ANÁLISIS GENÉTICO DEL CARCINOMA DE TIROIDES EN UNA MUESTRA DE PACIENTES COLOMBIANOS

ANA PATRICIA ESTRADA FLOREZ

Trabajo de grado como requisito parcial para optar al título de Magíster en Ciencias Biológicas

Directora
MARÍA MAGDALENA ECHEVERRY DE POLANCO
Doctora en Genética

Codirector
LUIS GUILLERMO CARVAJAL CARMONA
PhD. Genética

UNIVERSIDAD DEL TOLIMA
FACULTAD DE CIENCIAS
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
IBAGUÉ - TOLIMA
2015

FACULTAD DE CIENCIAS
PROGRAMA MAESTRÍA CIENCIAS BIOLÓGICAS
FORMATO DE EVALUACIÓN TRABAJO DE GRADO

TITULO DEL TRABAJO: ANÁLISIS GENÉTICO DEL CARCINOMA DE TIROIDES EN UNA MUESTRA DE PACIENTES COLOMBIANOS.

AUTOR: ANA PATRICIA ESTRADA FLÓREZ **Código:** 093800012012

DIRECTOR: MARÍA MAGDALENA ECHEVERRY DE POLANCO

JURADOS: MARINA ORDOÑEZ VARELA.
LUZ ANGELA BETANCOURT

CALIFICACIÓN: 5.0

__X__ APROBADO ____REPROBADO

OBSERVACIONES Marina Ordoñez: Resalto la calidad y aporte científico de esta investigación que hace posible el sometimiento para su publicación. En la sustentación la estudiante demostró tener una excelente capacidad de síntesis y manejo del tema. Si está habilidad lo hubiese aplicado al elaborar el documento estoy segura que este hubiese sido más concreto y menos extenso.

OBSERVACIONES Luz Ángela Betancourt: Es un trabajo serio, con fundamentos teóricos y prácticos sólidos en el que se ve reflejado el alto nivel de exigencia académica que demandó del estudiante para su desarrollo, así como también el gran apoyo de sus directores y en conjunto del grupo de investigación. Esta tesis va más allá de lo esperado para una tesis de maestría.

Quiero señalar con especial énfasis la capacidad que presenta la estudiante en la comunicación oral y la capacidad de responder acertadamente, con el nivel de profundidad requerida, y con tranquilidad las preguntas realizadas al final de su presentación. Por otra parte, aplaudo el compromiso del grupo porque los estudiantes tengan una formación en la que, además, se involucre la experiencia internacional en las pasantías, y la comunicación científica a través de artículos y posters, antes de que los estudiantes culminen sus estudios de maestría, procesos que se llevaron a cabo durante el desarrollo de esta tesis, que mostraron como parte de sus resultados y logros.

Para ser una tesis a nivel de maestría es un excelente trabajo, queda mucho camino por recorrer; el proceso que nos lleva a subir otro escalón en la vida académica nos enseña un poco más para no dejar de crecer nunca. Felicitaciones!

Espero que las observaciones que durante la presentación de tesis se le hicieron a la estudiante sean tenidas en cuenta para trabajos futuros.

FIRMAS

Jurado 1

Jurado 2

Director del trabajo

Director del programa

Ciudad y fecha: Ibagué 24/07/2015

Comprendo que somos como aves de paso que se pierden en el horizonte... en el tiempo… pero no puedo evitar preguntarme cómo sería en el futuro, la inmensa felicidad que lo embargaría ver crecer a sus hijos, disfrutar de su familia y sus logros, quisiera poder sentir esa seguridad de encontrarlo cada día, siempre dispuesto a dar un buen consejo, enseñar y aprender. Tengo la certeza que sería un hombre de mucho éxito académico y cosecharía muchas metas, pero sobre todo, seguiría siendo un ser humano intachable, conservaría el mismo corazón sencillo y los ojos de sus estudiantes seguirían brillando, como los de las mosquitas vírgenes, al escuchar sus clases de genética, maravillados por la simplicidad del mundo visto a través de sus palabras. Intenté agradecer cada vez que me ayudó y procuré que supiera lo mucho que lo admiro, pero por haberme procurado un buen camino antes de apartarse de mi ruta, se que nunca... nunca podré agradecer lo suficiente.

Es una parte de mí que nunca se ira, gracias infinitas a mi maestro y gran amigo, Rodrigo Prieto Sánchez.



AGRADECIMIENTOS

A mis padres, Lola Flórez y Álvaro Estrada y mis hermanos, Sandra y Luis Carlos, por su amor y apoyo incondicional.

A Boris Villanueva, Yulieth Castillo, Diego Martínez, Rubén Jurado, por su cariño, compresión y apoyo en los buenos y malos ratos.

Al grupo de Citogenética de la Universidad del Tolima por ser mi segundo hogar, especialmente los doctores Rodrigo Prieto Sánchez, María Magdalena Echeverry de Polanco y Mabel Bohórquez.

Al Dr. Luis Guillermo Carvajal y su grupo de investigación en la Universidad de California-Davis por acogerme y brindarme todas las facilidades para trabajar en las fases de laboratorio y análisis.

A las Doctoras Marina Ordoñez y Luz Ángela Betancourt por su colaboración en la evaluación y sus amables aportes.

A la oficina de Investigaciones de la Universidad del Tolima por la financiación del macro-proyecto en el cual está enmarcado este trabajo.

A la Vicerrectoría Académica y la Oficina de Relaciones Internacionales de la Universidad del Tolima por la financiación de mi viaje de pasantía.

ABREVIATURAS

La mayoría de las abreviaturas que aparecen en el presente trabajo son las registradas en la lengua inglésa. No obstante en la presente lista se adiciona su respectiva traducción al castellano.

AJCC *(American Joint Committee on Cancer):* Comité Conjunto Estadounidense sobre el Cáncer.
ATC *(Anaplastic thyroid cancer):* Carcinoma anaplásico de tiroides
BACAF*:* Biopsia por aspiración con aguja fina.
BRAF *(v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B)*: V-raf homólogo B1 del oncogén viral del sarcoma murino.
BRMS1L *(Breast Cancer Metastasis Supressor 1-like):* Supresor de metástasis en cáncer de seno 1.
CT: Carcinoma de tiroides.
CTCF *(CCCTC-blinding factor)*: Factor regulador de la transcripción.
DAPk *(Death associated protein kinase): Proteinquinasa asociada a muerte celular.*
ERK1/2 *(Extracelular signal-regulated kinases 1 and 2)*: Quinasa regulada por señales extracelulares 1 y 2.
FOXE1 *(Forkhead box protein E1) o TTF2 (Thyroid transcription factor 2):* Factor de transcripción especifico de la tiroides 2.
FRR *(Familial relative risk):* Riesgo relativo familiar.
FTC *(Follicular thyroid cancer):* Carcinoma folicular de tiroides.
FVPTC *(Follicular variant - papillary thyroid carcinoma):* Carcinoma papilar de tiroides – variante folicular.
GWAs *(Genome Wide Association Studies):* Estudios de asociación de genomas completos.
HDAC *(Histone deacetylase):* histona-deacetilasas.
HRAS *(Harvey Rat Sarcoma Viral Oncogene):* Oncogén viral del sarcoma de Harvey en ratas.

KRAS *(Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene):* Homólogo del oncogén viral del sarcoma 2 de la rata Kirsten.

lncRNAs *(Long non-coding RNAs)*: ARN largos no codificantes.

MAPK *(Mitogen-activated protein kinase):* Proteínas quinasas activadas por mitógenos.

MEK1/2 *(dual-specificity protein kinases)*: quinasa específica dual 1 y 2.

MERTK *(Tyrosine-protein kinase Mer precursor):* Receptor tirosina quinasa MER.

NIS *(N-Iodosuccinimide):* N-yodo-succinimida.

NMTC *(Non-medullary thyroid carcinoma):* Carcinoma de tiroides no medular

NTRK1 *(Neurotrophic tyrosine kinase receptor type 1):* Protooncogén Receptor Neurotrófico de Tirosina Quinasa Tipo 1.

NKX2-1 *(NK2 homeobox 1):* Gen homeótico NK2-1.

NRAS *(Neuroblastoma Rat Sarcoma Viral Oncogene):* Homólogo del oncogén viral **RAS** del neuroblastoma.

PCR *(Polymerase chain reaction):* Reacción en cadena de la polimerasa.

PTEN *(Phosphatase and tensin homolog):* Homólogo a los genes de la fosfatasa y de la tensina.

PTC *(Papillary thyroid carcinoma):* Carcinoma papilar de tiroides

PTCSC3 *(Papillary Thyroid Carcinoma Susceptibility Candidate 3)*: Candidato 3 de Susceptibilidad al Carcinoma Papilar de Tiroides.

PAX8 *(Paired box transcription factor 8)*: Factor de transcripción pareado del grupo 2 Box-8.

PPARγ *(Peroxisome proliferator-activated receptor gamma):* receptor de peroxisoma-proliferador-activado gamma.

RAF (Murine leukemia viral oncogene): oncogén viral de la leucemia murina.

RARβ2 *(Retinoic acid receptor β2):* Receptor de acido retinoico β2.

RET *(Proto-oncogene tyrosine-protein kinase receptor REarranged during Transfection):* Proto-oncogen que codifica el receptor tirosina quinasa RET.

RFU *(Relative fluorescent units):* Unidades de fluorescencia relativa.

RNAi *(RNA interference):* ARN interferente

SNPs *(Single Nucleotide Polymorphisms):* Polimorfismos de nucleótido único.

SLC5A8 *(Sodium-coupled monocarboxylate transporter 1):* cotransportador sodio/monocarboxilatos 1.

TIMP3 *(Tissue Inhibitor Of Metalloproteinases 3):* gen inhibidor tisular de la metaloproteinasa-3.

TC: Tomografía computarizada.

Tg: Tiroglobulina.

TPO *(thyroperoxidase):* Yoduro peroxidasa.

TRK *(Tyrosine kinase receptor)*: Receptor de la tirosina quinasa.

UICC *(International Union Against Cancer):* Unión Internacional Contra el Cáncer.

UTR *(Untranslated Region):* Región no traducida.

USF1/USF2 *(Upstream Stimulatory Transcription Factor 1 and 2):* Factores estimulantes de la transcripción corriente arriba 1 y 2.

VPN: Valor predictivo Negativo.

VPP**:** Valor predictivo positivo.

XRCC *(X-ray repair cross-complementing protein):* Proteína de reparación del daño de rayos X en ADN por complemento-cruzado.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN 20

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 22

2. JUSTIFICACIÓN 24

3. OBJETIVOS 26
3.1 OBJETIVO GENERAL 26
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 26

4. HIPÓTESIS 27

5. MARCO TERICO Y ANTECEDENTES 28
5.1 LA GLÁNDULA TIROIDES 28
5.2 CARCINOMA DE TIROIDES 29
5.2.1 Carcinoma Papilar de Tiroides (PTC) 30
5.2.2 Carcinoma Folicular de Tiroides (FTC) 33
5.2.3 Carcinoma Anaplásico o indiferenciado de tiroides (ATC) 33
5.2.4 Carcinoma Pobremente Diferenciado de Tiroides (PDTC) 34
5.2.5 Cáncer de tiroides del epitelio folicular asociado a síndromes hereditarios 34
5.2.6 Cáncer medular de Tiroides (MTC) 35
5.3 ESTADIFICACIÓN 35
5.4 EPIGENETICA Y CANCER DE TIROIDES 38
5.5 FACTORES DE RIESGO 40
5.6 TIPIFICACIÓN DE POLIMORFISMOS RELACIONADOS CON LA SUSCEPTIBILIDAD AL CARCINOMA DE TIROIDES 42
5.7 IMPORTANCIA DE LAS MUTACIONES DEL GEN BRAF EN EL CARCINOMA DE TIROIDES 45

6. METODOLOGÍA 47
6.1. OBTENCIÓN DE INFORMACIÓN BÁSICA Y MUESTRAS 47
6.1.1 Aprobación ética..... 47
6.1.2 Manejo de la información. 47
6.1.3 Toma de Muestras de sangre..... 48
6.1.4. Muestras del tumor..... 48
6.2. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS EN LABORATORIO 49
6.2.1. Extracción y cuantificación de ADN..... 49
6.2.2. Genotipificación de SNPs..... 51
6.2.3. Amplificación y análisis de secuencias del gen *BRAF* 54
6.3. ANÁLISIS ESTADISTICOS**.**..... 57

7. RESULTADOS Y DISCUSION 59
7.1. CARACTERISTICAS DE LA MUESTRA. 59
7.2. ANTECEDENTES FAMILIARES DE ADENOCARCINOMAS 77
7.3. CARACTERISTICAS DEL TUMOR..... 81
7.4. ANÁLISIS MOLECULARES 89
7.4.1. Polimorfismos y riesgo de cáncer de tiroides. 89
7.4.2. Polimorfismos combinados y riesgo de cáncer papilar de tiroides. 107
7.4.3. Modelo de regresión logística para el riesgo de padecer cáncer de tiroides según factores de riesgo ambientales y genéticos. 115
7.4.4. Mutación V600E del gen *BRAF*..... 117

9. CONCLUSIONES 126

RECOMENDACIONES 127

REFERENCIAS

ANEXOS

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Porcentaje de Pacientes según género y tipo de carcinoma. 59
Figura 2. Distribución de los casos con carcinoma de tiroides por tipo histológico y por edad. 60
Figura 3. Porcentaje de casos y controles según edad del primer embarazo. 70
Figura 4. Distribución del porcentaje de pacientes según el tamaño del tumor y la edad. 82
Figura 5. Discriminación alélica para el SNP rs966423 (2q35) con sistema de genotipificación KASP. 90
Figura 6. Distribución del número de alelos de riesgo y el porcentaje de riesgo acumulado entre casos y controles para el análisis no ponderado. 111
Figura 7. Distribución del número de alelos y el riesgo (OR con su respectivo IC del 95%) para el análisis no ponderado. 112
Figura 8. Distribución del número de alelos de riesgo y el porcentaje de riesgo acumulado entre casos y controles para el análisis ponderado. 113
Figura 9. Distribución del número de alelos y el riesgo (OR con su respectivo IC del 95%) para el análisis ponderado. 114
Figura 10. Evaluación del poder discriminativo (A) no ponderado y (B) ponderado mediante Curvas ROC y (C) área bajo la curva (AUC). 115

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Variantes histológicas del carcinoma papilar de tiroides. 32
Tabla 2. Sistema de clasificación TNM para cáncer de tiroides. 36
Tabla 3. Clasificación de estados del carcinoma de tiroides. 37
Tabla 4. Estratificación de los pacientes según el riesgo de recaída. 38
Tabla 5. Secuencias de los iniciadores diseñados para la detección aleloespecífica de los SNPs. 53
Tabla 6. Iniciadores para el gen *BRAF.* 54
Tabla 7. Protocolos de amplificación del gen BRAF a partir de ADN obtenido de tejido tumoral. 55
Tabla 8. Condiciones de amplificación del gen BRAF. 56
Tabla 9. Análisis estadístico del estrato socioeconómico y nivel educativo. 62
Tabla 10. Análisis estadístico del consumo y exposición a cigarrillo. 65
Tabla 11. Análisis estadístico de la edad de la menarquia en casos y controles Porcentaje de controles y pacientes, según la edad de la menarquia. 68
Tabla 12. Planificación hormonal y relación con el riesgo de padecer cáncer papilar de tiroides. 72
Tabla 13. Menopausia y relación con el riesgo de padecer cáncer de tiroides. 75
Tabla 14. Menopausia y relación con el riesgo de padecer cáncer papilar de tiroides. 76
Tabla 15. Cálculo del riesgo en pacientes con o sin antecedentes familiares de cáncer, según edad de diagnóstico y género. 78
Tabla 16. Cálculo del riesgo en pacientes que reportan otra enfermedad. 80
Tabla 17. Comparación del riesgo según edad de diagnóstico y género respecto al compromiso capsular, invasión vascular, invasión de ganglios y extensión extra-tiroidea. 83
Tabla 18. Comparación de la clasificación en la escala TNM en pacientes con PTC según la edad de diagnóstico y el género. 87
Tabla 19. Casos de PTC con recurrencia o metástasis y asociación con el riesgo respecto a la edad y género. 88

Tabla 20. Asociación de los SNPs tipificados y el riesgo de padecer cáncer papilar y folicular de tiroides. 92
Tabla 21. Riesgo de padecer carcinoma no-medular de tiroides bajo tres modelos de asociación. 94
Tabla 22. Comparación de la localización del tumor respecto a los SNPs de riesgo. 101
Tabla 23. Comparación del tamaño del tumor respecto a los SNPs de riesgo. 102
Tabla 24. Comparación del riesgo de presentar compromiso capsular, invasión extratiroidea, vascular y de ganglios, respecto los SNPs tipificados. 104
Tabla 25. Comparación de la asociación de los SNPs con el riesgo de carcinoma de tiroides, según la edad de diagnóstico y la presencia de antecedentes familiares de cáncer. 106
Tabla 26. Análisis del desequilibrio de ligamiento en los cromosomas 9q22 y 14q13.108
Tabla 27. Combinación de la asociación para los SNPs del cromosoma 9q22.23 y su asociación con el riesgo de cáncer de tiroides. 109
Tabla 28. Combinación de genotipos para los SNPs del cromosoma 14q13.3 y su asociación con el riesgo de cáncer de tiroides. 110
Tabla 29. Regresión logística para variables ambientales y genéticas. 116
Tabla 30. Comparación de la presencia de la mutación BRAF en tejidos de PTC respecto al género y la edad de diagnóstico. 118
Tabla 31. Comparación de la presencia de la mutación BRAF en tejidos de PTC respecto a las características del tumor. 120
Tabla 32. Estadificación de las muestras de PTC con y sin la mutación V600E de BRAF. 123

LISTA DE ANEXOS

Anexo A. Formato de autorización para Repositorio Institucional 165
Anexo B. Aprobaciones éticas y convenios con instituciones para el desarrollo del proyecto. 168
Anexo C. Carta de presentación del programa. 169
Anexo D. Formato del consentimiento informado y entrevista de controles. 170
Anexo E. Formato del consentimiento informado y entrevista de pacientes. 173
Anexo F. Estrato socio-económico de controles y casos según el tipo histológico y la edad de diagnóstico (mayor o menor de 45 años). 181
Anexo G. Nivel de escolaridad de controles y casos según el tipo histológico y la edad (menor de 45 años o mayor o igual a 45 años). 182
Anexo H. Frecuencia de consumo de bebidas alcohólicas en controles y pacientes (A) y análisis estadístico (B), según el tipo histológico y la edad (menor de 45 años o mayor o igual a 45 años). 183
Anexo I. Consumo y exposición a tabaco en controles y pacientes, según el tipo histológico y la edad (menor de 45 años o mayor o igual a 45 años). 185
Anexo J. Porcentaje de controles y pacientes, según la edad de la menarquia. 186
Anexo K. Controles y pacientes según el número de embarazos llegados a termino, la edad del primer embarazo y la lactancia. 187
Anexo L. Análisis estadístico de la edad del primer embarazo (A) y el número de embarazos (B) en casos y controles y su relación con el riesgo de CT. 188
Anexo M. Lactancia y relación con el riesgo de padecer cáncer papilar de tiroides... 190
Anexo N. Controles y pacientes según el tipo y edad de la menopausia. 191
Anexo O. Distribución del número y porcentaje de pacientes, según el tipo histológico, la edad de diagnóstico y los antecedentes familiares de cáncer. 192
Anexo P. Distribución de los pacientes según la localización del tumor (A) y Análisis estadístico (B). 193
Anexo Q. Distribución de los pacientes de acuerdo al tamaño del tumor según tipo histológico, edad y género (A) y Análisis estadístico (B). 195

Anexo R. Distribución de los pacientes según el compromiso capsular, invasión vascular invasión de ganglios y extensión extra-tiroidea. 197
Anexo S. Distribución de pacientes según la clasificación en escala TNM. 198
Anexo T. Distribución de pacientes según el grado de diferenciación y estado del tumor. 199
Anexo U. Equilibrio de Hardy Weinberg para todos los SNPs..... 201
Anexo V. Corrección por origen geográfico. 202
Anexo W. Riesgo de padecer carcinoma papilar o folicular de tiroides. 203
Anexo X. Casos tipificados para la mutación V600E de BRAF según la presencia de antecedentes familiares de cáncer en primer y segundo grado (A) y los 6 polimorfismos de riesgo (B). 204

RESUMEN

El carcinoma de tiroides (CT) es la neoplasia más común del sistema endocrino y su incidencia en Colombia se ha incrementado en los últimos años. El cáncer es una enfermedad genética, esporádica o hereditaria, que puede desencadenarse por interacción de factores genéticos y ambientales.

Diversos estudios epidemiológicos, han mostrado una relación entre el riesgo de padecer CT y el impacto de factores externos como: el estrato socioeconómico, el nivel educativo y el consumo de alcohol y cigarrillo. De otra parte, dado que existe una mayor incidencia en el género femenino, se ha planteado la posibilidad de encontrar diferencias de tipo hormonal, entre casos y controles sanos, evaluando factores como la planificación hormonal, la edad de la menarquia y menopausia, el número de hijos nacidos vivos y la lactancia.

Teniendo en cuenta lo anterior, en el presente estudio, se analizaron dichos factores a partir de las entrevistas de 253 pacientes, pareados por género y lugar de procedencia, con controles sanos, mayores de 50 años y sin antecedentes familiares de cáncer en primer y segundo grado de consanguineidad. Se evidenció una mayor ocurrencia de cáncer de tiroides en las mujeres que en los hombres, con una relación de 8:1; el carcinoma papilar fue el más frecuente (93,5%), seguido por el folicular (5,9%) y medular (<1%). La edad promedio de diagnóstico fue de 46 años en casos con carcinoma papilar de tiroides (PTC, por sus siglas en inglés), y de 45 años en hombres y 60 años en mujeres con carcinoma folicular de tiroides (FTC, por sus siglas en inglés).

El análisis del riesgo mediante el cálculo de Odds ratio (OR), reveló que existe un incremento significativo en el riesgo de padecer la enfermedad en pacientes de estrato socioeconómico medio-alto y el nivel de escolaridad superior, además, se presentó un incremento del riesgo en los casos que presentaron menarquia temprana, planificación hormonal y menopausia no funcional.

De otra parte, en cuatro análisis GWAs de pacientes de Europa y Asia, se ha reportado el incremento de la susceptibilidad en personas con el alelo de riesgo para los polimorfismos de los SNPs: rs1867277, rs965513, rs944289, rs116909374, rs2439302, rs966423 y rs6983267, y considerando que no han sido estudiados en poblaciones de América del Sur, se realizó la genotipificación alelo especifica de estos polimorfismos, usando el sistema KASPAR. A partir de los genotipos obtenidos, se realizaron pruebas de equilibrio de Hardy Weingber (HW) y de asociación en el programa Plink, encontrándose que todos presentan un incremento significativo del riesgo, a excepción del rs966423, que no cumplió con el equilibrio de HW, por lo tanto, no se incluyó en los cálculos de OR individuales y combinados. El análisis combinado de los SNPs rs965513, rs944289, rs116909374, rs2439302 y rs6983267, reveló estar relacionados con una probabilidad tres veces superior en los portadores de 7 o más alelos riesgo.

