Giordano T. Capítulo 8: Glándula Tiroides. En: Goldblum R. Jonh, Lamps W. Laura et al, Rosai y Ackerman: Patología Quirúrgica, décimo primera edición, Medellín Colombia, editorail AMOLCA 2019, p: 278.354.
- 7- Rosai J. Chapter 2: Tumours of the Thyroid Gand. En: Lloyd V. Ricardo, Osamura Y. Robert et al, Who Classification of Tumours of Endocrine Organs, cuarta edición, Lyon France 2017, p: 66-143.
- 8- College of American Pathologist, Protocol for the Examination of Specimens from Patients with Carcinomas of the Thyroid Gland, 2021.
- 9- Xie Jing, Fan Youben, et al. Molecular Mechanism in Differentiated Thyroid Cancer. Front in Biosc 2016; 21(1). p: 119-129.
- 10- Abdulla M. Junit S. Papillary Thyroid Cancer: Genetic Alterations and Molecular Biomarker Investigations, Int J Med Sci 2019; 16(3). p: 450-460.
- 11- Maitra A. Sistema Endócrino, En: Kumar V, Abbas A. et al, Robbins y Cotran: Patología Estructural y Funcional, Décima Edición, Madrid España, Editorial Elsevier 2021. p: 1066-1131.
- 12- Penna C. Gustavo, Vaismann Fernanda, et al. Molecular Markers Involved in Tumorigenesis of Thyroid Carcinoma: Focus on Aggressive Histotypes. Citog gen Res;2017 (150)pp:194-207
- 13- Vasko V. Vasyl, Saji Motoyasu. Molecular Mechanism Involved in

- Differentiated Thyroid Cancer Invasion and Metastasis, *Curr Opin in Onc* 2007; 19(1) p: 11-17.
- 14- Semba Shuho, Kusumi Ryoko et al. Nuclear Accumulation of B-Catenin in Human Endocrine Tumors: Association with ki-67 (MIB-1) Proliferative Activity. *Clin Res*, 2000; 11(3) pp: 243-250
 - 15- Colás-Algora N. Millán J. How Many Cadherins Do Human Endotelial Cells Express? *Mol. Life Sci* 2019; 76(7) p: 1299-1317.
 - 16- Karim Z. et al, The Significance of the Wnt Pathway in the Pathology of Human Cancers, *Pathology* 2004, 36(2): p:120-128.
 - 17- Ticiak B. Pruzsynska I. et al, Wnt Signaling Pathway in Development and Cancer. *J Physiol Pharmacol* 2018; 69(2) p: 185-196.
 - 18- Morin P, Sparks A, et al. Activation of Beta-catenin-TCF signaling in colon cancer by mutations in beta-catenin or APC. *Science* 1997; 275(5307) pp: 1787-1790.
 - 19- Sastre-Perona A. Santisteban P. Rol of the Wnt pathway in thyroid cancer. *Frontiers In* 2012; 21(3) p: 1-10
 - 20- Ishigaki K. Namba H. Aberrant Localization of B-Catenin Correlates with Overexpression of Its Target Gene in Human Papillary Thyroid Cancer, *J. Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(7) p: 3433-3440.
 - 21- Dencic T. Bartolome A. High expression and localization of β -catenin and epidermal growth factor receptor identify high risk papillary thyroid carcinoma patients. *Exp Mol Pathol* 2018; 105(2) p: 181-189
 - 22- Tsiambas Evangelios, Ragas Vasileios, et al. E-cadherin/a-catenin desregulated co-expression in thyroid carcinoma base on tissue microarray digital image analysis. *JBUON* 2016; 21(2): pp 450-455.
 - 23- Changlin Zhou, Chunsheng Yang, et al. E-cadherin expression is associated with susceptibility and clinicopathological characteristics of thyroid cancer: A PRISMA-compliant meta-analysis. *MEDICINE* 2019; 98(30): pp 1-11.
 - 24- Rezk S. B-Catenin Expression in Thyroid Follicular Lesions: Potential Role in Nuclear Envelope Changes in Papillary Carcinomas, *Endoc Path* 2004; 15(4): 329-337.

- 25- Aguilera, O., Fraga, M. et al. Epigenetic inactivation of the Wnt antagonist DICKKOPF-1 (DKK-1) gene in human colorectal cancer. *Oncogene* 2006; 25(1): pp: 4116–4121
- 26- Cho S. Lee E. Dickkopf-1 inhibits thyroid cancer cell survival and migration through regulation of b-catenin/E-cadherin signaling. *Mol Cell Endocrinol* 2013; 366(1). p 90-98
- 27- Hirohashi S, Kanai Y. Cell adhesion system and human cancer morphogenesis. *Cancer Sci.* 2003;94(7):575-581.
- 28- Ivanova K. Ananiev J. et al. Expression of E-Cadherin/Beta-Catenin in Epithelial Carcinomas of the Thyroid Gland. *Open Access Maced J Med Sci.* 2017; 5(2). p:155-159.
- 29- Khalifa E. B-catenin Immunohistochemical expression in papillary thyroid cancer versus benign thyroid lesion in a sample of Iraqi patients. *Texas Journal of Medical Science* 2022, volume 6. p: 1-8.
- 30- Ziari k. Sanjari M. et al. Immunohistochemical Evaluation of B-catenin Marker in Papillary Thyroid Cancer: Clinicopathologic Significance. *Iranian J Pathol,* 2018; 12(2). p: 151-156.