La mayor parte de los diagnósticos actuales no son concluyentes, pues se basan en la aspiración por aguja delgada (BACAF). Afortunadamente, ha tomado fuerza el diagnóstico molecular, basado en el análisis de mutaciones en genes como BRAF, asociados con el desarrollo, mal pronóstico, recurrencia, metástasis de la enfermedad y respuesta a tratamientos pre y post quirúrgicos. Por esta razón, se amplificó y secuenció el exón 15 del gen BRAF, en el ADN de 164 muestras de tejido tumoral tiroideo, encontrándose que la mutación V600E, se presentó en el 55% de las muestras de PTC, sin variaciones entre género y edad de diagnóstico, pero con una mayor frecuencia en casos con complicaciones como lesiones bilaterales, mayores a 1cm y con metástasis a ganglios linfáticos. Adicionalmente, se realizó la detección por PCR aleloespecifica de esta mutación en muestras de sangre de 239 pacientes, las cuales fueron homocigotas para el alelo silvestres en su totalidad, confirmando la naturaleza esporádica y especificidad de la mutación V600E en este tipo histológico.

Palabras clave: carcinoma de tiroides, genotipificación, ADN, sangre, mutación V600E, gen BRAF, SNPs de susceptibilidad.

ABSTRACT

The thyroid carcinoma (CT) is the most common endocrine neoplasia and its incidence in Colombia has increased in recent years. Cancer is a genetic, sporadic or inherited disease that can be triggered by interaction of genetic and environmental factors.
Several epidemiological studies have shown a relationship between the risk of CT and the impact of external factors such as: socioeconomic status, educational level and consumption of alcohol and cigarettes. Moreover, since there is a higher incidence in females, has raised the possibility of finding hormonal differences between cases and healthy controls, it has evaluated factors such as hormonal planning, age at menarche and menopause, the number of live births and breastfeeding.

Considering the above, in the present study, we evaluated these factors using interviews of 253 patients, matched by gender and geographical origin, with healthy controls, older than 50 years and without family history of cancer in first and second degree of consanguinity. An increased occurrence of TC was evident in women than in men, with a ratio of 8:1; papillary carcinoma was the most frequent (93.5%), followed by follicular (5.9%) and medullar (<1%). The average age at diagnosis was 46 years in cases with PTC, 45 in men and 60 in women with FTC.
Risk analysis by calculating odds ratio (OR), revealed a significant increase in the risk of disease in patients with medium-high socioeconomic status and higher educational level, also it showed an increased risk in cases with early menarche, hormonal contraception and artificial menopause.

Moreover, in four analyzes GWAs of patients from Europe and Asia, has reported increased susceptibility in people with risk allele for polymorphisms (SNPs): rs1867277, rs965513, rs944289, rs116909374, rs2439302, rs966423 and rs6983267 and considering that they have not been studied in populations of South America, we genotyped these polymorphisms by allele specific PCR, using KASPAR system. From the genotypes obtained we performed Hardy Weinberg (HW) and association tests in the

software Plink, finding that all are involved in a significantly increased risk, except for rs966423, which did not fulfilled the HW equilibrium test, therefore, it was not included in the calculations of individual and combined OR. The combined analysis of SNPs: rs965513, rs944289, rs116909374, rs2439302 and rs6983267, showed a three-fold increased probability of disease in carriers of 7 or more risk alleles.

Most of the current diagnosis are inconclusive, since they are based on fine needle aspiration (FNA). Fortunately, molecular diagnostics have gained strength, based on the analysis of mutations in genes such as BRAF, associated with the development, poor prognosis, recurrence, metastasis of the disease and response to pre and post surgical treatments. For this reason, we amplified and sequenced exon 15 of the BRAF gene in DNA in 164 tumor samples of thyroid, finding that the V600E mutation occurred in 55% of samples PTC, without differences between genders and age of diagnosis, but it was more often in cases with complications such as: bilateral lesions, size bigger than 1 cm and with lymph node metastases. Additionally, we performed the detection by allele specific PCR of this mutation in blood samples from 239 patients and all of they were homozygous for the wild allele, confirming that V600E is a sporadic and specificity mutation in this histological type.

Keywords: Thyroid carcinoma, Genotyping, Blood and Tissue DNA, V600E mutation, BRAF, susceptibility gene SNPs.

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con su incidencia, el cáncer de tiroides ocupa el quinto lugar de importancia en mujeres colombianas lo cual lo convierte en la neoplasia más común del sistema endocrino. GLOBOCAN (2012), reporta para Colombia una incidencia de 1,2 hombres y 8,6 mujeres por 100.000 habitantes. En el año 2012 se presentaron 68.179 casos en hombres (0.9% de todos los tipos de cáncer) y 229.923 en mujeres (3.5% de todos los tipos de cáncer), siendo el octavo cáncer más común en mujeres a nivel mundial.

El carcinoma epitelial de tiroides, se origina en las células foliculares o parafoliculares de la glándula tiroides. El de las células foliculares puede ser clasificado en: diferenciado (papilar y folicular) y mal diferenciados (insular o pobremente diferenciado y anaplásico o indiferenciado). La mayoría (80%) corresponden a papilar que, en general, tiene buen pronóstico, es tratable y a menudo curable (INC, 2010). El carcinoma medular de tiroides tiene su origen en las células C o parafoliculares del tiroides y representa del 3 al 10% de los casos; dentro de este grupo, se estima que el 25% de los casos familiares están asociados al síndrome de neoplasia endocrina múltiple (MEN) de tipos 2A y 2B, y a la forma familiar sin asociación con otras endocrinopatías (CMTF) (Carreño et al., 2001; Eng et al., 1997; Eng, 1999).

En Colombia, el diagnóstico del carcinoma de tiroides se realiza por aspiración con aguja fina (BACAF), aproximadamente en el 10% de estos BACAF los resultados son indeterminados o sospechosos, como consecuencia de la difícil interpretación citológica que tienen los patrones foliculares o de células de Hürtlhe, además, entre el 15 y 25% de los nódulos con hallazgos citológicos indeterminados, se confirman como malignos luego de la cirugía (Duque, Garcia, Osorio & Rendón, 2008). Este examen, no aporta datos sobre la invasión de ganglios linfáticos, recurrencia y metástasis, en este sentido, una buena opción para aproximarse a dicha información es el uso de herramientas moleculares, como la secuenciación del gen *BRAF,* importante en la regulación del ciclo

celular a través de la activación de la ruta de las MAP quinasas (Chang & Karin, 2001; Lupi et al., 2007; M. Xing, 2010; M. Xing et al., 2005).

El riesgo poblacional de presentar carcinoma de tiroides es variable, razón por la cual, en el presente estudio, se tipificaron siete polimorfismos: (rs1867277, rs965513, rs944289, rs116909374, rs2439302, rs966423 y rs6983267), previamente analizados y relacionados con la susceptibilidad a presentar dicho carcinoma en otras poblaciones como Australia (Bullock et al., 2012), Japón (Bychkov et al., 2013), Italia (Cipollini et al., 2013), España (Landa et al., 2009), Islandia, Estados Unidos, Holanda (Ghoussaini et al., 2008; Gudmundsson et al., 2009, 2012), Bielorrusia (Takahashi et al., 2010), Estados Unidos (Jendrzejewski et al., 2012; Neta et al., 2012), Norte de Europa - UK (Jones et al., 2012) y China (Ai et al., 2014; Wang et al., 2013).

Debido a que el cáncer expresa fenotipos que dependen de la interacción de los componentes genético y ambiental, en este trabajo se tuvieron en cuenta como posibles factores genéticos la mutación V600E del gen BRAF y los siete polimorfismos mencionados; como factores ambientales se tomaron algunas características clinicopatológicas como el tipo y grado histológico, la clasificación TNM y el estado del tumor, además de variables exógenas, como el género, la edad, el consumo de cigarrillo y alcohol, entre otras.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Como se dijo anteriormente, los diferentes fenotipos del cáncer obedecen a la interacción de desórdenes genéticos, con el medio ambiente. El origen de las mutaciones genéticas puede ser hereditario o esporádico y variar dependiendo de la población estudiada. Parte del componente ambiental está constituido por factores exógenos como el tabaquismo y/o el alcoholismo, frecuentemente asociados con esta patología.

Las mutaciones responsables del mayor porcentaje de CT se consideran esporádicas, el 5% atribuido a genes de alta penetrancia es de carácter hereditario e incluye parte del carcinoma medular y los síndromes MEN2A y MEN2B. Los carcinomas diferenciados de tiroides, entre los que se cuentan las variedades papilar y folicular, se clasifican casi siempre como esporádicos pero, últimamente, se ha descrito que el carcinoma papilar puede ser el resultado de una enfermedad de agregación familiar (Mosso et al., 2007).

En el caso específico del carcinoma de tiroides, objeto de este trabajo, se consideró importante ampliar a Colombia el estudio de marcadores y genes previamente analizados en poblaciones europeas por su relación con la susceptibilidad al desarrollo de la enfermedad, como los SNPs: rs1867277, rs965513, rs944289, rs116909374, rs2439302, rs966423 y rs6983267 (Akulevich et al., 2009; Ghoussaini et al., 2008; Gudmundsson et al., 2009; Jazdzewski et al., 2008; Jendrzejewski et al., 2012; Jones et al., 2012; Landa et al., 2009; M. Li et al., 2011; Matullo et al., 2001; Rogounovitch et al., 2006; Takahashi et al., 2010; Wang et al., 2013) y la mutación V600E del gen *BRAF,* asociada con un mal pronóstico de la enfermedad (Lupi et al., 2007; M. Xing et al., 2005).

Adicionalmente, se tuvo en cuenta el impacto que algunas características clínico-patológicas y factores exógenos como el cigarrillo y el alcohol podrían llegar a tener frente al incremento del riesgo.

Bajo este contexto y teniendo en cuenta que Colombia es un país multiétnico, se planteó la posibilidad de que existiesen variantes y/o combinaciones nuevas para estos genes en la población muestreada, que pudiesen estar relacionadas estadísticamente con un incremento de la susceptibilidad a desarrollar este tipo de enfermedad. Con base en lo anterior, el proyecto se propuso dar respuesta a la siguiente pregunta:

¿Existe una asociación estadística, individual o combinada, de los polimorfismos de los SNPs rs1867277, rs965513, rs944289, rs116909374, rs2439302, rs966423 y rs6983267, la mutación V600E del gen *BRAF* y los factores exógenos y/o clínico-patológicos considerados en la investigación, con la susceptibilidad a desarrollar cáncer de tiroides en la población muestreada?

2. JUSTIFICACIÓN

El carcinoma de tiroides es la neoplasia más común del sistema endocrino y su gran variabilidad en cuanto a la forma de presentación, respuesta a tratamiento y evolución, constituye un problema desde el punto de vista patológico, quirúrgico y oncológico (Harach, Soubeyran, Brown, Bonneau, & Longy, 2000; Xing, Liu, Xing, & Trink, 2011). El Instituto Nacional de Cáncer de Estados Unidos (NCI, 2013) estimó para el año 2013, 60.220 casos nuevos de carcinoma de tiroides (3.6% del total) y 1.850 muertes por esta causa. En Colombia, el Instituto Nacional de Cancerología (INC, 2010), entre los años 2000 a 2006, reportó una incidencia anual para carcinoma de tiroides en Colombia de 140 casos en hombres y 3.442 en mujeres (tasa cruda anual de 0,7 y 16,0 respectivamente), constituyéndose en la neoplasia más común del sistema endocrino. Además de los factores genéticos, el desarrollo de neoplasias tiroideas puede desencadenarse por factores ambientales y hormonales, debido, esencialmente, a que su funcionamiento depende del aporte externo de yodo y de la regulación del sistema endocrino (Xing, 2010).

El diagnóstico del carcinoma de tiroides por aspiración con aguja delgada o BACAF, generalmente, no es concluyente ni aporta información sobre la invasión de ganglios linfáticos, recurrencia o metástasis. Una buena opción para obtener un diagnóstico más confiable es el uso de herramientas moleculares, como la secuenciación del gen *BRAF,* que puede poner en evidencia algunas mutaciones asociadas con la recurrencia y el mal pronóstico, debido a su importancia en la activación de la ruta de señalización de las MAP quinasas, involucrada en el control y regulación de la apoptosis, inflamación, crecimiento celular y diferenciación (Chang & Karin, 2001; Lupi et al., 2007; Xing, 2010; Xing et al., 2005). Adicionalmente, la susceptibilidad al cáncer de tiroides puede establecerse mediante la tipificación de los polimorfismos de los SNPs: rs1867277, rs965513, rs944289, rs116909374, rs2439302, rs966423 y rs6983267, reportados para las poblaciones europeas (Akulevich et al., 2009; Ghoussaini et al., 2008; Gudmundsson et al., 2009; Jazdzewski et al., 2008; Jendrzejewski et al., 2012; Jones et al., 2012; Landa

et al., 2009; M. Li et al., 2011; Matullo et al., 2001; Rogounovitch et al., 2006; Takahashi et al., 2010; Wang et al., 2013).

Con este trabajo, se han fortalecido las alianzas -para estudios de cáncer-, entre diferentes grupos de investigación en Colombia, el Instituto Nacional de Cancerología, IPSs, EPSs y, las Universidades de Oxford y California-Davis, las cuales permiten la formación de investigadores, el intercambio y la transferencia de tecnologías que estimulan el uso de la genética en la práctica médica. El desarrollo de este proyecto respalda la solicitud del grupo para ser parte del consorcio internacional de estudios genéticos de cáncer de tiroides, liderado por la Universidad de Oxford, en el cual participan grupos de Inglaterra, España, Francia, Italia, Turquía e Irán.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Analizar molecularmente los SNPs rs1867277, rs965513, rs944289, rs116909374, rs2439302, rs966423 y rs6983267, la mutación V600E del gen *BRAF* y algunos componentes clínico-patológicos, en pacientes diagnosticados con carcinoma de tiroides, con el fin de evaluar estadísticamente la asociación, individual o combinada, de los mismos en el desarrollo de esa patología.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar en muestras de sangre de pacientes y controles, las variantes de los SNPs rs1867277, rs965513, rs944289, rs116909374, rs2439302, rs966423 y rs6983267, con el fin de establecer estadísticamente su asociación con la presencia o ausencia de la enfermedad.

- Determinar molecularmente la presencia de la mutación V600E del gen *BRAF,* en el ADN extraído a partir de sangre y tejido tumoral de los pacientes, con el fin de establecer su carácter germinal o somático.

- Analizar estadísticamente variables clínico-patológicas y ambientales como el consumo de tabaco y alcohol para establecer la relación del riesgo a desarrollar carcinoma de tiroides.

4. HIPÓTESIS

H_0 No existe asociación estadística, individual o combinada, de los polimorfismos de los SNPs rs1867277, rs965513, rs944289, rs116909374, rs2439302, rs966423 y rs6983267, la mutación V600E del gen BRAF y los factores exógenos y/o clínico-patológicos considerados en la investigación, con la susceptibilidad a desarrollar cáncer de tiroides en la población muestreada.

H_1 Los SNPs tipificados, las mutaciones de BRAF y los factores exógenos y/o clínico-patológicos, considerados en la investigación, presentan una asociación, individual o combinada, con la susceptibilidad a desarrollar cáncer de tiroides en la población muestreada, que es significativa estadísticamente.

5. MARCO TERICO Y ANTECEDENTES

5.1 LA GLÁNDULA TIROIDES

La glándula tiroidea se origina como una proliferación de células epiteliales endodérmicas en el *foramen cecum* de la lengua del adulto, que posteriormente desciende al cuello como un componente del conducto tirogloso. Normalmente es blanda y desigual en formas y pesos (alrededor de 20 gramos). Se compone de dos lóbulos laterales, un puente de unión y el istmo, tejido tiroideo de grosor variable, pero mucho más delgado que los lóbulos laterales. En una persona normal, el istmo puede ser palpado contra la tráquea -entre el cartílago cricoides y el manubrio esternal- (Cañadas-Garre et al., 2011; Mansberger & Wei, 1993). Los lóbulos laterales se encuentran bajo la musculatura vertical y los músculos esternocleidomastoideos, siendo difícil palparlos aún en una persona joven. Cada lóbulo mide aproximadamente 4.5 cm de alto, 1-2cm de ancho y 2-3 cm de grosor. Las células foliculares constituyen el 98% del contenido celular tiroideo y están especializadas en la regulación, producción y secreción de las hormonas tiroxina (T4) y triyodotironina (T3), estas hormonas requieren yodo (100-200µg/día) y el aminoácido tirosina, para su síntesis y sus funciones son: aumentar la tasa metabólica basal, intervenir en la síntesis proteica y aumentar la sensibilidad a las catecolaminas (tales como la adrenalina), además de ser fundamentales para el desarrollo y el crecimiento en la etapa fetal y neonatal (Young, Lowe, Stevens, & Heath, 2006).

Por otro lado, las células parafoliculares son células epiteliales originadas a partir de la cresta neural (ectodermo), carecen de polaridad y son las productoras de la calcitonina, hormona peptídica que participa en el metabolismo de calcio-fósforo (Cañadas-Garre et al., 2011).

5.2 CARCINOMA DE TIROIDES

El carcinoma de tiroides es la neoplasia más común del sistema endocrino, la incidencia mundial es de 68.179 casos en hombres (0.9% de todos los tipos de cáncer) y 229.923 en mujeres (3.5% de todos los tipos de cáncer), representando el octavo cáncer más común en mujeres (GLOBOCAN, 2012). La Sociedad Americana de cáncer de Estados Unidos, estimó para el año 2015, 65.450 casos nuevos de carcinoma de tiroides (47.230 en mujeres y 15.220 en hombres) y 1.950 muertes por esta causa (American Cancer Society, 2015). En Colombia, el Instituto Nacional de Cancerología (INC), entre los años 2000 y 2006, reportó una incidencia anual para carcinoma de tiroides en Colombia de 140 casos en hombres y 3.442 en mujeres (tasa cruda anual de 0.7 y 16.0 respectivamente), constituyéndose en la neoplasia más común del sistema endocrino (INC, 2010).

La gran variabilidad en cuanto a la forma de presentación, respuesta a tratamiento y evolución, hacen de esta enfermedad un problema, desde el punto de vista patológico, quirúrgico y oncológico. Algunos subtipos de tumores tiroideos forman parte de síndromes hereditarios originados por distintas alteraciones genéticas, lo cual pone en evidencia la complejidad de la enfermedad (Cañadas-Garre et al., 2011; Harach et al., 1999). Además de los factores genéticos, el CT puede desencadenarse por factores ambientales y hormonales, dado que el funcionamiento de la glándula depende del aporte externo de yodo y de la regulación del sistema endocrino (Williams, 1999. Los factores ambientales incluyen elementos genotóxicos (que producen daño en el ADN) como el yodo radiactivo y no genotóxicos, como la deficiencia de yodo en la dieta que estimula la secreción de la hormona tirotrópica (TSH), (DeLellis *et al.*, 2004).

Dependiendo de su origen celular, los tumores tiroideos se clasifican en dos grupos: carcinomas de las células foliculares tiroideas y carcinomas de las células parafoliculares. Los carcinomas de origen folicular a su vez se pueden subdividir en carcinomas bien diferenciados (WDTC), carcinomas pobremente diferenciados (PDTC) y carcinomas anaplásicos o indiferenciados de tiroides (ATC) (DeLellis *et al.*, 2004).

Los tumores bien diferenciados engloban dos subtipos de carcinoma: el papilar de tiroides (PTC) y el folicular de tiroides (FTC). Finalmente, los tumores de origen parafolicular sólo incluyen un subtipo: el carcinoma medular de tiroides (MTC) (DeLellis *et al.*, 2004).

La edad media de aparición del carcinoma de tiroides varía en función del subtipo, siendo de 45-50 años para los pacientes con PTC, de 50 años en los casos de FTC y MTC, y de 60 años para los pacientes diagnosticados con ATC (DeLellis *et al.*, 2004). Son numerosos los estudios que han demostrado que el carcinoma de tiroides es 4 o 5 veces más frecuente en mujeres que en hombres y, que esta diferencia tiende a diluirse en las franjas de edad precoz y avanzada, por ejemplo, en Estados Unidos, la incidencia anual es de 2,2 niñas y 0,9 niños por millón, mientras en adolescentes la diferencia entre géneros se incrementa con una proporción de 2,5-6 casos en mujeres por cada hombre (Figge, 2006), para Japón se reporta una relación de hasta 13:1 (Wartofsky, 2010). Este hecho podría explicarse por la existencia de factores de susceptibilidad relacionados con receptores de hormonas sexuales o por las rutas moleculares que éstos activan (Papini et al., 2002), dicha disparidad no parece tener relación con factores ambientales o dietarios ni con mutaciones somáticas en BRAF, RET/PTC y NTRK, y a pesar que el estatus del receptor de estrógeno presenta diferencias en la expresión en diferentes tipos histológicos de CT, su relación con específicamente con el tumor aún no está clara (Rahbari, Zhang, & Kebebew, 2010).

5.2.1 Carcinoma Papilar de Tiroides (PTC). Es un tumor epitelial maligno que muestra evidencias de diferenciación celular, manteniendo características propias de las células foliculares tiroideas (tales como la polaridad y producción de Tg) (DeLellis *et al.*, 2004). Es el carcinoma tiroideo más frecuente (80%) y registra una supervivencia total superior al 90% (Xing, 2010). Su incidencia es tres veces superior en la mujer con respecto al hombre aunque, entre los pacientes mayores de 50 años y en los casos pediátricos, la diferencia tiende a reducirse. Alrededor de un 3-7% de los PTCs son familiares (Corvi et al., 2001), siendo ésta una forma más agresiva, habitualmente multifocal en origen y

con una edad de aparición más temprana que las formas esporádicas (Alsanea et al., 2000).

El PTC generalmente hace metástasis vía linfática, gracias a la abundante red de vasos linfáticos que irrigan los lóbulos tiroideos, por tanto, la metástasis en los ganglios cervicales es bastante común. Además, esta neoplasia es multicéntrica en un 20% de los casos y bilateral en un tercio, ya sea en origen o por expansión linfática intraglandular. Las metástasis vía hematógena son muy poco frecuentes (Schlumberger, 1998).

El PTC convencional o clásico, es un tumor de crecimiento lento, bien diferenciado y frecuentemente no encapsulado, caracterizado por la presencia de papilas, formadas por un eje conjuntivo, revestido por células epiteliales cúbicas con núcleos alargados y de borde irregular, muchos sin cromatina visible (de aspecto vacío) y con pequeños nucléolos adyacentes a la membrana nuclear. También son comunes los surcos y las inclusiones nucleares. Otras características propias de este subtipo tumoral son la formación de calcificaciones, la presencia de coloide y de células gigantes multinucleadas. Como se muestra en la Tabla 1, es necesario destacar que la entidad "PTC" engloba multitud de variantes con características histopatológicas y moleculares exclusivas, que difieren de las propias del PTC clásico y que permiten su identificación (Cañadas-Garre et al., 2011; Garavito et al., 2010). Dentro de estas variantes son de especial interés por su frecuencia y características: la folicular (FVPTC), la esclerosante difusa (DSV) y la de células altas (TCV) (DeLellis *et al.*, 2004).

Además de las características histológicas, se han descrito cuatro lesiones genéticas presentes en las fases tempranas de la tumorogénesis del PTC esporádico: 1. Reordenamientos cromosómicos, 2. Translocaciones balanceadas 3. Inversiones, que afectan a los receptores tirosina quinasa *RET* y *NTRK1* y 4. Mutaciones activadoras en los proto-oncogenes *RAS* y *BRAF* (Patel & Shaha, 2006). Todas estas alteraciones activan la ruta de las MAP quinasas (*mitogen-activated protein kinases*) y son mutuamente excluyentes, es decir, no se da más de una en un mismo tumor, salvo que éste sea policlonal (Knauf et al., 2005; Nikiforova et al., 2003; Saenko et al., 2003).

Tabla 1. Variantes histológicas del carcinoma papilar de tiroides.

Mayor agresividad	• Esclerosante difuso • Folicular difusa (multinodular) • Célula clara, alta y columnar • Trabecular • Des-diferenciado: cáncer pobremente diferenciado con componente de cáncer papilar
Mejor pronóstico	• Encapsulado • Microcarcinoma • Microtumor papilar
Sin diferencia	• Variante folicular • Sólida • Oxifílica (oncocítica) • Estroma nodular exuberante similar a fascitis nodular • Macrofolicular (similar a bocio) • Warthin-like • Cribiforme-morular • Con estroma lipomatoso
Características histológicas de mal pronóstico	• Atipia nuclear • Necrosis tumoral • Extensión extratiroidea • Compromiso de la cápsula tiroidea • Invasión vascular arterial o venosa* • Metástasis ganglionares • Invasión a tejidos perigangliónares

* La invasión vascular comparada con la invasión capsular del tumor tiene un peor pronóstico, ya que incrementa el riesgo de enfermedad metastásica temprana.

Fuente: Garavito et al., 2010.

5.2.2 Carcinoma Folicular de Tiroides (FTC). Es un tumor epitelial maligno que muestra evidencias de diferenciación celular y carece de las características nucleares propias del PTC (DeLellis *et al.*, 2004). Constituye el 10% de las malignidades tiroideas (Montero-Conde et al., 2008), siendo su incidencia superior en las áreas yodo-deficientes. A diferencia del PTC, el FTC presenta: peor pronóstico (tasa de supervivencia a los cinco años de seguimiento del 40%), una edad de aparición más tardía y apenas se presenta en edades pediátricas. Se propaga vía hematógena, principalmente a pulmón y huesos, siendo un 20% la frecuencia de metástasis distal en el momento de diagnóstico del tumor. La expansión vía linfática es poco común (5%).

Este tipo de carcinoma se relaciona con mutaciones puntuales en la familia de proto-oncogenes RAS (codones 12, 13 y 61 de K-RAS, H-RAS, N-RAS) y el reordenamiento PAX8/PPARγ. Al igual que sucede en el PTC, estas alteraciones representan vías alternativas en el desarrollo temprano de los carcinomas foliculares, coincidiendo en el mismo tumor en casos excepcionales (Nikiforova et al., 2003, Cassol & Asa, 2011).
Las mutaciones puntuales en RAS constituyen la única alteración molecular temprana compartida por varios tipos de patologías tiroideas: FTC, FVPTC y FA, que curiosamente presentan un rasgo histológico común, la arquitectura folicular. Teniendo en cuenta estas mutaciones, las más frecuentes son las que afectan al codón 61 de NRAS. La prevalencia de esta alteración varía según la serie estudiada, siendo mayor en regiones geográficas yodo-deficientes (Montero-Conde et al., 2008).

5.2.3 Carcinoma Anaplásico o indiferenciado de tiroides (ATC). Se trata de un tumor muy agresivo originado a partir de las células foliculares tiroideas y representa el 5% de los carcinomas tiroideos. De acuerdo con su histología aparece total o parcialmente compuesto por células que han perdido la diferenciación, de manera que sólo es posible reconocer su origen gracias a marcadores inmunohistoquímicos específicos (positividad a la queratina), y al mantenimiento de características estructurales propias de una diferenciación epitelial previa (presencia de desmosomas y tonofilamentos) (Brown & Cohen, 2008, DeLellis, 2006). Algunos datos relativos a alteraciones moleculares indican que las mutaciones en *BRAF* y *RAS* parecen conferir una predisposición a desarrollar

ATC. Aproximadamente el 15% de los carcinomas pobremente diferenciados y un mayor porcentaje de tumores indiferenciados son *BRAF*-positivos. Esta condición genética está asociada a la presencia de un componente papilar en estos tumores. Asimismo, los ATC positivos para mutaciones en RAS, con frecuencia presentan un componente folicular (Handkiewicz-Junak, D., Czarniecka, A., & Jarzab, B., 2010; Montero-Conde, et al, 2008).

5.2.4 Carcinoma Pobremente Diferenciado de Tiroides (PDTC). Los carcinomas tiroideos pobremente diferenciados (PDTC) constituyen una entidad controvertida. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) son neoplasias originadas a partir de las células foliculares del tiroides, la mayoría de los pacientes que desarrollan un PDTC mueren en los tres años siguientes al diagnóstico, debido principalmente a su extensión local y a las metástasis a distancia, (DeLellis *et al.*, 2004).

El pronóstico depende del tamaño del tumor, el grado de invasión local y las metástasis, la cirugía aplicada y la respuesta al tratamiento con radio-yodo (Nishida, *et al.*, 1999; Sobrinho-Simoes, *et al.*, 2002). La ambigüedad de esta patología así como la variabilidad en los criterios diagnósticos, dificultan la estimación de la prevalencia de la enfermedad. Está aceptado que parte de estos tumores se originan a partir de una lesión precursora, que puede ser tanto un FTC como un PTC (Sobrinho-Simoes, *et al.*, 2002). No obstante, no se descarta que la mayoría de los casos sean *de novo* (Pilotti et al., 1997) al igual que sucede con los tumores anaplásicos, para los cuales se ha documentado, la progresión de tumores bien diferenciados a tumores anaplásicos con pérdida de expresión del gen supresor de tumores p53 y se han descrito zonas de transición entre estas morfologías tumorales, pero se cree que también pueden surgir *de novo* (Patel & Shaha, 2006).

5.2.5 Cáncer de tiroides del epitelio folicular asociado a síndromes hereditarios. La gran mayoría de los tumores tiroideos de célula folicular tienen un carácter esporádico, y sólo una pequeña proporción, cercana a un 6% es consecuencia de una alteración genética asociada a una mayor susceptibilidad a desarrollar carcinomas tiroideos (Loh, 1997). Así, encontramos agregaciones familiares de PTC, para las cuales no se conoce el gen responsable, y varios síndromes hereditarios, cuyo gen es conocido, asociados a una

mayor susceptibilidad a desarrollar distintos subtipos de carcinoma tiroideo. Entre los síndromes hereditarios asociados a desarrollo de cáncer de tiroides se destacan: la Poliposis Adenomatosa Familiar *(FAP, por sus siglas en inglés*) o Síndrome de Gardner, el Síndrome de Cowden y el Complejo de Carney.

5.2.6 Cáncer medular de Tiroides (MTC). Constituye entre el 3-10% de todas las neoplasias malignas de la glándula tiroides, y tiene su origen en las células parafoliculares del tiroides (células C) (Carreño, *et al.*, 1997). Se estima que el 25% de los casos son familiares, y forman parte de la neoplasia endocrina múltiple tipo 2 (NEM 2) y el 75% son esporádicos (Forga Llenas, 2007). Se distinguen 3 formas clínicas de CMT hereditario: asociado al Síndrome de Neoplasia Endocrina Múltiple: (MEN) de tipo 2A y 2B, y la forma familiar sin asociación con otras endocrinopatías (CMTF). En más del 95% de los casos hereditarios existe una mutación del proto-oncogén RET (REarranged during Transfection) localizado en la región pericentromérica del cromosoma 10 (10q11.2) (Eng, 1999).

5.3 ESTADIFICACIÓN

La clasificación de los diferentes estados del tumor se planteó para ayudar al clínico a planear y evaluar los resultados del tratamiento, informar sobre el pronóstico y facilitar el intercambio de datos entre distintos profesionales, teniendo en cuenta que la supervivencia de los pacientes cuya enfermedad está localizada es mayor que la de aquellos en los que se ha extendido más allá del órgano de origen. El Comité Conjunto Estadounidense sobre el Cáncer (por sus siglas en inglés AJCC) y la Unión Internacional Contra el Cáncer (UICC), crearon el sistema de estadificación TNM que se usa para describir la mayoría de los tipos de cáncer. En las tablas 2 y 3, se presentan los ítems tenidos en cuenta en el sistema de clasificación TNM y los estados para cáncer diferenciado de tiroides basados en la séptima edición de los protocolos de AJCC/UICC (Ghossein et al., 2011).

Tabla 2. Sistema de clasificación TNM para cáncer de tiroides.

Tumor Primario (pT)
pTX: No se puede evaluar el tumor primario.
pT0: No hay evidencias del tumor primario
pT1: Tumor de 2 cm o menos, limitado a la tiroides
pT1a: Tumor 1 cm o menos, limitado a la tiroides
pT1b: Tumor mayor a 1 cm pero no mayor a 2 cm, limitado a la tiroides
pT2: El tumor mide más de 2 cm, pero no más de 4 cm, limitado a la tiroides
pT3: Tumor mayor a 4 cm limitado a la tiroides o con mínima extensión extratiroidal.
pT4a: Avance moderado de la enfermedad. Tumor de cualquier tamaño extendido más allá de la capsula tiroidea a los tejidos blandos subcutáneos, laringe, tráquea, esófago o el nervio laríngeo recurrente.
pT4b: Enfermedad muy avanzada. El tumor invade la fascia prevertebral o envuelve la arteria carótida o los vasos mediastinales.
Los carcinomas anaplásicos siempre se consideran T4.
T4a Carcinoma anaplásico Intratiroidal— resecable quirúrgicamente
T4b Carcinoma anaplásico extratiroidal — no resecable quirúrgicamente
Ganglios linfáticos regionales (pN)
pNX: No se estableció el estado de los ganglios
pN0: No hay ganglios metastásicos
pN1a: Metástasis a ganglios de Nivel VI (pretraqueal, paratraqueal y prelaringeos/Delfianos).
pN1b: Metástasis a los ganglios cervicales unilaterales, bilaterales, contralaterales (Niveles I, II, III, IV, V) o retrofaringeales o mediastinales superiores (Nivel VII).
Metástasis a distancia (pM)
pMX: No se estableció la presencia de metástasis.
pM0: No hay metástasis a distancia.
pM1: Hay metástasis a distancia.

Fuente: Modificado y traducido de la séptima edición de los protocolos de AJCC/UICC (Ghossein et al., 2011)

Tabla 3. Clasificación de estados del carcinoma de tiroides.

Estados en Carcinoma Papilar o Folicular					
Menores de 45 años.		45 años de edad o más			
Estado I	Cualquier T	Estado I	T1	N0	M0
	Cualquier N	Estado II	T2	N0	M0
	M0	Estado III	T3	N0	M0
			T1, 2 o 3	N1a	M0
Estado II	Cualquier T	Estado IVA	T4a	N0 o N1a	M0
	Cualquier N		Cualquier T	N1b	M0
	M1	Estado IVB	T4b	Cualquier N	M0
		Estado IVC	Cualquier T	Cualquier N	M1

Carcinoma Medular (cualquier edad)				**Carcinoma Indiferenciado (Anaplásico)**	
Estado I	T1	N0	M0	Siempre es considerado estado IV	
Estado II	T2 o 3	N0	M0	Estado IVA	T4a, Cualquier N, M0
Estado III	T1, 2 o 3	N1a	M0		
Estado IVA	T4a	N0 o N1a	M0	Estado IVB	T4b, Cualquier N, M0
	Cualquier T	N1b	M0		
Estado IVB	T4b	Cualquier N	M0	Estado IVC	Cualquier T,
Estado IVC	Cualquier T	Cualquier N	M1		Cualquier N, M1

Fuente: Modificado y traducido de la séptima edición de los protocolos de AJCC/UICC (Ghossein et al., 2011).

Además de lo anterior, los pacientes pueden clasificarse según el riesgo de recurrencia (Tabla 4), la cual se incrementa con la edad, aunque también es alta en jóvenes. Debe valorarse después de la cirugía inicial y la ablación con yodo radiactivo (I^{-131}), teniendo en cuenta factores como la radicalidad de la resección, la invasión locorregional, la invasión micro o macroscópica a los tejidos blandos peritiroideos, las variantes

histológicas, la invasión vascular y la presencia de captaciones por fuera del lecho tiroideo en el primer rastreo post-ablación (Garavito et al., 2010).

Tabla 4. Estratificación de los pacientes según el riesgo de recaída.

Bajo riesgo (≤T3 sin invasión local N0M0)	**Alto riesgo** (cualquiera de los siguientes)
• Entre 15 y 45 años de edad	• < 15 o > 45 años de edad
• Compromiso unilateral de la tiroides	• Tumor primario > 4 cm
• Tumor primario ≤4 cm	• Extensión a los tejidos vecinos
• Sin extensión a los tejidos vecinos	• Compromiso de ambos lóbulos tiroideos
• Sin compromiso ganglionar	• Compromiso ganglionar
• Sin metástasis a distancia	• Metástasis a distancia
• Sin variante histológica agresiva	• Variante histológica agresiva
	• Angioinvasión, atipia o necrosis

Fuente: Garavito *et al*., 2010.

5.4 EPIGENETICA Y CANCER DE TIROIDES

Recientes estudios han demostrado que los procesos que afectan la actividad del ADN sin alterar su secuencia, son claves en la regulación de los ciclos celulares y están relacionados con diversas patologías, entre ellas el cáncer. Se ha encontrado que variaciones en la dieta, el consumo de alcohol o tabaco, la exposición a contaminantes ambientales, variaciones en los niveles hormonales, entre otros, pueden modificar los patrones epigenéticos (Simmons, 2008). Dentro de los mecanismos epigenéticos se encuentran: la metilación del ADN, la modificación de las histonas y los ARN no codificantes asociados al silenciamiento de genes (Franco Vera, 2009).

Cambios en los patrones de metilación se han relacionado con diversos cánceres incluyendo el de tiroides, en el cual se ha sugerido que contribuye a la desdiferenciación y la generación de tumores heterogéneos (Hansen et al., 2011). La metilación de genes

supresores de tumor como PTEN se han asociado con el decrecimiento de la diferenciación del tejido, por otro lado, genes como SLC5A5, también conocido como NIS y NKX2-1, pueden presentar alteraciones en su función por hipermetilación en carcinomas indiferenciados de tiroides (Y. Kondo, 2009; Vu-Phan & Koenig, 2014).

Se ha reportado que el 30% de los tumores tiroideos presentan metilación de las islas CpG en el promotor de los genes p16INK4A y RAS (Russo, Damante, Puxeddu, Durante, & Filetti, 2011; M. Xing et al., 2005).
La modificación de histonas puede activar o inactivar la transcripción de genes, entre ellos los oncogenes, aunque no está claro cuáles de estos son activados en cáncer de tiroides, se ha demostrado que la acetilación de la histona H3 es más alta en tejidos con esta patología que en los normales (Puppin et al., 2011).

Los ARN no codificantes largos (lncRNAs) pueden cambiar la estructura de cromosómica, dentro de este tipo de moléculas se encuentra HOTAR, relacionado con la sobreexpresión de numerosos genes y a pesar de no haber sido estudiado aun en cáncer de tiroides, se ha relacionado con el gen PTEN (Blumenthal & Dennis, 2008; Smith et al., 2011). El candidato de susceptibilidad al cáncer papilar de tiroides 3 (PTCSC3, por sus siglas en inglés) es un lncRNA relacionado con supresión tumoral que ejerce subregulación en tumores tiroideos (Jendrzejewski et al., 2012), cabe destacar, que en el presente estudio, se incluye el análisis del SNP rs944289 que se encuentra localizado a 3,2kb de este gen y se ha relacionado con una fuerte supresión de la expresión de PTCSC3 en presencia del genotipo TT, respecto a los heterocigotos y homocigotos del alelo C (Jendrzejewski et al., 2012).

El conocimiento de dichos patrones epigenéticos es de gran importancia para el tratamiento de la enfermedad puesto que se ha demostrado in vitro que en líneas celulares de tiroides es posible restablecer la actividad normal de genes como NIS, TPO, tiroglobulina y PAX, mediante el uso de enzimas histona-deacetilasas (HDAC, por sus siglas en inglés), lo cual no solo frena el proceso de desdiferenciación tumoral sino que restablece la morfología normal del tejido (Furuya et al., 2004; Y. Kondo, 2009; Pugliese

et al., 2013; Vu-Phan & Koenig, 2014). Desde el punto de vista del tratamiento post-quirúrgico del CT, esto brinda la posibilidad de destrucción de células tumorales residuales puesto que podría incrementar la captación del iodo radioactivo, al restablecer la actividad de genes como TPO y NIS (Russo et al., 2011), para quienes además, se ha reportado sub-expresión en presencia de la mutación V600E de BRAF (analizada en este estudio).

5.5 FACTORES DE RIESGO

Edad y género: La incidencia del carcinoma papilar de tiroides, es mayor en mujeres que en hombres, el reporte de incidencia del Instituto Nacional de Cancerología, es 5 veces mayor en mujeres, en el año 2010 -1,8 y 6.9 por cada 100.000 en hombres y mujeres, respectivamente- (Garavito et al., 2010). Por otra parte, el carcinoma medular, que presenta una incidencia menor al 3% de todos los tipos de cáncer de tiroides, ocurre casi con la misma frecuencia en ambos sexos (Grubbs et al., 2008). La diferencia en incidencia entre sexos y edades podría estar indicando que las hormonas femeninas pueden estar implicadas en el desarrollo de la enfermedad dado que los receptores de estrógeno son expresados en células foliculares y promueven su proliferación, pero aún no es clara la relación entre la carcinogénesis tiroidea y las hormonas sexuales (Kawabata et al., 2003; Papaleontiou & Haymart, 2014).

El cáncer de tiroides puede aparecer a cualquier edad, no obstante, la edad media de diagnóstico varía, por ejemplo, en España, el Ministerio de sanidad, servicios sociales e igualdad, reporta una edad media entre los 40 y los 53 años; para Corea, de 47 años (Lang et al., 2014), para Japón, de 25 a 55 años (Wartofsky, 2010). El carcinoma de tiroides bien diferenciado se presenta en pacientes entre 20–50 años (Parkin, *et al.,* 2005).

Se han reportado casos de carcinoma de tiroides desde los 5 años de edad, aunque esta enfermedad es muy rara en niños menores de 15 años, -entre 1,5 y 3% de todos los tipos de cáncer en niños- (Wartofsky, 2010). En Estados Unidos, la incidencia anual es de 0,9

niños y 2,2 niñas por millón, mientras en adolescentes, la proporción reportada es de 2,5-6:1 casos con carcinoma papilar de tiroides y se incrementó a 100 y 120 por millón entre los 50 y 80 años (Figge, 2006).

Exposición a radiación: La asociación de la enfermedad con la radiación proveniente de bombas nucleares se evidenció en estudios de pacientes de Hiroshima y Nagasaki (1945), las Islas Marshall (1954) y Nevada (1951-1962), y en el accidente nuclear de Chernóbil (1986), donde los efectos de la radiación son más fuertes en niños, teniendo en cuenta la contaminación presente en la leche y debido a que la tiroides juvenil es más susceptible al daño y presenta mayor crecimiento y proliferación (T. Kondo, Ezzat, & Asa, 2006). La exposición a radiación incrementa el riesgo de padecer cáncer papilar de tiroides entre un 30 a 50% (Wartofsky, 2010).

Ingesta reducida de yodo: el yodo es requerido para la producción de hormonas tiroideas (organificación). La deficiencia de yodo genera bocio o crecimiento de la tiroides como mecanismo compensatorio. La incidencia de FTC en áreas con deficiencia de yodo es alta, mientras que en áreas con suficiente yodo es más común el PTC, además, en experimentos con modelos animales se ha evidenciado el cambio morfológico de los tumores foliculares a papilares al realizar suplementación con yodo (T. Kondo et al., 2006).

Tiroiditis linfocítica: la infiltración linfocítica es frecuente en PTC, lo cual podría indicar que hay factores inmunológicos implicados en el progreso del tumor (T. Kondo et al., 2006).

Historia familiar: el riesgo de padecer carcinoma de tiroides derivado de las células foliculares se incrementa en personas con familiares de primer grado afectados por la enfermedad, Hemminki, Eng, & Chen (2005), encontraron un incremento de 3,2 a 6,2 veces en pacientes con un padre o hermano con carcinoma de tiroides, respectivamente. El carcinoma de tiroides puede asociarse con síndromes familiares como la polipósis

familiar (con mutaciones en APC), el síndrome de Cowden (con mutaciones en PTEN) y el síndrome de Werner (con mutaciones en WRN) (Lindor & Greene, 1998).

El riesgo de padecer carcinoma de tiroides no medular se incrementa entre 4 a 9 veces, en las personas que tienen un familiar de primer grado con la enfermedad y, aunque la mayor parte se ha relacionado con síndromes que predisponen al cáncer, como la polipósis adenomatosa familiar (FAP) o el síndrome de Cowden, muchos estudios reportan familias con la enfermedad sin evidencia de síndromes de carcinoma familiar conocidos (Pal et al., 2001).

5.6 TIPIFICACIÓN DE POLIMORFISMOS RELACIONADOS CON LA SUSCEPTIBILIDAD AL CARCINOMA DE TIROIDES

Las poblaciones humanas, al igual que las de otras especies, acumulan un acervo genético independiente, pero dado el alto intercambio genético entre poblaciones, incluso alejadas, y los fenómenos de migración, es probable que muchos polimorfismos se compartan, motivo por el cual, es importante tipificar algunos marcadores relacionados previamente con el incremento de la susceptibilidad a padecer la enfermedad.

Tres estudios de asociación de genomas completos (GWAs, por sus siglas en inglés), han logrado identificar polimorfismos de nucleótido único (SNPs) asociados con la susceptibilidad al cáncer de tiroides en poblaciones como Japón (Bychkov et al., 2013), Italia (Cipollini et al., 2013), España (Landa et al., 2009), Islandia, Estados Unidos y Holanda (Ghoussaini et al., 2008; Gudmundsson et al., 2009, 2012), Bielorrusia y Rusia (Takahashi et al., 2010), USA (Jendrzejewski et al., 2012; Neta et al., 2012), Europa del Norte y Reino Unido (Jones et al., 2012) y China (Ai et al., 2014; Guo et al., 2014; Wang et al., 2013). Dicha asociación no ha sido estudiada en Sur América, por lo cual, los SNPs con mayor asociación en las poblaciones mencionadas fueron incluidos en el análisis del presente estudio:

- La variante rs1867277 (9q22.23) del 5'UTR de FOXE1, afecta la transcripción del gen y el reclutamiento de factores de transcripción USF1/USF2, cuando presenta mutaciones y se ha reportado en pacientes de cáncer de tiroides de España (Landa et al., 2009).

- El marcador rs965513 (9q22.33), se encuentra a 57kb del gen FOXE1, (factor de transcripción especifico de la tiroides), implicado en la morfogénesis de la tiroides y fue asociado al cáncer no medular de tiroides en la población irlandesa (Gudmundsson et al., 2012; Jones et al., 2012) y china (Wang et al., 2013).

- El rs944289 (14q13.3), no presenta genes de referencia asociados pero está muy cerca del factor de transcripción tiroideo NKX2-1, que es probablemente el mejor candidato como fuente de asociación con el carcinoma de tiroides, ya que tiene un papel destacado en el desarrollo de la tiroides y es importante en la regulación transcripcional de genes implicados en la supervivencia y diferenciación de las células tiroideas en migración (Gudmundsson et al., 2012; Jendrzejewski et al., 2012; Wang et al., 2013).

- rs116909374 (14q13.3), se ha relacionado con carcinoma de tiroides en pacientes de España e Islandia, el gen más cercano a este SNP es MBIP que codifica una proteína reguladora, pero además, está cerca de NKX2-1 (Gudmundsson et al., 2012).

- rs2439302 (8p12), localizado en el primer intrón del gen NRG1, que codifica una proteína de señalización que media interacciones célula-célula y está implicada en el desarrollo del sistema nervioso, el corazón, el seno y otros órganos (Gudmundsson et al., 2012; Wang et al., 2013).

- rs966423 (2q35), localizado en un intrón del gen DIRC3, se ha asociado con un incremento al riesgo de presentar carcinoma papilar de tiroides en la población de China (Wang et al., 2013).

- rs6983267 (8q24), muestra una posible interacción con el proto-oncogén c-MYC y se ha relacionado con cáncer de próstata, ovario (Ghoussaini et al., 2008) y tiroides en la población europea (Jones et al., 2012) y alta asociación con el cáncer de colon en China (Li et al., 2011).

Tomaz y colaboradores (2012), en un análisis de pacientes y controles de Portugal, reportan una asociación significativa en casos con y sin antecedentes familiares de cáncer (familiares y esporádicos) para los rs1867277 (OR= 1,7 y P= 0,0022) y rs965513 (OR= 2,58 y P<0,0001).

Para niños y pacientes jóvenes (edades entre 2 y 22 años), expuestos a contaminación derivada del accidente de Chernóbil de Bielorrusia y Rusia, Takahashi *et al.,* (2010), encontraron una asociación significativa con el cáncer esporádico de tiroides respecto al rs965513 (OR= 1,76 y P= $4,9x10^{-9}$) pero no con rs944289 (OR= 1,10 y P= 0,17), este último presenta una asociación fuerte en pacientes de PTC esporádico de Islandia (OR= 1,44 P= 2,5x10-8) de acuerdo con estudios del equipo de Gudmundsson en el 2009.

En pacientes de Bielorrusia diagnosticados con cáncer papilar, que estuvieron expuestos a radiación desde la infancia (<1 a 14 años de edad), se encontró asociación respecto a los SNPs rs1867277 (OR= 1,55 P= 0,035), rs965513 (OR= 1,40 CI 95% 0,93-2,09 P= 0,11) y rs944289 (OR= 1,02 CI95% 0,69-1,51 P= 0,93) pero sin significancia estadística, ya que el tamaño de la muestra es pequeña (70 casos y 303 controles) (Damiola et al., 2014).

Se ha reportado asociación con el cáncer de tiroides y los SNPs rs6983267 (OR= 1,140 P= 0,016), rs965513 (OR= 1.981 P= 6.353x10-34), rs1867277 (OR= 1,749 P= 5.903x10-24) y rs944289 (OR= 1,330 P= 6.953x10-7), de manera individual y se ha encontrado un incremento en el riesgo en el haplotipo formado por la combinación de los alelos de rs965513 y rs1867277, los cuales se encuentran en desequilibrio de ligamiento (LD r^2>0.5), en el cromosoma 9q22 (OR= 1,61 P= 0,0001), dicho incremento es más evidente

en el análisis de diplotipos, donde la combinación de los dos homocigotos para el alelo de riesgo resulta en un OR de 4,45 (P= 8,5x10-27) (Jones et al., 2012).

Jones et al., (2012), encontraron asociación mayor rs6983267, bajo el modelo recesivo, puesto que los heterocigotos no incrementan el riesgo de padecer CT.

5.7 IMPORTANCIA DE LAS MUTACIONES DEL GEN BRAF EN EL CARCINOMA DE TIROIDES

El gen *BRAF* pertenece a la familia de las serin-treonin-quinasas-*RAF*, que incluye además los genes *ARAF* y *CRAF*, que codifican proteínas cuya función es la activación y regulación de la cascada de señalización MAPK, esenciales para el control de la proliferación, diferenciación y supervivencia celular. BRAF es activado por RAS (Avruch, *et al.,* 2001).

BRAF codifica la isoforma predominante en las células foliculares tiroideas y, al igual que el resto de isotipos, activa la ruta de señalización de las MAP quinasas, involucrada en el control y regulación de la apoptosis, inflamación, crecimiento celular y diferenciación (Chang & Karin, 2001, Xing, 2010). La transversión de una timina por una adenina en el nucleótido 1799 (p.Val600Glu) de la secuencia de *BRAF*, es la alteración genética más común descrita en el PTC, llegando a alcanzar una frecuencia del 69% (Kimura et al., 2003; Lee et al., 2010). Estas alteraciones moleculares están situadas en el dominio quinasa de la proteína y llevan a la sustitución de un residuo de valina por uno de glutamato, cuya carga negativa mimetiza la fosforilación de los residuos treonina 599 y serina 602, necesarios para la activación de *BRAF* (Nikiforova et al., 2003). De esta manera, la actividad quinasa de la proteína mutante se incrementa de 10 a 12 veces con respecto la proteína nativa. La consecuencia es la activación constitutiva de los efectores de las quinasas MEK (ERK1 y 2) y por lo tanto de la ruta de las MAP quinasas (Davies et al., 2002; Orru et al., 2010).

La ruta de los receptores tirosinquinasas (*RAS/RAF/MEK/ERK*) es clave en la regulación del crecimiento, supervivencia, proliferación y diferenciación de células eucariotas (Lee et al., 2010; Sapio et al., 2006). En el (PTC) se presenta la expresión aberrante de genes involucrados en los dominios de RET o TRK (receptores tirosinquinasa) y mutaciones activadoras de *RAS* y *RAF* (Lee et al., 2010).

Sapio et al., (2006), reportan la presencia de la mutación *BRAF* T1799A en el 44,2% de las muestras de PTC, incluyendo la forma clásica y la variante folicular. Los mismos autores, no detectaron la mutación ni en tejidos tiroideos normales ni en carcinomas o adenomas foliculares. En dicho estudio se evaluó la presencia de la mutación en tejidos tumorales entre los 4 y 11 años después del tratamiento y no se encontró correlación entre la presencia de la mutación y la recurrencia de la enfermedad. Lee, *et al.*, 2010 reportan la mutación de *BRAF* en el 90% de las muestras de PTC usando el método de detección por PCR, alelo especifica, con sondas marcadas con biotina.

Desde el punto de vista del significado clínico, varios estudios muestran una asociación entre la presencia de mutaciones en *BRAF* y un peor pronóstico (Lupi et al., 2007; J. Xing et al., 2011; M. Xing et al., 2005).

6. METODOLOGÍA

6.1. OBTENCIÓN DE INFORMACIÓN BÁSICA Y MUESTRAS

6.1.1 Aprobación ética. El programa “Análisis genético de enfermedades humanas”, y el proyecto de Cáncer de Tiroides, en los que está inscrita la presente investigación, tienen aprobación ética de la Universidad del Tolima y fueron presentados a los diferentes centros e instituciones hospitalarias que nos colaboraron en Antioquia, Zona Cafetera, Tolima, Huila y Nariño, con el fin de cumplir los requisitos pertinentes para la obtención de las respectivas aprobaciones éticas, la carta de presentación del programa, los consentimiento informados, entrevistas y toma de muestras (Anexos B, C, D y E).

6.1.2 Manejo de la información. Todos los formatos de consentimiento informado, entrevistas y recolección de datos, así como la propuesta de investigación, fueron aprobados por el Comité de ética de la Universidad del Tolima.

A cada uno de los pacientes y controles seleccionados, se le presentó la carta de información de la investigación, se le solicitó la aprobación del consentimiento informado y el diligenciamiento de la entrevista, la cual incluye datos demográficos como la edad, género, historial de tabaquismo y alcoholismo, entre otros. Para los casos, se tuvo en cuenta los antecedentes familiares y la información del reporte de anatomía patológica, realizada en distintas entidades y laboratorios de salud, en las ciudades de Ibagué (Hospital Federico Lleras Acosta, Clínica Tolima, Laboratorio Medicadíz, Fundación Cardioinfantil, Clínica Minerva, Centro Medico Javeriano y Coomeva), Neiva (Hospital Hernando Moncaleano Perdomo, Instituto Nacional de Cancerología, Laboratorio Dr. Cesar Panqueva Tarazona y Diagnosticamos SA), Medellín (Hospital Pablo Tobón Uribe, Hospital San Vicente de Paul, Clínica de Antioquia, Clínica CES, Clínica El Rosario, Hospital Manuel Uribe Ángel, Laboratorio Las Américas, Dinámica, CitoPat y Laboratorio de Patología Dra. Susana Restrepo), Pasto (Patólogos Asociados) y Manizales (Instituto Caldense de Patología, Laboratorio de patología humana de la Universidad de Caldas).

La información derivada de los documentos de pacientes y controles participantes en el estudio, así como los consentimientos informados, hacen parte del archivo del grupo de Citogenética de la Universidad del Tolima de forma física y digital, mediante el escaneo de documentos originales y la transcripción fiel de la información en la base de datos FileMaker Pro11. Dicha información es de carácter anónimo y estrictamente confidencial, en cumplimiento con la resolución N1° 008430 de 1993 del Ministerio de Salud de la Republica de Colombia y, según los lineamientos establecidos por las instituciones que hacen parte de nuestra red de apoyo.

6.1.3 Toma de Muestras de sangre. Se muestrearon 253 pacientes con carcinoma de tiroides, menores de 75 años de edad, con condición médica, mental y física estables, que cuentan con reporte de patología completo y aceptaron voluntariamente participar en el estudio, contestar las preguntas de la entrevista y realizar la donación de 12cc de sangre venosa.

Como controles se escogieron personas mayores de 50 años, sanos y sin antecedentes de cáncer en primer y segundo grado, que correspondieron a 672 mujeres y 111 hombres, pareados con los casos según el lugar de procedencia y el género (proporción 2,5:1). Posterior a la firma del consentimiento informado y la entrevista, realizaron la donación de 8 cc de sangre venosa para la extracción de ADN y posterior realización de pruebas moleculares. De estos, se escogieron 251 que contaban con entrevistas completas para la evaluación de factores ambientales conservando la proporción de lugar de procedencia y género respecto a los casos.

En todos los casos y controles, la toma de muestras de sangre fue realizada por personal médico o paramédico, debidamente capacitado, mediante venopunción de vena periférica (cefálica o radial).

6.1.4. Muestras del tumor. A partir del análisis de las patologías de cada uno de los 253 pacientes, se seleccionaron muestras de tejido tumoral incluido en parafina con el fin de obtener material para la extracción de ADN, de los cuales se logró captar bloques

tumorales de 110 pacientes, por lo tanto, se encuentra con material genético pareado (sangre y tumor) que fue procesado en los laboratorios de la Universidad del Tolima y la Universidad de California-Davis. Además, se incluyó la información de 54 bloques correspondientes a donaciones realizadas en el 2010 por el laboratorio de patología de la Clínica Tolima, el Instituto Caldense de Patología, el laboratorio de patología humana de la Universidad de Caldas y el Hospital Pablo Tobón Uribe que fueron procesados y tipificados en el Wellcome Trust Centre for Human Genetics de la Universidad de Oxford.

6.2. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS EN LABORATORIO

6.2.1. Extracción y cuantificación de ADN. La extracción, cuantificación y verificación de la calidad del ADN obtenido a partir de muestras de sangre y tejido tumoral, se realizó en el laboratorio del grupo de Citogenética filogenia evolución de poblaciones de la Universidad del Tolima.

El ADN de controles y pacientes, se obtuvo a partir de las muestras de sangre usando el equipo de extracción automatizada Maxwell 16 (técnica de partículas paramagnéticas y tiocianato de guanidina) y el kit de extracción Promega-Maxwell® ref. AS1011. Para esto se agregaron 470µl de sangre venosa en el primer pozo del casete del kit, previamente homogeneizada mediante agitación en vortex y 230µl de buffer en los tubos de elución para la recuperación del ADN.

Para la obtención del ADN del tejido tumoral y el tejido normal, se escogieron los bloques de parafina de los pacientes observando al microscopio la presencia de tejido tumoral y sano en las láminas teñidas con hematoxilina-eosina, posteriormente, se aplicó el protocolo del kit de extracción de tejido por microcolumna en sílica de Qiagen (QIAGEN KIT, Dneasy – Blood & Tissue Kit, Cat. N° 69504). Durante el proceso se realizó, directamente en los bloques de parafina, un raspado de los tejidos sano y tumoral con una cuchilla de bisturí N° 22 estéril , el cual fue transferido a un tubo de 2ml con una cantidad entre 90 y 180µl de buffer ATL (tissue lysis), dependiendo de la cantidad de tejido obtenido. Posteriormente se agregaron 20µl de proteinasa k y la mezcla se agitó

por 20 segundos con vortex. La muestra se mantuvo en baño María a 56°C por 24horas, tiempo en el que el tejido se diluye. Se agregó buffer AL, se agitó en vortex y se adicionaron 200µl de etanol (96%). Se agitó en vortex y se incubó 10 minutos a 70°C en baño seco. Se centrifugó durante un minuto a 13000 revoluciones por minuto, y se depositó todo el producto en un la columna DNAeasy para su centrifugado a 8000 rpm por un minuto a temperatura ambiente. Se cambió el tubo de recolección por uno nuevo, teniendo en cuenta no tocar la parte inferior de la columna. Se adicionaron 500 µl de buffer AW1 y se centrifugó a 8000 rpm por 1 minuto, luego se descartó el tubo colector y se colocó un nuevo tubo. Se adicionaron 500 µl de buffer AW2, se centrifugó a 14000 rpm por 3 minutos. Se descartó el tubo colector, se colocó uno nuevo y se adicionaron 100 µl de buffer AE a la columna, se mantuvo a temperatura ambiente por 1 minuto y se centrifugó a full spin por 1 minuto para recuperar el contenido del tubo recolector. Nuevamente se centrifugó 1 minuto a full spin y, finalmente, el ADN obtenido se transfirió a un tubo de 2ml con tapa rosca nuevo.

El ADN obtenido fue rotulado y almacenado a 2°C en tubos estériles. La cuantificación se hizo con un NanoDrop ND-1000 Spectrophotometer (GenVault.com) y para tener un acercamiento a la concentración y calidad se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 1%, con tinción con bromuro de etídio usando 5 µl del ADN extraído en cada caso.

Para tener una estimación más exacta de la concentración de ADN de doble hélice, útil para la amplificación, se realizó la cuantificación en fluorómetro Qubit 2.0, para lo cual, se preparó una solución de trabajo compuesta por una dilución de reactivo Quant-iT en buffer en relación 1:200 por cada muestra. Se prepararon dos tubos de concentración conocida o estándar para tarar el equipo, adicionando 190ul de solución de trabajo y 10ul del estándar 1 y 2. Para la preparación de la muestra se agregaron 199ul de solución de trabajo y 1ul de ADN. Cada tubo se agitó en vortex durante 3 segundos y se mantuvieron los tubos a temperatura ambiente por 2 minutos antes de la lectura.

6.2.2. Genotipificación de SNPs. Las muestras de ADN obtenido de sangre de pacientes y controles, se resuspendieron en agua grado PCR a una concentración de 5ng/l para la genotipificación de los *loci* rs1867277, rs965513, rs944289, rs116909374, rs2439302, rs966423 y rs6983267, por PCR alelo-específica competitiva llevada a cabo en un termociclador BioRad C1000 de 384 pozos con sistema de detección óptica CFX384 Touch™ Real-Time PCR Detection System Modular, usando el sistema KASP (LGC Genomics) para lo cual se utilizaron**:**

- Dos iniciadores alelo específicos (uno por cada alelo SNP), cada uno con una secuencia similar en el extremo 5'.
- Un iniciador reverso similar.
- Dos oligonucleótidos marcados en el extreme 5', uno con FAM (6-carboxifluoresceína) y el otro con HEX (hexacloro-6-carboxifluoresceína). Estas secuencias interactúan con las de los iniciadores alelo- específicos, diseñados a partir de las secuencias reportadas en la base de datos de dbSNPs del National Center for Biotechnology Information (NCBI), mediante el programa PrimerPicker versión 0.27 (Tabla 5). Cabe resaltar que dichos iniciadores fueron probados mediante PCR *in-silico* y se verificó la ausencia de otros SNPs dentro del primer, en el programa en línea del Genome Bioinformatics de la Universidad de California-San Francisco (http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgPcr?command=start).
- Dos oligonucleótidos marcados con quenchers en el extremo 3'. Estas secuencias de oligonucleótidos son complementarias a las marcadas con flúor y por lo tanto también a los extremos de los iniciadores alelo- específicos. Los quenchers mantienen la señal de fluorescencia apagada mientras es necesario.

Por cada reacción de PCR se utilizó 1,6µl de ADN de 5ng/µl y los reactivos del kit de KASPAR (LGC Genomics):

- Kaspar 2x = 5 µl : Hotstart Taq, buffer, dNTPs, $MgCl_2$(50mM), y fluoróforos Hex y Fam (cat # 1536, KBioscience).

- Mezcla de iniciadores= 0.14 µl (formado por 12 µl del iniciador directo para el alelo 1 y 12 µl del iniciador directo del alelo 2, 30 µl del iniciador reverso común, cada uno a una concentración de 100µM y 46 µl de H_2O, para una concentración final de 18µM).

- ddH_2O= 3.26 µl.

La concentración final en reacción es de 0,8ng/ul de ADN, 1X de mezcla Kaspar y 0,25µM de mezcla de iniciadores, para un volumen final de 10 µl.

Las condiciones de amplificación utilizadas para la tipificación fueron, una denaturación inicial a 94°C por 15 minutos, 10 ciclos con denaturación a 94°C por 20 segundos y una temperatura de alineamiento y elongación que decreció 0,6°C por ciclo, desde 61°C a 55°C por un minuto, 26 ciclos con denaturación de 94°C por 20 segundos y alineamiento y elongación de 55°C por 60 segundos y un ciclo final de 30 segundos a 35°C previo a la lectura del plato.

En algunos casos, cuando no se observó una buena agrupación de los casos o controles en los gráficos de genotipificación, se realizaron tres ciclos adicionales con denaturación a 94°C por 20 segundos y alineamiento y elongación a 57°C por 60 segundos y una nueva lectura. Al iniciar la PCR, el alelo complementario a la secuencia de ADN hibrida (dependiendo de la variante del SNP en el extremo 3') y también lo hace el iniciador reverso común. La fluorescencia se mantiene inhibida por el quencher, hasta que por el proceso de PCR los oligos marcados se desenlazan de los quencher y se produce la fluorescencia, la cual es registrada por el sistema de detección del equipo. El tipo de fluorescencia depende del alelo que hibride, si se emite un solo tipo significa que se tiene un genotipo homocigoto para ese SNP, si se emiten los dos tipos se trata de un heterocigoto (KBioScience 2012).

Tabla 5. Secuencias de los iniciadores diseñados para la detección aleloespecífica de los SNPs**.**

rs1867277_A = 5'-GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCCAGAGTCCAGTCCCGGTCA-3' rs1867277_G = 5'-GAAGGTCGGAGTCAACGGATTCAGAGTCCAGTCCCGGTCG-3' rs1867277_Com = 5'-TGCTTCTCGAGGCGGGCAGC-3'
rs965513_A = 5'-GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGTGGCTGGAATGGAACAGATCAAAA-3' rs965513_G = 5'-GAAGGTCGGAGTCAACGGATTGGCTGGAATGGAACAGATCAAAG-3' rs965513_Com = 5'-GTCTTTGTTAGCATTGTGAGAACAGACTA-3'
rs944289_C = 5'-GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCAATTTAATTTGGTTGAAAGATAGTCATTGC-3' rs944289_T = 5'-GAAGGTCGGAGTCAACGGATTGCAATTTAATTTGGTTGAAAGATAGTCATTGT-3' rs944289_Com = 5'-GGACATTAGATTATTTTAAATTCCCAGCTA-3'
rs116909374_G = 5'-GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGGAAGAATGA GGGTGACATGCG-3' rs116909374_A = 5'-GAAGGTCGGAGTCAACGGATTGGAAGAATG AGGGTGACATGCA-3' rs116909374_Com = 5'-TGTTCCTTCCTAGAACCAGTAGTTCTTT-3'
rs2439302_G = 5'-GAAGGTGACCAAGTTCATGCTAACACAATGTGTAATCTTTGTTTCATAG-3' rs2439302_C = 5'-GAAGGTCGGAGTCAACGGATTCTAACACAATGTGTAATCTTTGTTTCATAC-3' rs2439302_Com= 5'-TACTAACATAGGAGAGTTAGGTGGCAAA-3'
rs6983267_C = 5'-GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCATAAAAATTCTTTGTACTTTTCTCAGTGC-3' rs6983267_A = 5'-GAAGGTCGGAGTCAACGGATTCACATAAAAATTCTTTGTACTTTTCTCAGTGA-3' rs6983267_Com = 5'-CCAGAGTTAATACCCTCATCGTCCTT-3'
rs966423_C = 5'-GAAGGTGACCAAGTTCATGCTAAGTAGGGTGGAAGAGGAAAC-3' rs966423_T = 5'-GAAGGTCGGAGTCAACGGATTAAGTAGGGTGGAAGAGGAAAT-3' rs966423_Com = 5'-GACCAACTTTGAATTCCACCTGCC-3'

A1= Iniciador directo del alelo 1 (FAM); A2= Iniciador directo del Alelo 2 (Hex); Com= Iniciador Reverso Común

6.2.3. Amplificación y análisis de secuencias del gen *BRAF* **.**La mutación V600E del gen BRAF se tipificó en muestras de ADN de sangre de pacientes con carcinoma de tiroides mediante la PCR aleloespecífica con los iniciadores diseñados en el programa PrimerPicker versión 0.27, que se presentan en la tabla 6 y usando el sistema KASP (LGC Genomics).

Las variantes del exón 15 del gen *BRAF* fueron tipificadas a partir del ADN obtenido del tejido tumoral de pacientes, usando amplificación por PCR convencional con los iniciadores específicos que se presentan en la tabla 6 y se probaron cuatro protocolos de amplificación usando cuatro marcas de Taq polimerasa (Tabla 7).

Tabla 6. Iniciadores para el gen *BRAF.*

Secuencia del Iniciador		**Observaciones**
I. directo Alelo A (FAM)	**5'-GAAGGTGACCAAGTTCATGCT**AATAGGTGATTTTGGTCTAGCTACAG**A-3'**	**PCR Aleloespecífica** Diseñado en programa PrimerPicker versión 0.27
I. directo Alelo T (HEX)	**5'-GAAGGTCGGAGTCAACGGATT**AATAGGTGATTTTGGTCTAGCTACAG**T-3'**	
I. reverso común	**5'-**AATGGATCCAGACAACTGTTCAAACTGAT**-3'**	
Iniciador directo	**5'-**TCATAATGCTTGCTCTGA-TAGGA**-3'**	**PCR Convencional** Directo: Sapio, *et al.,* 2006; Quiros*, et al.,* 2005 Reverso: Establecido en el WTCFHG de Oxford Tamaño esperado 213pb
Iniciador reverso	**5'-**TTACCATCCACAAAATGGA**-3'**	

Tabla 7. Protocolos de amplificación del gen BRAF a partir de ADN obtenido de tejido tumoral.

Thermo Scientific - Taq DNA Polymerase

Reactivo	Ci	Cf	(Vf: 25µl)
Tampón	10 x	1x	2,5
dNTPs	10mM	0,2mM	0,5
$MgCl_2$	50mM	1,5mM	0,75
Iniciador Directo	10µM	0,5µM	1,25
Iniciador Reverso	10µM	0,5µM	1,25
ADN Polimerasa	5U	1U	0,2
dH_20			16,05
ADN	~20ng/µl	~2ng/µl	2,5

iProof High-Fidelity DNA Polymerase

Reactivo	Ci	Cf	(Vf: 25µl)
Tampón	5x	1X	5
dNTPs mix	10mM	200uM	0,5
$MgCl_2$	50mM	>0,2mM	0,1
Iniciador Directo	10µM	0,5µM	1,25
Iniciador Reverso	10µM	0,5µM	1,25
ADN Polimerasa	2U/µl	0,02U/µl	0,25
dH_20	-	-	10,65
ADN	~20ng/µl	~2ng/µl	6

MyTaq Mix

Reactivo	Ci	Cf	(Vf: 25µl)
Iniciador Directo	10µM	0,5µM	1,25
Iniciador Reverso	10µM	0,5µM	1,25
MyTaq mix	2X	1X	12,5
dH_20	-	-	4
ADN	~20ng/µl	~5ng/µl	6

MyFi Mix

Reactivo	Ci	Cf	(Vf: 25µl)
Iniciador Directo	10µM	0,5µM	1,25
Iniciador Reverso	10µM	0,5µM	1,25
MyFi mix	2X	1X	12,5
dH_20	-	-	4
ADN	~20ng/µl	~5ng/µl	6

Ci: Concentración inicial, Cf: Concentración final, Vf: Volumen final por reacción.

Las condiciones de amplificación para cada una de las mezclas de reacción y polimerasas utilizadas se muestran en la tabla 8, encabezadas por el nombre comercial. Los mejores resultados se obtuvieron con la mezcla MyTaq (Bioline) por lo tanto, todas las muestras fueron amplificadas con este protocolo.

Tabla 8. Condiciones de amplificación del gen BRAF.

Proceso		**Thermo Scientific**	**MyTaq y MyFi mix**	**iProof High-Fidelity**
Denaturación inicial		95°C por 5 min	95°C por 1 min	98°C por 30 seg
35 ciclos	Denaturación	94°C por 1 min	95°C por 15 seg	98°C por 10 seg
	Alineamiento	55°C por 1 min	58°C por 15 seg	58°C por 20 seg
	Extensión	72°C por 1 min	72°C por 10 seg	72°C por 15 seg
Extensión final		72°C por 10 min	72°C por 10 seg	72°C por 8 min
Conservar a		4°C	4°C	4°C

Para las amplificaciones se utilizó un termociclador de 96 pozos marca BioRAD C1000 y se visualizó el producto amplificado en gel de agarosa al 1,5 %. Posteriormente se realizó la purificación mezclando 5µl de producto de PCR y 2ul de ExoSAP-IT (Affymetrix), se incubó a 37°C por 15 minutos y a 80°C por 15 minutos.

La secuenciación se realizó en la Facultad de Secuenciamiento de ADN de la Universidad de California-Davis (UCDNA Sequencing Facility), mediante el sistema de secuenciamiento ABI BigDye Terminator v3.1.

El análisis de las secuencias se realizó en el programa Chromas Lite versión 2.1.1 (Copyright 1998-2013 Technelysium Pty Ltd).

6.3. ANÁLISIS ESTADISTICOS**.**

El presente es un estudio de casos y controles.

Se realizaron análisis de asociación mediante tablas de contingencia, pruebas de X^2 y Odds ratio (OR) usando los algoritmos disponibles en las paginas web de estadística computacional gratuita VassarStats (http://vassarstats.net/), para establecer la relación entre variables cualitativas como el género, el estrato socioeconómico, el consumo de alcohol y cigarrillo, el uso de anticonceptivos hormonales y la presencia de la enfermedad según sus tipos histológicos (PTC y FTC) y teniendo en cuenta la distribución etaria de la muestra, se escogieron para esta comparación, únicamente los casos mayores de 45 años puesto que los controles son mayores de 50.

Se realizaron tablas de contingencia, prueba de X^2 y Odds ratio para la clasificación histopatológica del tumor (TNM), estado, edad y género en 287 de pacientes con PTC y 18 pacientes con FTC.

Para el análisis del polimorfismo genético se tuvieron en cuenta las combinaciones alélicas de los SNPs (rs1867277, rs965513, rs944289, rs116909374, rs2439302, rs966423 y rs6983267) diferenciando los casos en homocigosis y heterocigosis en 251 pacientes (235 con PTC, 16 FTC) respecto a 783 controles (pareados con los casos según región de origen y género en una relación 3:1), no se incluyeron en el análisis los dos casos con MTC debido a la diferencia en el origen histológico (células parafoliculares). Se realizó una prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg, con el fin de establecer si existía desviación en el número de genotipos y por consiguiente, las frecuencias alélicas en cada población, tanto para casos como controles. A partir del análisis de frecuencias alélicas, se calculó estadísticamente, su relación con el incremento del riesgo a padecer la enfermedad (OR, Odds ratio) con el programa Plink versión 1.07. Mediante la prueba exacta de Fisher, se obtuvo la asociación de cada uno de los SNPs respecto a los modelos genéticos dominante (AA vs AA'+A'A'), en el cual el alelo de riesgo incrementa la probabilidad de padecer la enfermedad en la misma

proporción, en homocigosis y heterocigosis, Recesivo (AA+AA' vs A'A'), en el cual el riesgo es significativamente mayor únicamente en homocigotos para el alelo de riesgo y el modelo alélico (A vs A'), en el cual, tanto el heterocigoto como el homocigoto para el alelo de riesgo están asociados con el incremento de la probabilidad de padecer de la enfermedad, pero con proporciones distintas).

A partir del análisis de 144 pacientes y controles, pareados por género, se obtuvo un modelo de regresión logística, usando como variables independientes el genotipo para los 6 SNPs tipificados, el consumo de tabaco y alcohol y, como variable dependiente, se consideró la presencia de cáncer papilar de tiroides mediante el programa R.

Se realizó una regresión logística para establecer la relación entre la presencia de la enfermedad y los factores hormonales y el genotipo de 118 mujeres con PTC y 125 mujeres control, tomando como variables independientes el genotipo de los 6 SNPs, haber estado o no embarazadas, tener más de 4 embarazos, edad de la menarquia (temprana: anterior a 12 años, normal: entre 12 y 14 años, y tardía: 15 o más años) tipo de menopausia (natural o no funcional), edad de la menopausia (temprana: anterior a los 47 años, Normal: entre 48 y 54 años y tardía: mayor a 54 años) y planificación hormonal.

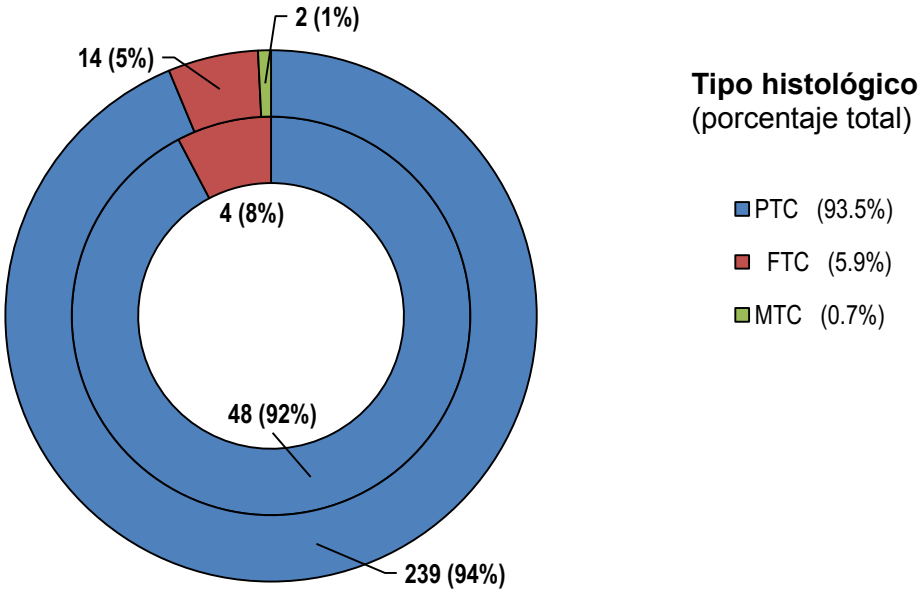
Para el análisis de las secuencias del exón 15 amplificado a partir del ADN de 110 muestras de tejido tumoral, se realizó la revisión del electroferograma mediante el programa Chromas Lite 2.1.1. con el fin de evidenciar la presencia de la mutación V600E. Se calculó la asociación entre la presencia de la mutación V600E en las 164 muestras tumorales con variables clínicas como el tamaño del tumor, invasión de ganglios linfáticos, invasión vascular, compromiso capsular y extensión extratiroidea mediante el calculó del OR en VassarStats (http://vassarstats.net/).

7. RESULTADOS Y DISCUSION

7.1. CARACTERISTICAS DE LA MUESTRA.

7.1.1. Tipo de carcinoma**:** se incluyeron en el estudio 255 mujeres y 52 hombres con carcinoma de tiroides. El 93,5% de las muestras correspondieron a carcinoma papilar de tiroides (PTC), el 5,9% a carcinoma folicular (FTC) y se destaca que pese a su baja incidencia, se lograron colectar dos muestras de mujeres con carcinoma medular de tiroides (MTC), esto indica que el esfuerzo de muestreo realizado refleja las tasas de incidencia reportadas para dicho tipo histológico (menor al 3% de todos los carcinomas de tiroides). En la figura 1 se evidencia que la distribución de pacientes según el género para cada tipo histológico es similar, puesto que el 92% de los hombres así como el 94% de las mujeres, presentaron PTC, mientras que únicamente el 8% de los hombres y 5% de las mujeres presentaron FTC.

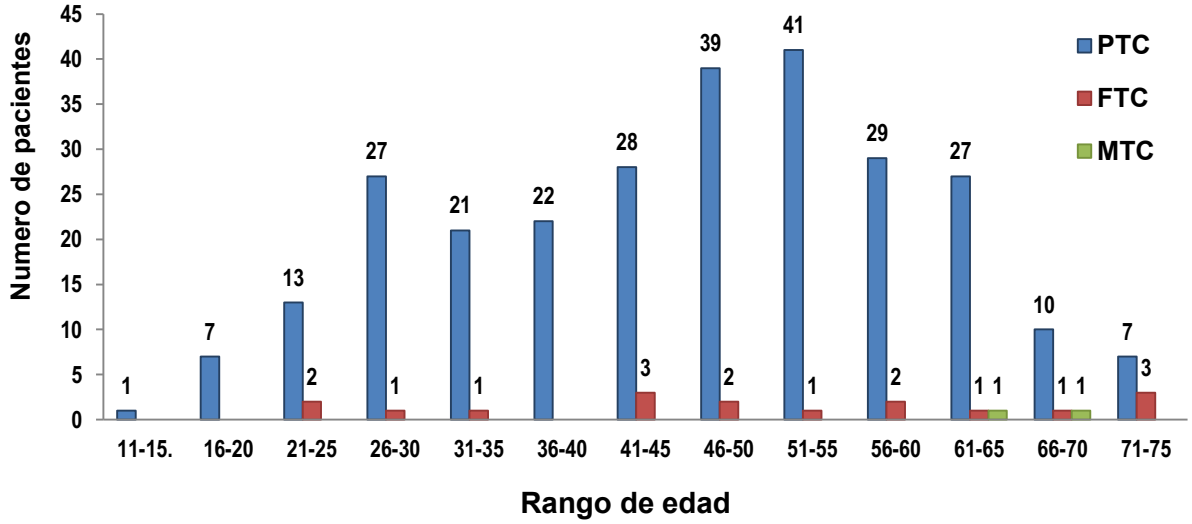
Figura 1. Porcentaje de Pacientes según género y tipo de carcinoma.



Fuente: la autora

7.1.2. Género y edad: la mayoría de los casos en la muestra de estudio se presentaron en mujeres (83,1%), cuyo número es 5 veces mayor que en los hombres (16,9%), estos resultados se corresponden con los reportados para Colombia, donde la incidencia es de 8,6 mujeres y 1,2 hombres por cada 100.000 habitantes (GLOBOCAN, 2012), es decir una relación aproximada de 8:1. Es interesante el incremento en la incidencia en mujeres en los últimos años, ya que para el 2010 era de 6,9 mujeres y 1,8 hombres por cada 100.000 (Garavito et al., 2010). A nivel mundial se reportan datos variables, por ejemplo, una relación de 2:1 para Estados Unidos y 13:1 en Japón (Wartofsky, 2010). La edad promedio de diagnóstico de carcinoma papilar de tiroides, en la muestra de estudio, fue de 46,6 años en mujeres y 45 años en hombres. El 40,9% de las mujeres y 42,9% de los hombres fueron diagnosticados antes de los 45 años y únicamente al 15,8% de mujeres y 13% de hombres se les detectó carcinoma de tiroides a edades superiores a los 60 años. El diagnóstico de FTC se presentó a una la edad promedio de 46,6 años para mujeres y 60,5 años para hombres (Figura 2).

Figura 2. Distribución de los casos con carcinoma de tiroides por tipo histológico y por edad.



Fuente: la autora

Para Estados Unidos se reporta que el 28% de los casos de PTC ocurre en edades entre los 20 y 40 años, además, es el carcinoma más común en mujeres menores de 30 años (INC, 2008), para España, Landa y colaboradores (2013), reportan una muestra con edad promedio de diagnóstico de 47 años y una relación de género de 4,4 mujeres por cada hombre y para Corea, Lang y colaboradores (2014), reportan una edad promedio de 46 años y una relación de 5,9 mujeres por cada hombre con PTC. Ying y colaboradores publicaron en el 2009, que la diferencia en la relación de la incidencia de cáncer de tiroides entre mujeres y hombres disminuye a medida que aumenta la edad de diagnóstico, siendo de 6.6:1 entre los 20 y 24 años (79 y 12 por millón de mujeres y hombres, respectivamente), 5,9:1 entre los 25 y 29 años, 5,1:1 de 30 a 34 años y 4:1 entre los 35 a 39 años.

Existen diferencias en la incidencia de cáncer de tiroides de acuerdo al género, siendo mayor en mujeres que en hombres, más aún si estas están en edad reproductiva (Iribarren, Haselkorn, Tekawa, & Friedman, 2001). Esto puede estar relacionado con los cambios en la secreción de la hormona estimulante de la tiroides (TSH, por su sigla en inglés) que ocurren en la pubertad, embarazo y puerperio (periodo subsecuente al parto), así como con el uso de anticonceptivos orales (DeRuiter, 2002; Memon, Darif, Al-Saleh, & Suresh, 2002). La influencia del género en la supervivencia es controversial y se han reportado datos muy variables en distintos estudios, lo cual puede relacionarse con las variaciones en la edad de diagnóstico por géneros y la variación consecuente en los niveles de TSH, además, a pesar de la alta incidencia, la supervivencia de las mujeres es mayor a la de los hombres que padecen carcinomas diferenciados de tiroides (Papaleontiou & Haymart, 2014).

7.1.3. Estrato socioeconómico y Nivel educativo**:** en el anexo F se presenta el porcentaje de casos y controles, según su estrato socioeconómico basado en la escala numérica establecida por el DANE (estratos 1 a 6 donde 6 corresponde al más alto). En la tabla 9, se encuentra el número y porcentaje de pacientes y controles, distribuidos de acuerdo a dos rangos de estrato socioeconómico, menor o igual a tres y mayor o igual a 4,

evidenciándose que en la muestra analizada, se encontraron más pacientes en estratos medio y alto, en consecuencia, existe asociación con la presencia de carcinoma de tiroides, con un incremento del doble en los casos diagnosticados a partir de los 45 años.

En cuanto al nivel de escolaridad (Tabla 9), se encontró que existen diferencias significativas entre los controles y los casos, tanto en el grupo menor de 45 años y como en la comparación respecto a pacientes de edad mayor o igual a 45 años, debido a que entre los casos existe mayor número de personas con estudios en nivel técnico, universitario y posgrado (Anexo G).

Tabla 9. Análisis estadístico del estrato socioeconómico y nivel educativo.

	n (%)	***n (%)***	**OR (IC 95%)**	**Valor P**
Estrato socioeconómico	**≤ 3**	**≥ 4**		
Controles	406 (89,2)	49 (10,8)	Referencia	
Casos <45 años	93 (89,4)	11 (10,6)	0,98 (0,491-1,957)	0,920344
Casos ≥45 años	118 (80,3)	29 (19,7)	2,04 (1,231-3,367)	**0,00758**
Total Casos	211 (84,1)	40 (15,9)	1,571 (1,003-2,462)	**0,047715**
Nivel educativo	**≤ Secundaria**	**≥ Técnico**		
Controles	339 (87,4)	49 (12,6)	Referencia	
Casos <45 años	53 (87,4)	47 (12,6)	6,135 (3,744-10,05)	**9,01E-13**
Casos ≥45 años	106 (53,0)	40 (47,0)	2,612 (1,63-4,182)	**0,000072**
Total Casos	159 (64,6)	87 (35,4)	3,786 (2,544-5,634)	**1,72E-11**

Se resaltan en negrillas los valores P con corrección de Yates, significativos al 95% de confianza.

De acuerdo con los resultados encontrados, el cáncer de tiroides es diagnosticado más comúnmente en personas de alto estrato socioeconómico y nivel educativo superior, lo cual es congruente con lo reportado para otras poblaciones como Estados Unidos (Iribarren et al., 2001; Li, Du, Reitzel, Xu, & Sturgis, 2013), y Suiza (Levi, *et al*., 1990).

Sin embargo, los resultados de dichos estudios no muestran evidencias de una mayor exposición a factores como la radiación, tipo de alimentación o condiciones laborales, por tanto, la diferencia posiblemente se debe a la desigualdad en las prácticas de diagnóstico en los diferentes sistemas de salud a los que la población tiene acceso según su capacidad adquisitiva.

El estrato socioeconómico y el nivel educativo están altamente asociados con el acceso al sistema de salud, las personas con bajos estratos socioeconómicos tienen un menor acceso al servicio médico, prevención y tratamiento, tal como lo evidencian Li y colaboradores en el 2013, para la población estadounidense, donde más del 50% de los pacientes presentaron altos ingresos económicos, así como un nivel de estudios superior, mientras que únicamente entre el 2 y 3% de los casos presentaban bajos ingresos económicos y bajo nivel educativo. Para Serbia ocurre lo contrario, presentándose una mayor frecuencia de carcinoma anaplásico de tiroides en personas con bajo nivel educativo (OR= 1.42, 95% CI= 1,09-1,86). En este caso, teniendo en cuenta que este es el tipo histológico de carcinoma tiroideo más avanzado, es posible que el diagnóstico ocurra en personas con bajo acceso a cuidados médicos que acuden a instituciones de salud cuando la enfermedad es mucho más grave y sintomática (Zivaljevic et al., 2014), esto es congruente con lo reportado por Bakiri, *et al*., 1998 y Gaitan, *et al*., 1991, donde la población con un bajo estrato socioeconómico e inferior nivel educativo, presenta mayor incidencia de ATC y estados avanzados (III o IV) de PTC y FTC.

Dentro de los factores involucrados en el incremento del riesgo de padecer cáncer de tiroides se han considerado, entre otros, el consumo de cigarrillo y alcohol, teniendo en cuenta su posible efecto en la producción de tiroxina (Pontikides & Krassas, 2002), así como de TSH (hormona estimulante de la tiroides), cuyos niveles pueden afectar el desarrollo de carcinomas tiroideos (Gudmundsson et al., 2009; Navarro Silvera, Miller, & Rohan, 2005, Hill, *et al*., 1998; Mazzaferri , 1987).

7.1.4. Consumo de alcohol**:** Aunque se evidencia que el consumo de alcohol es superior en hombres que en mujeres, no se encontraron diferencias significativas en esta variable entre casos y controles, ni en la comparación de mujeres control, respecto a los casos mayores o menores de 45, ni en la comparación de hombres control, respecto a casos mayores o menores de 45 años, por tanto, en la muestra no se evidencia una relación entre el consumo de alcohol y el riesgo de padecer CT (Anexo H). Cabe destacar que en estudios epidemiológicos en Estados Unidos, el alcohol presentó asociación con la disminución del riesgo de padecer CT (HR=0.72, 95% CI:0.58-0.90, Ptrend=0.002) en personas que consumían más de siete copas semanales (Kitahara, Linet, Freeman, et al., 2012) y para Canadá se encontró que la ingesta diaria de más de 10 gramos de alcohol, se asocia con una reducción de entre 14 y 20% del riesgo de CT, pero dicha reducción no es estadísticamente significativa (Navarro Silvera et al., 2005).

7.1.5. Tabaquismo**:** el consumo y exposición al humo de cigarrillo en la muestra, tanto de casos como controles, se presenta en el anexo I. El análisis estadístico demuestra que las diferencias en el consumo de cigarrillo entre los grupos no son significativas para controles y casos independientemente de la edad y el género. La exposición a humo de cigarrillo presenta diferencias significativas entre controles y casos de género femenino menores de 45 años, incrementando el riesgo de padecer la enfermedad a casi el doble, pero no para el resto de comparaciones (Tabla 10, Anexo I).

Teniendo en cuenta que todos los controles son mayores de 50 años y que posiblemente existe un sesgo por la diferencia generacional de la muestra, se considera que las comparaciones de controles respecto a casos con edad inferior a 45 años no son concluyentes, además, tampoco se encontraron diferencias significativas en las comparaciones respecto a los casos mayores, por lo tanto, no se evidencia relación entre el consumo de alcohol y cigarrillo y el incremento del riesgo de padecer CT en ambos sexos. Estos datos están de acuerdo con los reportados para Estados Unidos (Iribarren et al., 2001; Kabat, Kim, Wactawski-Wende, & Rohan, 2012), Canadá (Navarro Silvera et al., 2005), 2005) y Serbia (Zivaljevic et al., 2014), donde se concluye que el consumo de alcohol y cigarrillo no presenta relación con el CT.

Tabla 10. Análisis estadístico del consumo y exposición a cigarrillo.

	No *n (%)*	**Si** *n (%)*	**OR (IC 95%)**	**Valor P**
Fumador activo				
Mujeres				
Controles	268 (78,8)	72 (2,2)	Referencia	
Casos ≥45 años	100 (80,6)	24 (19,4)	0,893 (0,533-1,496)	0,7641
Casos <45 años	74 (88,1)	10 (11,9)	0,503 (0,247-1,023)	0,0764
Total Casos	174 (83,7)	34 (16,3)	0,727 (0,464-1,141)	0,2017
Hombres				
Controles	62 (59,6)	42 (40,4)	Referencia	
Casos ≥45 años	12 (48)	13 (52)	1,599 (0,665-3,844)	0,4062
Casos <45 años	17 (85)	3 (15)	0,261 (0,072-0,945)	0,0564
Total Casos	29 (64,4)	16 (35,6)	0,815 (0,394-1,682)	0,7083
Fumador pasivo				
Mujeres				
Controles	145 (79,2)	38 (20,8)	Referencia	
Casos ≥45 años	91 (73,4)	33 (26,6)	1,384 (0,810-2,363)	0,2921
Casos <45 años	56 (66,7)	28 (33,3)	1,908 (1,071-3,399)	**0,0395**
Total Casos	147 (70,7)	61 (29,3)	1,583 (0,994-2,522)	0,0680
Hombres				
Controles	49 (73,1)	18 (26,9)	Referencia	
Casos ≥45 años	13 (52)	12 (48)	2,513 (0,969-6,514)	0,0943
Casos <45 años	15 (75)	5 (25)	0,907 (0,288-2,858)	0,8875
Total Casos	28 (62,2)	17 (37,8)	1,653 (0,736-3,713)	0,3102

Se resaltan en negrillas los valores P con corrección de Yates, significativos al 95% de confianza.

En los resultados del equipo de Kabat (2012), se evidencia una modesta disminución del riesgo en mujeres que consumían más de 40 paquetes de cigarrillos anuales (HR= 0,35; IC 95% 0,21-0,89) y quienes fumaron por más de 30 años (HR= 1,49; IC 95% 1,05-2,12), no obstante, este trabajo reporta un incremento en quienes fumaron por menos de 20 años (HR= 1,47; IC 95% 1,12-1,93) haciendo los datos poco congruentes, también, para pacientes de Nueva Caledonia, se reportó una leve disminución del riesgo de cáncer en fumadores de 10 a 20 paquetes de cigarrillos diarios y consumidores frecuentes de alcohol, aunque sin significancia estadística (Guignard, Truong, Rougier, Baron-dubourdieu, & Guénel, 2007).

De otra parte, se ha reportado asociación con la disminución del riesgo de padecer cáncer de tiroides para fumadores en estudios de casos y controles de Francia (OR= 0,7; IC 95% 0,6-0,9) (Xhaard et al., 2014), así como para Estados Unidos, donde se reporta un OR de 0,7 (IC 95% 0,5-0,9) en fumadores y 0,7 (IC 95% 0,5-1) en consumidores de más de 12 tragos de alcohol anuales, los autores sugieren que este resultado se relaciona con un una disminución de la proliferación celular afectada por el cambio en los niveles de hormonas tiroideas y el estrógeno, no obstante, en este estudio se destaca que el riesgo de cáncer aumenta en ex-fumadores (Rossing, Voigt, Wicklund, & Daling, 2000). También para la población estadounidense, se encontró que los fumadores frecuentes que no beben (HR= 0,46; IC 95% 0,29-0,73) y los consumidores de más de una bebida alcohólica semanal no fumadores (HR= 0,7; IC 95% 0,56-0,87) presentan una disminución del riesgo de cáncer de tiroides, pero quienes además de fumar consumían bebidas alcohólicas no la presentaron (Kitahara, Linet, Beane Freeman, et al., 2012). Meinhold y colaboradores (2009) obtuvieron datos similares con un de RR de 0,33 (IC 95% 0,16-0,71) para consumidores de más de dos bebidas alcohólicas diarias no fumadores y 0,78 (IC 95% 0,51-1,19) para los consumidores de alcohol y fumadores. Kalezic y colaboradores en 2013, reportaron un OR de 0.46 (IC 95% 0,20-0,90) para cáncer medular de tiroides esporádico (sMTC) en fumadores.

En Kuwait, y otros países del golfo pérsico, donde el cáncer de tiroides es el segundo en incidencia en mujeres, se encontró que el consumo de cigarrillo incrementa el riesgo de padecer la enfermedad (OR= 2,1; IC 95% 0,9-5,3) (Memon et al., 2002).

7.1.6. Menarquia: La distribución de casos y controles de acuerdo a la edad de la menarquia se presenta en el anexo J, el promedio fue 13,7 años en controles y 13,3 en casos (13,3 en PTC, 13,6 en FTC y 12,1 MTC), por lo tanto, se tomó como referencia el rango entre 13 y 14 años para la estimación del riesgo. Se encontró que las mujeres que presentaron menarquia a una edad menor o igual a 12 años presentan un incremento del riesgo de 1,57 y este incrementa a un poco más del doble para casos diagnosticados antes de los 45 años. Presentar la menarquia partir de los 15 años no representa un incremento o disminución significativa del riesgo (Tabla 11). Se reportan resultados similares para mujeres de Estados Unidos con OR de 1,5 (IC 95% 1, 1-2,3) con menarquia anterior a los 12 años y no significativo para las demás comparaciones, incluyendo las que menstruaron por primera vez después de los 15 años (OR= 1,2; IC 95% 0,84-1,8) (Sakoda & Horn-Ross, 2002), así como para Tailandia, donde se presenta mayor incidencia de cáncer en mujeres con menarquia temprana, anterior a 12 años (Sungwalee, Vatanasapt, Kamsa-Ard, Suwanrungruang, & Promthet, 2013) y Francia donde la menarquia entre 9 y 11 años represento un incremento en el riesgo con OR de 1,3 (IC 95% 1,0-1,8) (Xhaard et al., 2014). También se ha reportado incremento en mujeres con menarquia después de los 14 años con OR= 2,77; CI 95% 1,33-6,28 (Kalezic, *et al*., 2013), 15 años con OR de 1,2 (IC 95% 1,0-1,4; Negri, *et al*., 1999) y OR de 2,63 (IC 95% 1,15-5,88; Zivaljevic, *et al*., 2014) o superior a 16 años con OR de 1,7 con IC 95% de 1,0 a 3,0 (Rossing et al., 2000).

La edad de la menarquia no presentó asociación con el riesgo de CT en los estudios llevados a cabo por los equipos de Akslen (1992) en Noruega, Iribarren (2001) y Mack (1999) en Estados Unidos, Memon (2002) en Kuwait, Navarro (2005) en Canadá y Truong (2005) en Nueva Caledonia.

Tabla 11. Análisis estadístico de la edad de la menarquia en casos y controles Porcentaje de controles y pacientes, según la edad de la menarquia.

	n (%)	n (%)	OR (95%)	Valor P
	≤12 n	**13-14**		
Controles	69 (34,7)	130 (65,3)	Referencia	
Casos mayor	35 (38,5)	56 (61,5)	1,177 (0,705-1,968)	0,6242
Casos menor	34 (55,7)	27 (44,3)	2,373 (1,324-4,252)	**0,0052**
Casos Total	69 (45,4)	83 (54,6)	1,566 (1,016-2,414)	**0,0416**
	≥15	**13-14**		
Controles	87 (40,1)	130 (59,9)	Referencia	
Casos mayor	31 (35,6)	56 (64,4)	0,827 (0,494-1,386)	0,5541
Casos menor	16 (37,2)	27 (62,8)	0,886 (0,451-1,739)	0,8625
Casos Total	47 (36,2)	83 (63,8)	0,846 (0,540-1,326)	0,5376

Se resaltan en negrillas los valores P con corrección de Yates, significativos al 95% de confianza.

Peterson y colaboradores en 2012, realizaron una revisión con datos de 37 estudios y encontraron que el embarazo, el uso de anticonceptivos, el uso de estrógenos y la terapia de reemplazo hormonal no representan un incremento o disminución significativa del riesgo de cáncer de tiroides, pero existe un leve incremento en mujeres con ciclos menstruales irregulares (IC 95% 1,0-1,9).

La tiroides se agranda durante el ciclo menstrual y además se ha demostrado que el estrógeno 17β-estradiol tiene un efecto promotor del crecimiento de células tumorales principalmente por la vía de receptores de estrógeno presentes en los tejidos tiroideos (Truong, *et al*., 2005).

7.1.7. Embarazo**:** La comparación de número de embarazos (Anexo K), se realizó únicamente para las mujeres con PTC mayores de 35 años. Sin embargo, las comparaciones entre nulíparas versus mujeres con uno o más hijos nacidos vivos y nulíparas versus mujeres con más de 5 hijos, no arrojaron diferencias significativas entre

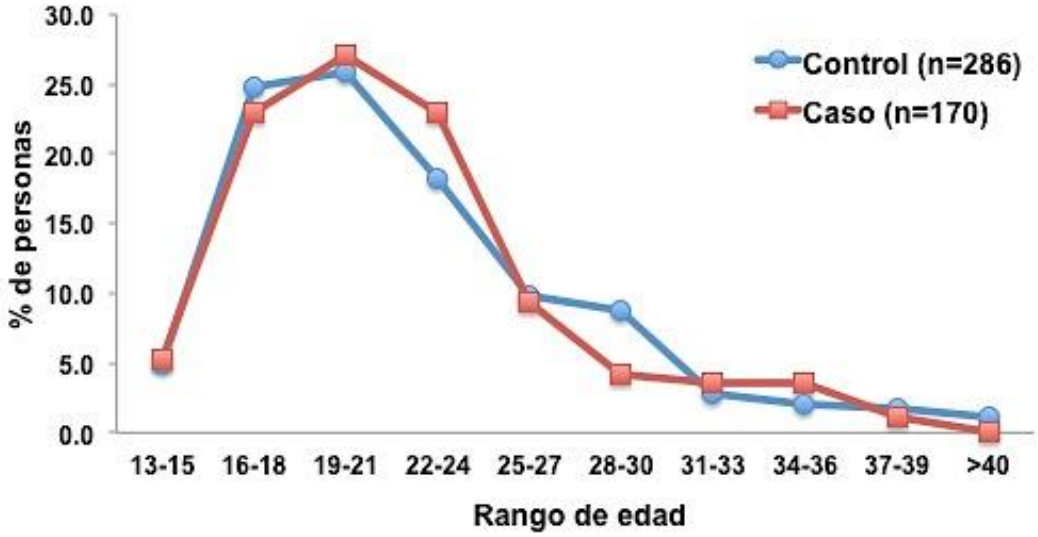
casos y controles, por lo tanto, no se evidencia una asociación con el riesgo (Anexo L). Resultados similares se han presentado para mujeres de Estados Unidos (McTiernan, *et al*., 1984; Kolonel, *et al*., 1990; Mack, *et al*., 1999; Rossing, *et al*., 2000, Iribarren, *et al*., 2001, Sakoda & Horn-Ross, 2002), Suiza (Levi, *et al*., 1993), China (Preston-Martin, *et al*., 1983), Italia (Franceschi, *et al*., 1990), Suecia y Noruega (Galanti, *et al*., 1996), Serbia (Zivaljevic, *et al*., 2014) y Nueva Caledonia (Truong, *et al*., 2005), donde a pesar de reportar OR diferentes a 1 no se presenta significancia estadística. Sin embargo, cabe mencionar que para Francia (OR= 1,9 IC95% 1,0-3,4) (Xhaard, *et al*., 2014) y Estados Unidos (OR= 3,0 IC 95% 1,3-7,0) (Preston-Martin, *et al*., 1987), se reporta un incremento significativo del riesgo en mujeres con más de 3 embarazos respecto a las nulíparas, y un incremento mayor en mujeres que presentaron abortos naturales (OR= 11,5 IC 95% 2,3-112,0), lo cual también se reporta para Hawái, donde el análisis combinado de mujeres que abortaron su primer hijo y presentaron ingesta alta de yodo mostró un incremento significativos del riesgo (OR 4,8 IC 95% 1,2 y 19,2) (Kolonel, *et al*., 1990), mientras que para mujeres de Noruega (Kravdal, *et al*., 1991), Canadá (Navarro, *et al*., 2005) y Japón (Negri, *et al*., año 1999), tener 5 o más hijos representó un menor riesgo de cáncer respecto a las nulíparas.

La edad del primer embarazo, para los controles fue en promedio a los 22,1 años y para los casos a los 22,8 años (21,7 en PTC, 23,6 en FTC y 22,2 en MTC), en los controles el rango con mayor frecuencia fue de 18 a 22 años, por lo tanto, se tomó como referencia. No se encontró una reducción o incremento significativo en el riesgo en la comparación de pacientes y controles respecto a una edad temprana de embarazo (13-17 años), ni a una edad superior al rango promedio (23-27 o ≥28 años) (Anexo L).

Se ha reportado que las mujeres que tuvieron su primer embarazo a edad inferior a 24 años (Memon, *et al*., 2002) o 20 años (Negri, *et al*., 1999) respecto a las mayores de 30 años, reportan una disminución significativa en el riesgo y que mujeres que presentaron su primer embarazo a edad mayor o igual a 30 años lo incrementaron (OR= 4,7; IC 95% 1,2-18,7) (Sakoda & Horn-Ross, 2002). Contrario a estos resultados, las menores de 19 presentaron un incremento del riesgo (OR= 2,96; 95% CI 1,26-6,96) en el estudio del

equipo de Zivaljevic (2014). Sin embargo, de acuerdo con nuestros datos, el porcentaje de mujeres por rango de edad a la que tuvieron su primer hijo es similar entre casos y controles (Figura 3), lo cual es congruente con lo reportado por Rossing, *et al*., 2000.

Figura 3. Porcentaje de casos y controles según edad del primer embarazo.



Fuente: la autora

En el estudio de Iribarren y colaboradores (2001), no se presenta relación significativa con la paridad (RR en nulíparas vs 1 o 2 embarazos a término 1,01 IC 95% 0,71-1,69 y nulíparas vs 3 o más embarazos 0,38; IC 95% 0,07-1,64), edad de la menarquia (RR <12 vs. 13-14 años= 1,13; IC 95% 0,71-1,80; RR >15 vs.13-14 años= 0,80, IC 95% 0,42-1,51) ni planificación hormonal (RR= 1,07; IC 95% 0,69-1,67). Tampoco se encontró asociación entre el cáncer papilar de tiroides y la historia familiar de enfermedades tiroideas (RR multivariado= 1,43; IC 95% 0,63-3,27), pero si para cáncer folicular donde el riesgo aumenta significativamente en presencia de historial de bocio (RR= 7,03; IC 95% 2,45-20,3) e historia familiar de enfermedades tiroideas (RR= 8,63; IC 95% 3,08-24,13).

En Estados Unidos se evaluó la asociación del cáncer de tiroides respecto a la edad de la menarquia, la regularidad de los ciclos menstruales, la edad de la menopausia, el uso

de anticonceptivos y el historial de embarazos, encontrando un incremento en el riesgo únicamente en mujeres que presentaron embarazos que no llegaron a término (RR 1,9; IC 95% 1-3,8; valor P <0,01), abortos involuntarios (RR 2,7; IC 95% 1.1-7; valor P <0,01) y uso de anticonceptivos orales (RR 2,4; IC 95% 1,1-5,7; valor P <0,01) (Preston-Martin, *et al*., 1987).

7.1.8. Lactancia**:** Los niveles altos de estrógeno, gonadotropina coriónica y hormona estimulante de la tiroides (TSH), durante el embarazo pueden promover el crecimiento tumoral, lo cual podría explicar la mayor incidencia de cáncer en mujeres durante la edad reproductiva (Truong, *et al*., 2005). La gonadotropina coriónica es similar estructuralmente a la TSH y puede interactuar con el receptor de TSH, además, la respuesta inmunológica cambia durante el embarazo y lactancia (Rossing, *et al*., 2000), lo cual puede afectar el crecimiento de células malignas (Preston-Martin, *et al*., 1987). Rossing y colaboradores (2000), encontraron que el riesgo de cáncer de tiroides es mayor en mujeres que lactaron recientemente (comparando las mujeres que lactaron por última vez hacía más de 10 años, respecto a quienes lo hicieron hacía menos de un año, OR= 2,5; IC 95% 1,1-5,5) y quienes lactaron durante más meses (durante menos de un año respecto a mayor o igual a 12 meses OR= 2,9; IC 95% 1,5-5,5). Resultados opuestos se reportan para mujeres de Francia, donde existe una reducción del riesgo de cáncer de tiroides (OR= 0,3; IC 95% 0,1-0,7) en mujeres que lactaron por más de 4 meses respecto a las que no, además, el riesgo se incrementa cuando se usan supresores de la lactancia (OR= 2,2; IC 95% 1,1-4,4) (Xhaard, *et al*., 2014), no obstante, de acuerdo con nuestros datos, la lactancia no representa un factor de riesgo en la muestra colombiana con OR de 0,769 (Anexo M).

7.1.9. Planificación hormonal: En la muestra colombiana, representa un factor de riesgo incrementando la probabilidad de presentar cáncer de tiroides a casi el doble (Tabla 12), superior a lo reportado por La Vecchia y colaboradores (1999) en un análisis de datos para mujeres de Norte América, Asia y Europa, donde el consumo de anticonceptivos orales incrementa el riesgo con OR de 1,2 (IC 95% 1,0-1,4), los autores no encontraron relación entre la duración, edad del inicio o uso anterior al primer embarazo, pero si frente

a la frecuencia de consumo (OR= 1,5; IC 95% 1,0-2,1) y reportan una asociación más fuerte respecto a PTC (OR= 1,6). Preston-Martin y colaboradores en 1993, encontraron un incremento en el riesgo de cáncer de tiroides en mujeres de China con OR de 1,7 (IC 95% 1,0-3,7). Schonfeld y colaboradores en 2011, reportan, para mujeres de Estados Unidos, un OR de 1,23 (IC 95% 0,93-1,65) para mujeres que consumen anticonceptivos orales con regularidad, siendo más fuerte para mujeres menores de 35 años (1,39) pero no en mujeres entre 36 y 55 años (OR= 1,04), además, encontraron un OR de 1,38 (IC 95% 1,07-1,79) para uso de terapia de remplazo hormonal en la menopausia. Sin embargo, estos datos difieren de los reportados para mujeres de Serbia, donde ni los anticonceptivos orales ni la terapia de estrógeno presentan diferencias en la comparación de casos y controles (P= 0,509 y P= 0,668 respectivamente) (Zivaljevic, *et al*., 2014).

Tabla 12. Planificación hormonal y relación con el riesgo de padecer cáncer papilar de tiroides.

	Control	**PTC**		**FTC**		**MTC**
Planificación	**≥50**	**≥45**	**<45**	**≥45**	**<45**	**≥45**
Si	87 (29,8)	52 (45,6)	39 (50,6)	3 (42,9)	4 (66,7)	0
No	205 (70,2)	62 (54,4)	38 (49,4)	4 (57,1)	2 (33,3)	2 (100)

Planificación	**Si**	**No**	**OR (IC 95%)**	**Valor P**
Control	87 (29,8)	205 (70,2)	Referencia	
Caso ≥45	55 (44,7)	68 (55,3)	1,906 (1,234-2,945)	**0,00492**
Caso <45	43 (51,8)	40 (48,2)	2,533 (1,539-4,169)	**0,00033**
Total Casos	98 (47,6)	108 (52,4)	2,138 (1,475-3,099)	**0,00007**

Se resaltan en negrillas los valores P con corrección de Yates, significativos al 95% de confianza.

Sungwalee y colaboradores (2013), encontraron un incremento significativo del riesgo de cáncer papilar y folicular de tiroides en mujeres de Tailandia que consumen anticonceptivos, que podría estar asociado a la larga exposición a estrógeno, el cual,

además tiene una incidencia en el incremento de la proliferación, migración e invasividad de células derivadas de tumores tiroideos.

El estudio de Kolonel y colaboradores (1990) atribuye un incremento de 7,3 (IC 95% 1,5-34,5) del riesgo de cáncer de tiroides en mujeres con dieta alta en yodo y consumo de medicamentos para la fertilidad en mujeres de Hawái. El uso de hormonas para inducir la labor de parto incrementó el riesgo con OR de 3,4 (1,0-14,9) (Mack, *et al*., 1999). El incremento del riesgo puede deberse a los altos niveles de TSH, que presentan las mujeres que usan anticonceptivos orales respecto a quienes tienen un ciclo menstrual normal (Memon, *et al*., 2002), además, se ha reportado que mujeres en embarazo o consumidoras de anticonceptivos hormonales tienen una elevada tasa de rotura de cromosomas e intercambio entre cromátides hermanas lo que puede incrementar la probabilidad de errores (Hundal, *et al*., 1997; Dillon, *et al*., 2012).

Tanto la hormona luteinizante, como la gonadotropina coriónica, la folículo-estimulante y la estimulante de la tiroides, tienen la misma subunidad α codificada por el mismo gen, por tal razón, los eventos reproductivos están fuertemente relacionados con el desarrollo de carcinoma diferenciado de tiroides, además, el rol del estrógeno y sus receptores afectan la tumorigenesis y su progresión, se ha demostrado en experimentos *in vitro* que el estradiol estimula la proliferación de células con carcinoma papilar de tiroides (Tafani et al., 2014; Xhaard et al., 2014).

7.1.10. Menopausia**:** La distribución de controles y pacientes según el tipo y edad de la menopausia, entendida como cese permanente de la menstruación, se presenta en el anexo N. En 48 controles, la menopausia fue causada por histerectomía (15,1%), en 3 por histerectomía y extirpación de ovarios (0,9%) y 11 reportan únicamente que no fue natural (3,6%), para un total de 20,4% controles con menopausia no funcional ocurrida a una edad promedio de 43,3 años. Dentro de los casos de PTC, 42 (21,8%) presentaron menopausia como resultado de histerectomía y se destaca que en 29 ocurrió antes del diagnóstico de cáncer y 5 después (8 no reportan edad); 10 (5,2%) reportaron histerectomía y extirpación de ovarios antes del diagnóstico de cáncer, 3 (1,6%) por

radioterapia y 4 (2,1%) no declaran la causa de la menopausia pero fue anterior al diagnóstico. El promedio de edad de la menopausia no funcional en casos PTC fue a los 42,3 años. Los casos de MTC presentaron menopausia a los 42 (por histerectomía anterior al diagnóstico de cáncer) y 55 años (histerectomía posterior al diagnóstico). No se encontraron diferencias significativas en la edad a la que se presentó la menopausia natural en casos y controles, por lo tanto, al hacer la comparación respecto al rango promedio de 48 a 51 años, no se evidenció una asociación entre la edad de la menopausia natural y el riesgo de padecer cáncer de tiroides (Tablas 13 y 14).

Se encontró una asociación significativa en la presencia de menopausia no funcional y un riesgo cuatro veces superior respecto a quienes la presentaron de manera natural, tanto para el CT en general (Tabla 13), como los casos de PTC (Tabla 14). En un análisis combinando de datos de Estados Unidos, Japón y Europa, se encontró que el riesgo se incrementa, con OR de 1,8 (IC 95% 1,4-2,4), al comparar mujeres con menopausia natural respecto a menopausia no funcional, no obstante, la edad no representó un cambio en el riesgo (Negri, *et al.,* 1999), tal como sucede en nuestro estudio al comparar, dentro de los casos y controles con menopausia no funcional, los que la presentaron antes o después de los 45 años (OR= 1,338; IC 95% 0,575-3,112) y entre 41 y 50 versus los menores de 40 años (OR= 0,579; IC 95% 0,231-1,453), o mayores de 51 (OR= 1,863; IC 95% 0,558-6,217). En nuestro estudio, usando como referencia el rango de 48 a 51 años, se calcula un riesgo cinco veces mayor en quienes tuvieron menopausia no funcional a los 35 años o menos; más del doble en las menores de 40 años y ocho veces mayor en los casos de menopausia no funcional en mujeres mayores de 51 años.

Los fibromas uterinos inducidos por exceso de producción de progesterona, son una causa de histerectomía (Truong, *et al*., 2005), por tanto, dicha operación quirúrgica puede ser un indicador de desórdenes menstruales prolongados relacionados con el cáncer de tiroides. Además, la menopausia a una edad inferior a 45 años se considera precoz y si ocurre antes de los 40 años, se relaciona con fallo ovárico, en contraste, si se presenta después de los 55 años se considera tardía (Sánchez-Borrego, *et al.,* 2009).

Tabla 13. Menopausia y relación con el riesgo de padecer cáncer de tiroides.

	Caso *n (%)*	**Control** *n (%)*	**OR (IC 95%)**	**Valor P**
Menopausia				
Natural	61 (29,3)	242 (76,3)	Referencia	
No funcional	61 (29,3)	62 (19,6)	4,241 (2,689-6,691)	**3,853E-10**
Pre-menopausia	86 (41,3)	13 (4,1)		
Edad de la Menopausia natural				
48-51	22 (40)	104 (43)	Referencia	
<44	5 (9,1)	26 (10,7)	0,909 (0,314-2,629)	0,9203
45-47	13 (23,6)	52 (21,5)	1,182 (0,552-2,533)	0,8231
<47	18 (32,7)	78 (32,2)	1,091 (0,548-2,172)	0,9203
52-54	12 (21,8)	33 (13,6)	1,719 (0,769-3,845)	0,2674
55-57	3 (5,5)	27 (11,2)	0,525 (0,146-1,886)	0,4138
>52	15 (27,3)	60 (24,8)	1,182 (0,57-2,45)	0,7913
Edad menopausia no funcional				
M. Natural (48-51)	22 (40)	104 (43)	Referencia	
≤35	6 (14)	5 (9,6)	5,673 (1,589-20,26)	**0,0097**
36-40	8 (18,6)	22 (42,3)	1,719 (0,678-4,360)	0,3711
41-45	11 (25,6)	7 (13,5)	7,429 (2,591-21,3)	**0,0002**
46-50	7 (16,3)	12 (23,1)	2,758 (0,975-7,797)	0,0646
≥51	11 (25,6)	6 (11,5)	8,667 (2,897-25,93)	**0,0001**
≤40	14 (32,6)	27 (51,9)	2,451 (1,109-5,415)	**0,0416**
41-50	18 (41,9)	19 (36,5)	4,479 (2,029-9,887)	**0,0003**
≥51	11 (25,6)	6 (11,5)	8,667 (2,897-25,93)	**0,0001**
≤45	25 (58,1)	34 (65,4)	3,476 (1,741-6,941)	**0,0005**
≥46	18 (41,9)	18 (34,6)	4,727 (2,126-10,51)	**0,0002**

Se resaltan en negrillas los valores P con corrección de Yates, significativos al 95% de confianza.

Tabla 14. Menopausia y relación con el riesgo de padecer cáncer papilar de tiroides.

	PTC *n (%)*	Control *n (%)*	OR (IC 95%)	Valor P
Menopausia				
Natural	55 (28,5)	242 (76,3)	Referencia	
No funcional	59 (30,6)	62 (19,6)	4,549 (2,856-7,248)	**1,29E-10**
Pre-menopausia	79 (40,9)	13 (4,1)		
Edad de la menopausia no funcional				
M. Natural (48-51)	20 (40)	104 (43)	Referencia	
≤35	6 (14,6)	5 (9,6)	6,24 (1,736-22,44)	**0,0069**
36-40	8 (19,5)	22 (42,3)	1,891 (0,739-4,841)	0,2815
41-45	10 (24,4)	7 (13,5)	7,429 (2,528-21,83)	**0,0003**
46-50	7 (17,1)	12 (23,1)	3,033 (1,064-8,649)	**0,0533**
≥51	10 (24,4)	6 (11,5)	8,667 (2,829-26,55)	**0,0002**
≤40	14 (34,1)	27 (51,9)	2,696 (1,207-6,022)	**0,0245**
41-50	17 (41,5)	19 (36,5)	4,652 (2,068-10,466)	**0,0002**
≥51	10 (24,4)	6 (11,5)	8,667 (2,829-26,55)	**0,0002**
≤45	24 (58,5)	34 (65,4)	3,671 (1,807-7,455)	**0,0004**
≥46	17 (41,5)	18 (34,6)	4,911 (2,168-11,124)	**0,0002**

Se resaltan en negrillas los valores P con corrección de Yates, significativos al 95% de confianza.

Similar a nuestros resultados, la histerectomía como causa de la menopausia presentó relación con el carcinoma de tiroides en la población de Estados Unidos, con un OR de 1,8 (IC 95% 1,1-3,0), respecto a la menopausia natural, además, dicho riesgo fue mayor en los casos de ooforectomía bilateral (OR= 2,2; IC 95% 1,3-4,0), y realizando la comparación respecto a la edad promedio, la histerectomía entre los 31 y 40 años de edad presentó un OR de 2.0 (IC 95% 1,1-3,9) (Rossing, *et al*., 2000). Mack, *et al*.,1999, reporta un OR de 1,9 (IC 95% 1,0-3,8) para histerectomía y OR de 6,5 (IC 95% 1,1-38,1) para histerectomía con ooforectomía bilateral.

En pacientes de Kuwait (Asia Occidental), Memon y colaboradores (2002), encontraron un posible incremento en el riesgo en mujeres con histerectomía y ooforectomía (OR= 3,1 IC 95% 0,6-31,0) aunque sin significancia estadística por el tamaño de la muestra. En Suiza el análisis de factores reproductivos y hormonales muestra un OR de 2,8 (IC 95% 1,1-7,2) en mujeres que abortaron su primer hijo y 6,3 (IC 95% 1,7-23,2) en mujeres con menopausia no funcional (Levi, *et al*., 1993).

7.2. ANTECEDENTES FAMILIARES DE ADENOCARCINOMAS

Se ha reportado que aproximadamente el 5% de los casos de carcinoma de tiroides no medular (folicular o papilar) tiene un origen familiar (FNMTC), este grupo de casos con agregación familiar se subdivide en los caracterizados por una preponderancia de tumores no tiroidales, asociados con síndromes como la polipósis adenomatosa familiar (PAF) y el síndrome de Cowden y los casos caracterizados por una preponderancia de NMTC en la familia, sin síndromes conocidos (Khan, *et al*., 2010).

Robinson y Orr reportaron el primer caso de gemelos de 24 años afectados por cáncer papilar de tiroides en 1955, desde entonces, se han publicado diversos estudios epidemiológicos acerca de FNMTC y se estima que ocurre entre el 3.8 y 6.8% de los casos de CT originado en las células foliculares (Alsanea, *et al*., 2000). Se sugiere además, que el FNMTC presenta mayor agresividad que el esporádico. Asanea *et al*., 2000, reportan que el 28% de los pacientes analizados presenta un familiar que murió por CT. En la muestra colombiana, excluyendo los melanomas y canceres de posible origen viral (cáncer de cérvix, garganta y recto), se encontró que el 41,5% de los pacientes declaran antecedentes de cáncer en primer y/o segundo grado y de estos, el 35,2% corresponde a pacientes diagnosticados antes de los 45 años. Restringiendo el análisis a los antecedentes de cáncer de colon, estómago, seno, próstata, endometrio y/o tiroides, el porcentaje de casos que declara algún familiar en primer y segundo grado con estos padecimientos es del 28,9% y de estos el 35,6% corresponde a pacientes diagnosticados antes de los 45 años (Anexo O).

La comparación de casos diagnosticados a partir de los 45 años versus los menores, mostró diferencias significativas para los casos con antecedentes de primer grado, incrementando al doble el riesgo para los mayores de 45 años y fue más fuerte para los pacientes que tenían antecedentes en familiares de primer y segundo grado (OR= 4,97) (Tabla 15). No se presentaron diferencias en los antecedentes de cáncer respecto al género del paciente. En un estudio de casos y controles de Estados Unidos, el riesgo fue mayor en pacientes con antecedentes familiares de cáncer de tiroides, colon y leucemia (FRR= 4,04 IC 95% 3,13-5,07 en hombres y FRR= 2,24; IC 95% 1,54-3,08 en mujeres) (Goldgar, *et al*., 1994)

Tabla 15. Cálculo del riesgo en pacientes con o sin antecedentes familiares de cáncer, según edad de diagnóstico y género.

Por edad de diagnóstico	**≥45**	**<45**	**OR (IC 95%)**	**Valor P**
No declara	102 (68,5)	78 (75,0)	Referencia	
Con antecedentes	47 (31,5)	26 (25,0)	1,382 (0,788-2,426)	0,3222
Primer + Primer y segundo grado	29 (19,5)	10 (9,6)	2,2176 (1,020-4,823)	**0,0412**
Segundo grado	18 (12,1)	16 (15,4)	0,860 (0,412-1,794)	0,8231
Primer y segundo grado	13 (8,7)	2 (1,9)	4,971 (1,090-22,673)	**0,0458**

Por género	**Hombre**	**Mujer**	**OR (IC 95%)**	**Valor P**
No declara	32 (71,1)	148 (71,2)	Referencia	
Con antecedentes	13 (28,9)	60 (28,8)	1,002 (0,492-2,040)	0,8625
Primer + Primer y segundo grado	8 (17,8)	31 (14,9)	1,194 (0,502-2,838)	0,8625
Segundo grado	5 (11,1)	29 (13,9)	0,797 (0,287-2,218)	0,8415
Primer y segundo grado	3 (6,7)	12 (5,8)	1,156 (0,308-4,335)	1,0000

Se resaltan en negrillas los valores P con corrección de Yates, significativos al 95% de confianza.

Únicamente 121 personas respondieron la pregunta relacionada con el padecimiento de otras enfermedades tiroideas previas al diagnóstico de cáncer (Tabla 16) y, de ellas, 42 (34,7%) pacientes respondieron afirmativamente. En 19 pacientes se presentó hipotiroidismo (42,2%), en 8 hipertiroidismo (19%) y en 15 bocio tiroideo (35,7%). No se logró establecer si existen diferencias en el riesgo, dependientes de la edad, posiblemente debido al bajo número de pacientes que fueron encuestados respecto a este aspecto. Cabe destacar que se reportaron tumores benignos en 37 pacientes y dos otro tipo de cáncer. Aunque no se cuenta con un tamaño de muestra suficiente para realizar el análisis estadístico por tipo, la comparación del total de reportes no muestra asociación con el cáncer de tiroides (Tabla 16).

En mujeres de Italia se encontró un incremento en el riesgo de padecer cáncer de tiroides en las pacientes con antecedentes familiares de cáncer de tiroides en primer grado (RR 1,7; IC 95% 1,1-2,5) y los que presentaron historial de otras enfermedades tiroideas como tiroiditis (RR= 3,7 IC 95% 0,8-16,3), adenoma tiroideo (RR= 31,6; IC 95% 3,3-18,6), bocio (RR= 7,9 IC 95% 3,3-18,6), hipertiroidismo (RR= 4,0 IC 95% 1,4-11,7) e hipotiroidismo (RR= 1,5 IC 95% 5,1-14,8) (D'Avanzo, *et al*., 1995). Para Estados Unidos, se reporta un incremento significativo del riesgo de cáncer en pacientes con antecedentes de nódulos con HR de 4,48 (IC 95% 3,23-6,21) y bocio tiroideo con HR de 2,71 (IC 95% 1,79-4,11) (Kabat, *et al*., 2012).

Presentar antecedentes familiares de enfermedades tiroideas incrementa el riesgo con un OR ajustado de 2,18 (IC 95% 1,17-4,05) en el estudio de Iribarren y colaboradores (2001). Las mujeres que presentaron tiroiditis post-parto se relacionan con un incremento del riesgo de cáncer con OR de 10,2 (IC 95% 2,3-44,8) (Memon, *et al*., 2002). Para cáncer medular de tiroides esporádico, Kalezic y colaboradores en 2013 reportaron un OR de 11,29 (IC 95% 1,16-73,45) en pacientes con historial de bocio o nódulos tiroideos y para pacientes con cáncer de tiroides de Nueva Caledonia, Truong y colaboradores en 2005 reportaron un incremento del riesgo con OR de 5,5 (IC 95% 2,0-14,6) cuando presentaron bocio 5 o más años antes del diagnóstico de cáncer.

Tabla 16. Cálculo del riesgo en pacientes que reportan otra enfermedad.

	<45	≥45	OR (IC 95%)	Valor P
Enfermedad tiroidea				
No	28 (59,6)	51 (68,9)	Referencia	
Si	19 (40,4)	23 (31,1)	1,505 (0,702-3,226)	0,3929
Hipotiroidismo	9 (19,1)	10 (13,5)	1,639 (0,596-4,509)	0,4839
Hipertiroidismo	3 (6,4)	5 (6,8)	1,093 (0,243-4,916)	1,0000
Bocio	7 (14,9)	8 (10,8)	1,594 (0,523-4,857)	0,5967
Otro cáncer				
No	147 (98,7)	99 (95,2)	Referencia	
Si	2 (1,3)	5 (4,8)	0,269 (0,051-1,416)	0.1273
Seno	0	2 (1,9)		
Riñón	1 (0,7)	2 (1,9)		
Útero	0	1 (1,0)		
Piel	1 (0,7)	0		
Tumores benignos				
No	132 (88,6)	84 (80,8)	Referencia	
Si	17 (11,4)	20 (19,2)	0,541 (0,268-1,092)	0,1206
Útero	7 (4,7)	11 (10,6)	0,405 (0,151-1,086)	0,1110
Seno	3 (2,0)	1 (1,0)		
Ovario	1 (0,7)	2 (1,9)		
Colon	2 (1,3)	1 (1,0)		
Piel	1 (0,7)	2 (1,9)		
Boca	0	1 (0,7)		
Vesícula	0	1 (1,0)		
Hipófisis	0	1 (1,0)		
Garganta	1 (0,7)	0		
Pólipo nasal	1 (0,7)	0		
Linfagioma frontal	1 (0,7)	0		

Para pacientes con carcinoma anaplásico de tiroides de Serbia se encontró relación con antecedentes familiares de enfermedades malignas no tiroideas (OR= 4,37; CI 95%= 1,11-17,31) y quienes presentaron bocio (OR= 37,55; IC 95% 4,86-290,11), nódulos tiroideos (OR= 25,33; IC 95%= 5,66-126,65), historial de otras enfermedades tiroideas (OR= 5,51; IC 95% 1,04-29,25) y diabetes (OR= 4,06; IC 95% 1,29-12,81) (Zivaljevic, *et al*., 2014).

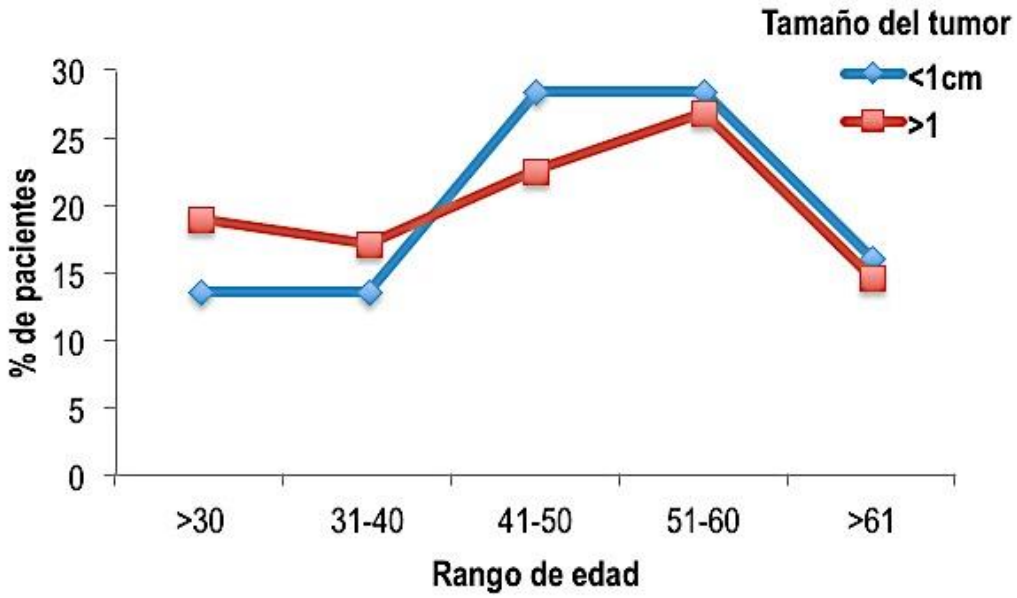
7.3. CARACTERISTICAS DEL TUMOR

El tumor se localizó en uno de los lóbulos tiroideos en más de la mitad de todos los casos (58,9% mujeres y 59,6% de hombres) y fue multifocal en el 36,9 y 36,2% de los casos en mujeres y hombres, respectivamente. La lesión en el istmo ocurrió únicamente en casos de PTC en menos del 5% de pacientes de ambos géneros. El 17,3% de las mujeres y hombres presentaron tumor bilateral. Se destaca que el tumor fue bilateral en 44 mujeres y ocho hombres con PTC y solamente un hombre presentó FTC. La localización del tumor no presentó diferencias significativas en las comparaciones entre géneros ni entre grupos de edad de diagnóstico (Anexo P).

La lesión fue menor a 1cm en el 31,5% de las mujeres y 23,9% de los hombres, constituyendo microcarcinomas. El 48,1% de mujeres y 45,6% de los hombres presentaron tumores mayores a 1cm pero menores a 3cm, el 10,8% de mujeres y 8,7% de hombres presentaron tumores mayores a 3cm pero menores a 4cm y el 9,5% de las mujeres y 21,7% de los hombres presentaron tumores mayores a 4cm (Anexo Q).

No se presentó asociación entre el tamaño del tumor y la edad de diagnóstico (mayor o menor de 45 años), ni en las comparaciones de tamaño de tumor entre géneros (Anexo Q). Además se observó una tendencia similar en el porcentaje de pacientes por rango de edad respecto al tamaño del tumor (Figura 4), esto difiere con lo reportado para Corea, donde la comparación del tamaño del tumor fue significativamente diferente entre pacientes mayores (2,26 +/- 2,2) y menores de 70 años (1,26 +/- 1,17) (P <0,001) (Park, *et al*., 2014).

Figura 4. Distribución del porcentaje de pacientes según el tamaño del tumor y la edad.



Fuente: la autora

El compromiso capsular fue informado en la patología de 92 mujeres y 27 hombres, asumiendo que los demás no presentan dicha característica, esto corresponde al 36,1% de las mujeres y 51,9% de los hombres. No se observaron diferencias en la presencia de compromiso capsular respecto a la edad de diagnóstico, independientemente del tipo histológico y el género. Sin embargo, dado que un mayor porcentaje de hombres presentó compromiso capsular, en este género se encontró un incremento del riesgo con OR de 1,845 (P= 0.076) (Tabla 17, Anexo R).

La invasión vascular fue informada en 61 patologías, de las cuales, 48 corresponden a mujeres y 10 a hombres con PTC y únicamente dos mujeres y un hombre con FTC, por lo tanto, esta complicación se evidenció en el 19,6% de las mujeres y el 21,2% de los hombres con cáncer de tiroides. No se encontraron diferencias significativas en las comparaciones de edad de diagnóstico y género respecto a esta complicación (Tablas17, Anexo R).

Tabla 17. Comparación del riesgo según edad de diagnóstico y género respecto al compromiso capsular, invasión vascular, invasión de ganglios y extensión extra-tiroidea.

	Presente *n (%)*	**Ausente** *n (%)*	**OR (IC 95%)**	**Valor P**
Compromiso capsular				
≥45	66 (38,6)	105 (61,4)	Referencia	
<45	48 (40,0)	72 (60,0)	1,061 (0,658-1,71)	0,9200
PTC ≥45	59 (37,3)	99 (62,7)	Referencia	
PTC <45	45 (39,5)	69 (60,5)	1,094 (0,667-1,795)	0,8230
PTC Hombre	24 (50,0)	24 (50,0)	Referencia	
PTC Mujer	84 (35,1)	155 (64,9)	0,542 (0,29-1,013)	0,0760
			1,845 (0,988-3,447)*	0,0760
Invasión vascular				
≥45	35 (20,5)	136 (79,5)	Referencia	
<45	24 (20,0)	96 (80,0)	0,971 (0,543-1,738)	1,0000
Invasión a ganglios				
≥45	37 (21,6)	134 (78,4)	Referencia	
<45	48 (40,0)	72 (60,0)	2,414 (1,442-4,043)	**0,0010**
PTC ≥45	37 (23,4)	121 (76,6)	Referencia	
PTC <45	48 (42,1)	66 (57,9)	2,378 (1,409-4,014)	**0,0020**
PTC Hombre	20 (41,7)	28 (58,3)	Referencia	
PTC Mujer	71 (29,7)	168 (70,3)	0,592 (0,313-1,119)	0,1450
Extensión extratiroidea				
≥45	28 (16,4)	143 (83,6)	Referencia	
<45	22 (18,3)	98 (81,7)	1,147 (0,62-2,12)	0,7770

* Cálculo con género masculino como factor de riesgo

Se resaltan en negrillas los valores P con corrección de Yates, significativos al 95% de confianza.

La invasión de los ganglios, se presentó únicamente en casos con PTC y con mayor frecuencia en los diagnosticados antes de los 45 años, tanto en mujeres (40,9%) como en hombres (47,6%), por lo tanto, se encontró un incremento del riesgo de invasión a ganglios en las comparaciones de edad de diagnóstico inferior versus superior o igual a 45 años (OR= 2,38) y este incremento se mantiene con significancia estadística al restringir el análisis a los casos de género femenino (OR= 2,50) (Tabla 17).

En 52 patologías de casos con PTC y en una con FTC, se informó la presencia de extensión extratiroidea (Tabla 17). El 16,4% de las mujeres y el 20,8% de los hombres diagnosticados con PTC a edad mayor o igual a 45 años, así como el 17,2% de mujeres y 22,9% de hombres con PTC diagnosticados antes de los 45 años presentaron extensión extratiroidea, pero no se encontraron diferencias significativas en las comparaciones respecto al género y la edad.

Para casos de Corea se reportan diferencias significativas entre la edad (≥70 vs <70) y la extensión extratiroidea (P= 0,001) presente en el 69,2% de los pacientes menores y el 48% de los mayores de 70 años, invasión vascular (P=0,001) presente en el 96,9% de los menores y el 91,8% de los mayores (Park, *et al*., 2014).

7.3.1. Estadificación. En los anexos S y T, se presenta la clasificación de los casos analizados en el presente estudio según la escala de estadiaje del cáncer (TNM) y el grado de diferenciación, de acuerdo con la séptima edición del protocolo de examen de especímenes de pacientes con carcinomas de la glándula tiroidea publicado por el Colegio Americano de Patólogos (CAP) en agosto de 2014 (Seethala, *et al*., 2014).

El porcentaje de pacientes con T1, T2 y T3 fue similar entre casos diagnosticados antes y después de los 45 años, pero se evidencia un mayor número de casos con T4 (A y B) en los menores de 45 años (10,6% en mujeres y 15% en hombres), que en mayores de 45 años (5,1% en mujeres y 4,2% en hombres), esto evidencia una mayor agresividad de la enfermedad en pacientes jóvenes, aunque en pacientes mayores se muestran

tasas menores de supervivencia (Papaleontiou & Haymart, 2014; Wang & Wang, 2013; Eaker, *et al.,* 2006), en este sentido, un análisis retrospectivo realizado para pacientes con carcinoma papilar y folicular de tiroides entre 1988 y 2003, muestra una menor supervivencia en pacientes de edad mayor o igual a 45 años en comparación con los menores de 45 (P<0,0001), además, encontraron un decrecimiento de la supervivencia con cada década adicional a partir de los 35 años (P<0,001) (Oyer, *et al.,* 2012; Papaleontiou & Haymart, 2014).

Dentro de los pacientes menores de 45 pero mayores de 15 años, con estado I (114 casos), el 41,22% presentaron T1 y el 36% T2 ubicándose en la categoría de bajo riesgo de recurrencia o recaída, según la clasificación del riesgo del INC (2011), mientras que el 15% fueron T3 y el 7,9% T4, ubicándose en la categoría de alto riesgo junto con 7 casos menores de 45 años en estado II (presentaron metástasis), 1 caso menor de 11 años con T3, 6 casos mayores de 45 con metástasis, el 24,1% de los casos mayores de 45 con T3 y T4 (A y B) y el 12,4% de casos con T1 o 2 pero N1a (Anexo S y T).

En Estados Unidos el tamaño de los tumores es inferior a 1cm en el 49% e inferior a 2cm en el 87% de los casos de PTC diagnosticados (Wartofsky, 2010), para Colombia, nuestra muestra indica un diagnóstico tardío ya que el tumor es T1 únicamente el 46,9% de los casos y es superior a 2cm o con invasión extratiroidea en el 53,1% restante (27,5% con T2, 20,6% con T3 y 5% T4A y T4B).

Dentro de los casos de PTC diagnosticados antes de los 45 años, 36,6% de las mujeres y el 38,1% de los hombres presentaron N1a y 4,3% de las mujeres y 9,5% de los hombres N1b, el porcentaje disminuyó para los casos diagnosticados después de los 45 años (16,4% mujeres y 33,3% hombres con N1a y 5,2% de mujeres con N1b), por lo tanto, existe mayor riesgo de presentar metástasis a los nódulos linfáticos pretraqueal, paratraqueal y perilangeal (N1a) y cervicales, retrofaringeles o superiores mediastinales (N1b), en pacientes jóvenes (OR= 2.38) y esta asociación es más fuerte al comparar únicamente los casos de género femenino (OR= 2,50) (Tabla 18).

Se evidencia que existe un mayor porcentaje hombres que presentan invasión del tumor en los ganglios a pesar del bajo número de pacientes de este género reclutados, esto coincide con lo reportado para Estados Unidos, donde la supervivencia de los hombres mayores de 55 años fue significativamente menor a la de mujeres en estados I y II (Jonklass, *et al.,* 2012), además, se ha reportado que los pacientes de género masculino presentan mayores tasas de recurrencia y mortalidad, por otro lado, aunque la importancia de la invasión de ganglios ha sido reconocida para la recurrencia y micrometástasis, no se tienen datos claros sobre su relación con la supervivencia (Papaleontiou & Haymart, 2014), en concordancia, en nuestro estudio el 8,3% de los hombres (4 de 44) y 3,3% de las mujeres (8 de 231), presentaron recurrencia (Tabla 18).

El 22,2% de los hombres y 26,4% de las mujeres con PTC, así como el 14,3% de las mujeres con FTC, presentaron tumor con moderado grado de diferenciación, mientras que el 3,6% de las mujeres y 2,8% de los hombres con PTC presentaron mala diferenciación. Sin embargo no se encontró relación significativa entre el género y la edad de diagnóstico respecto al riesgo de presentar moderada (G1) o mala diferenciación (G2) (Anexo T). Los casos de MTC fueron clasificados como bien y moderadamente diferenciados, en estados II y III (Anexo T).

El 7,9% de las mujeres y el 4,8% de los hombres con PTC, menores de 45 años, presentaron metástasis y por lo tanto se clasificaron en estado II. En pacientes diagnosticados a una edad mayor o igual de 45 años, se encontró que el 45% de mujeres y 39,1% de hombres con PTC, así como el 57,1% de mujeres con FTC se encuentran en estado I, el estado II se presentó en el 21,4% de las mujeres y 11,1% de hombres y el estado III en el 25% de las mujeres y 48,1% de hombres con cáncer de tiroides. Los estados IVA y IVC solo ocurrieron en pacientes con PTC (9,1% mujeres y 8,7% hombres) a una edad promedio de 55,7 años.

Tabla 18. Comparación de la clasificación en la escala TNM en pacientes con PTC según la edad de diagnóstico y el género.

	n (%)	*n (%)*	OR (IC 95%)	Valor P
	PTC Mujer	**PTC Hombre**		
T1-T2	171 (86,4)	27 (13,6)	Referencia	
T3-T4	48 (75,0)	16 (25,0)	0,4737 (0,2361-0,9504)	0,0525
NX-N0	168 (85,7)	28 (14,3)	Referencia	
N1a-N1b	71 (78,0)	20 (22,0)	0,592 (0,313-1,119)	0,1450
MX-M0	229 (83,6)	45 (16,4)	Referencia	
M1	10 (76,9)	3 (23,1)	0,655 (0,173-2,475)	0,7020
	PTC <45	**PTC ≥45**		
T1-T 2	74 (39,6)	113 (60,4)	Referencia	
T3-T4	26 (42,6)	35 (57,4)	1,134 (0,631-2,038)	0,7913
NX-N0	66 (35,3)	121 (64,7)	Referencia	
N1a-N1b	48 (56,5)	37 (43,5)	2,378 (1,409-4,014)	**0,0020**
MX-M0	107 (41,3)	152 (58,7)	Referencia	
M1	7 (53,8)	6 (46,2)	1,657 (0,542-5,07)	0,5430
	PTC <45 Mujer	**PTC ≥45 Mujer**		
T1-T 2	63 (38,9)	99 (61,1)	Referencia	
T3-T4	17 (37,0)	29 (63,0)	0,921 (0,468-1,813)	1,0000
NX-N0	55 (34,4)	105 (65,6)	Referencia	
N1a-N1b	38 (56,7)	29 (43,3)	2,502 (1,396-4,482)	**0,0030**
MX-M0	87 (40,1)	130 (59,9)	Referencia	
M1	6 (60,0)	4 (40,0)	2,241 (0,615-8,175)	0,3240

Se resaltan en negrillas los valores P con corrección de Yates, significativos al 95% de confianza.

Tabla 19. Casos de PTC con recurrencia o metástasis y asociación con el riesgo respecto a la edad y género.

	n (%)	n (%)	OR (IC 95%)	Valor P
Recurrencia				
	PTC <45	**PTC ≥45**		
No declara	111 (97,4)	150 (94,9)	Referencia	
Si	3 (2,6)	8 (5,1)	0,507 (0,131-1,954)	0,368
	PTC Mujer	**PTC Hombre**		
No declara	231 (96,6)	44 (91,7)	Referencia	
Si	8 (3,4)	4 (8,3)	0,381 (0,11-1,32)	0,228
	PTC <45 Mujer	**PTC ≥45 Mujer**		
No declara	91 (97,8)	129 (96,3)	Referencia	
Si	2 (2,2)	5 (3,7)	0,567 (0,108-2,987)	0,703
Metástasis				
	PTC <45	**PTC ≥45**		
No declara	107 (93,9)	152 (96,2)	Referencia	
Si	7 (6,1)	6 (3,8)	1,657 (0,542-5,07)	0,543
	PTC Mujer	**PTC Hombre**		
No declara	229 (95,8)	45 (93,7)	Referencia	
Si	10 (4,2)	3 (6,3)	0,655 (0,173-2,475)	0,702
	PTC <45 Mujer	**PTC ≥45 Mujer**		
No declara	87 (93,5)	130 (97,0)	Referencia	
Si	6 (6,5)	4 (3,0)	2,241 (0,615-8,175)	0,324

Doce casos de PTC reportaron recurrencia de la enfermedad y, aunque fue más frecuente en casos mayores de 45 años (8 casos), no se encontró incremento o disminución del riesgo respecto a la edad o género de los pacientes. Se reporta

metástasis únicamente en casos de carcinoma papilar de tiroides de los cuales 10 corresponden a mujeres y 3 a hombres, los lugares de metástasis fueron los pulmones (6 casos), el cuello (3 casos), los huesos (2 casos), cuero cabelludo y muslo (1 caso) y mediastino (1 caso). No se presentaron diferencias entre la edad o género respecto al riesgo de presentar metástasis o recurrencia (Tabla 19).

7.4. ANÁLISIS MOLECULARES

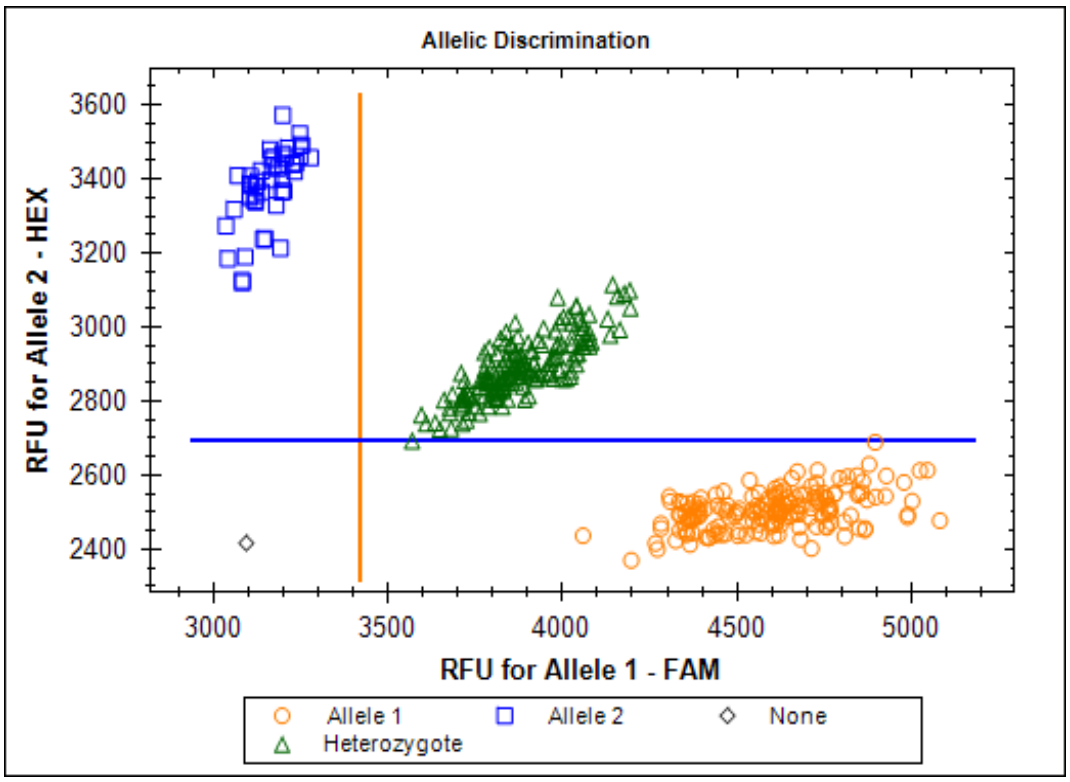
El cáncer es una consecuencia de la acumulación de alteraciones genéticas, en su mayoría de tipo somático y, afortunadamente, en solo aproximadamente un 5% de tipo germinal, por lo tanto, el entendimiento de cómo esos cambios afectan el estado de la enfermedad ofrece una esperanza en el desarrollo de nuevos y mejores tratamientos y provee una mejora en el pronóstico (Vu-Phan & Koenig, 2014). En este sentido, se realizó la tipificación de 7 SNPs en muestras de ADN obtenido a partir de sangre de pacientes y controles sanos y el análisis de la secuencia nucleotídica del exón 15 del gen BRAF en muestras de ADN obtenido a partir de tejido tumoral tiroideo.

7.4.1. Polimorfismos y riesgo de cáncer de tiroides. Se realizó la genotipificación aleloespecifica de los SNPs: rs1867277, rs965513, rs944289, rs116909374, rs2439302, rs966423 y rs6983267 en sangre de 253 casos y 781 controles sanos, pareados con los casos por género y lugar de origen en relación 3:1. Sin embargo, el análisis se restringió a los casos de carcinoma no-medular, teniendo en cuenta que el MTC se origina en un linaje diferente de células (células C o parafoliculares) envueltas en la producción de calcitonina (Randolph & Maniar, 2000) y que solo se presentó en dos casos, por lo tanto, se incluyeron 235 casos con PTC y 16 con FTC.

De acuerdo con la prueba de X^2, las distribuciones de los genotipos observados no fueron estadísticamente diferentes de las esperadas, tanto para los casos como los controles, por lo tanto, se encuentran en Equilibrio de Hardy Weinberg para todos los SNPs (Anexo

U), excepto para el rs966423 (2q35). Se destaca que para dicho SNP se descartaron posibles errores en la técnica de tipificación, ya que los gráficos de dispersión de los genotipos obtenidos mediante el sistema KASP, muestran una buena diferenciación entre los homocigotos y heterocigotos (Figura 5), además, estos resultados se compararon con los obtenidos para 372 muestras tipificadas con el sistema Illumina (controles del "Proyecto CHIBCHA"), sin encontrar diferencias en los datos.

Figura 5. Discriminación alélica para el SNP rs966423 (2q35) con sistema de genotipificación KASP.



Valores en los ejes: Unidades de fluorescencia relativa (RFU, por sus siglas en inglés) para los fluorocromo FAM (6-carboxifluoresceína) y HEX (hexacloro-6-carboxifluoresceína)

Círculos naranja: Homocigotos GG, Cuadros azules: Homocigotos AA, Triángulos verdes: Heterocigotos GA, Rombo negro: Control negativo.

Fuente: la autora

El rs966423 reportado por Gudmundsson y colaboradores en 2012, presentó una asociación significativa con el riesgo de cáncer de tiroides (CT) en poblaciones Europeas con un OR de 1,34 (IC 95% 1,22-1,47; P= 1,3x10-9), pero no será analizado respecto al riesgo en la muestra Colombiana dada su desviación del equilibrio de Hardy Weinberg puede deberse a factores que afecten las frecuencias del alelo de riesgo que no relacionados con la presencia de CT como la selección de a favor de variantes en el mismo bloque de ligamiento o un tamaño de muestra insuficiente (Sen & Burmeister, 2008; Wittke-Thompson, Pluzhnikov, & Cox, 2005).

Existen diferencias importantes en el riesgo conferido a cada SNP, respecto al origen étnico de las muestras y cada población presenta mayor o menor riesgo según su ancestría, en este sentido, Zhu y colaboradores (2014) realizaron un meta-análisis con 12 estudios para rs965513 y 7 para rs1867277, para un total de 9.828 casos de CT y 109.995, de los cuales, el 77% fueron clasificados como Caucásicos y el 23% como Este Asiáticos. Los autores reportan un OR de 2,17 (IC 95% 1,86–2,57; $P<10^{-5}$) en heterocigotos y 2,95 (IC 95% 2,29–3,94; $P<10^{-5}$) en homocigotos para el alelo A de rs965513, no obstante, se presenta una alta heterogeneidad entre estudios (P= 0,001), al realizar la corrección por etnicidad, se encuentra un OR de 1,80; (IC 95% 1,69–1,92; $P<10^{-5}$) en caucásicos y de 1,35 (IC 95% 1,09–1,67; P= 0,006) en Este Asiáticos. Para rs1867277 reportaron un OR de 1,64 (IC 95% 1,51-1,78; $P<10^{-5}$) para Caucásicos. La diferencia en el OR de rs965513 entre Caucásicos y Asiáticos, puede deberse a la diferencia de la distribución de las frecuencias del alelo de riesgo en cada población (aproximada a 37 y 11% respectivamente) y diferencias en el desequilibrio de ligamiento, además de factores ambientales específicos como la radiación ionizante y la ingesta de yodo. Similares resultados son reportados por Kang, *et al.,* 2014 con una asociación alta del riesgo de PTC en la población caucásica pero no en la asiática respecto a los polimorfismos del gen FOXE1. Teniendo en cuenta lo anterior, se realizó una corrección por origen geográfico, aunque cabe destacar que la muestra analizada en el presente estudio está constituida por casos y controles de las zonas central y andina colombiana (Tolima, Huila, Antioquia y Nariño), y excluye participantes de las zonas costeras (Anexo V).

Tabla 20. Asociación de los SNPs tipificados y el riesgo de padecer cáncer papilar y folicular de tiroides.

SNP	Genotipo	Caso *n (frec)*	Control *n (frec)*	OR (IC 95%)	Valor P
rs2439302 (8p12)	CC	50 (0,199)	148 (0,259)	Referencia	
	GC	132 (0,526)	280 (0,49)	1,395 (0,953-2,044)	0,0516
	GG	69 (0,275)	144 (0,252)	1,418 (0,922-2,181)	0,0684
	*G**	*270 (0,538)*	*568 (0,497)*	*1,197 (0,956-1,456)*	*0,0552*
rs6983267 (8q24)	TT	41 (0,163)	165 (0,211)	Referencia	
	GT	130 (0,518)	408 (0,522)	1,282 (0,864-1,903)	0,1269
	GG	80 (0,319)	208 (0,266)	1,548 (1,009-2,376)	**0,0280**
	*G**	*290 (0,578)*	*824 (0,528)*	*1,217 (1-1,501)*	***0,0296***
rs965513 (9q22.33)	GG	102 (0,406)	378 (0,485)	Referencia	
	AG	112 (0,446)	338 (0,434)	1,228 (0,905-1,667)	0,1076
	AA	37 (0,147)	63 (0,081)	2,177 (1,372-3,452)	**0,0009**
	*A**	*186 (0,371)*	*464 (0,298)*	*1,406 (1,124-1,714)*	***0,0010***
rs1867277 (9q22.23)	GG	81 (0,323)	222 (0,407)	Referencia	
	AG	118 (0,47)	261 (0,478)	1,239 (0,887-1,732)	0,1205
	AA	52 (0,207)	63 (0,115)	2,262 (1,447-3,536)	**0,0002**
	*A**	*222 (0,442)*	*387 (0,354)*	*1,43 (1,164-1,792)*	***0,0007***
rs944289 (14q13.3)	CC	75 (0,299)	318 (0,409)	Referencia	
	TC	139 (0,554)	364 (0,468)	1,619 (1,177-2,227)	0,0018
	TT	37 (0,147)	95 (0,122)	1,651 (1,047-2,604)	**0,0219**
	*T**	*213 (0,424)*	*554 (0,356)*	*1,316 (1,084-1,633)*	***0,0039***
rs116909374 (14q13.3)	GG	237 (0,944)	757 (0,971)	Referencia	
	AG	14 (0,056)	23 (0,029)	1,944 (0,985-3,839)	**0,0257**
	AA	0	0	NA	NA
	*A**	*14 (0,028)*	*23 (0,015)*	*1,792 (0,979-3,755)*	***0,0394***

* Corregido por origen geográfico (Anexo V)

Se resaltan en negrillas los valores P significativos al 95% de confianza.

En la tabla 20, se presentan los genotipos encontrados para cada variante en los casos y controles junto con su frecuencia y el análisis de la asociación respecto al riesgo de padecer carcinoma papilar y folicular de tiroides en la población colombiana. Se encontró asociación significativa con el riesgo de padecer la enfermedad para los SNPs rs6983267, rs965513, rs1867277, rs944289 y rs116909374, y se evidencia una tendencia al incremento del riesgo con el alelo G de rs2439302, a pesar de presentar un valor p superior a 0,05, por lo tanto, se replican los datos de asociación en la muestra colombiana, tanto en el análisis general como en la corrección por origen geográfico (Anexo V).

Los SNPs tipificados que presentaron una mayor asociación con el riesgo de carcinoma papilar y folicular de tiroides en el presente estudio, rs965513 y rs1867277, se encuentran en el cromosoma 9q22.23 y hacen parte del locus de susceptibilidad identificado en estudios de GWAs en la población Europea, donde también se incluye a rs71369530 (Zhuang, *et al*., 2014). El SNP rs965513, se encuentra a 57kb del gen FOXE1 (factor de transcripción especifico de la tiroides) y está implicado en la morfogénesis de la tiroides, el alelo de riesgo para este marcador es A (Gudmundsson, *et al.,* 2012), fue más frecuente en los casos con carcinoma de tiroides (0,371 en casos) especialmente en los casos de tipo papilar (0,381) que en los controles (0,298), por lo tanto está asociado con la presencia de la enfermedad (OR= 1,406). El rs965513 presentó asociación tanto en el modelo recesivo como en el dominante, pero fue cercana al doble bajo el modelo recesivo (Tabla 21). Similares resultados se han reportado para la población caucásica y asiática con OR de 2,19 (IC 95% 1,87-2,59) para el modelo dominante y 2,97 (IC 95% 2,32-3,89) para el recesivo, no obstante, los autores reportaron una diferencia alta en las frecuencias del alelo de riesgo en cada población, con 0,06 para los Asiáticos y 0,4 para los caucásicos (Zhuang, *et al*., 2014), así mismo, para la población del Reino Unido la frecuencia en los casos fue de 0,48 y la asociación fue de 1,981 (IC 95% 1,774-2,212) (Jones, *et al*., 2012) y para Japón fue 0,09 y el OR de 1,69 ($P= 1,27 \times 10^{-4}$) (Matsuse, *et al*., 2011). Como puede deducirse de estos datos, en la población Colombiana la frecuencia es más cercana a la reportada en poblaciones europeas con 0,37 en los afectados y 0,29 en los controles (Tabla 20).

Tabla 21. Riesgo de padecer carcinoma no-medular de tiroides bajo tres modelos de asociación.

	Modelo	Genotipo	Caso n (frec)	Control n (frec)	OR (IC 95%)	Valor P	Valor P (Modelo)
rs2439302 (8p12)	Alélico	C	232 (0,462)	576 (0,503)	Referencia		
		G	270 (0,538)	568 (0,497)	1,18 (0,956-1,456)	0,0612	0,1338
	Dominante	CC	50 (0,199)	148 (0,259)	Referencia		
		GC+GG	201 (0,801)	424 (0,741)	**1,403 (0,977-2,015)**	**0,0388**	**0,0763**
	Recesivo	CC+GC	182 (0,725)	428 (0,748)	Referencia		
		GG	69 (0,275)	144 (0,252)	1,127 (0,806-1,576)	0,2693	0,4902
rs6983267 (8q24)	Alélico	T	212 (0,422)	738 (0,472)	Referencia		
		G	290 (0,578)	824 (0,528)	**1,225 (1,00-1,501)**	**0,0249**	**0,0507**
	Dominante	TT	41 (0,163)	165 (0,211)	Referencia		
		GT+GG	210 (0,837)	616 (0,789)	1,372 (0,942-1,999)	0,0492	0,1029
	Recesivo	TT+GT	171 (0,681)	573 (0,734)	Referencia		
		GG	80 (0,319)	208 (0,266)	1,289 (0,946-1,756)	0,0537	0,1242
rs965513 (9q22.33)	Alélico	G	316 (0,629)	1094 (0,702)	Referencia		
		A	186 (0,371)	464 (0,298)	1,388 (1,124-1,714)	0,0012	0,0028
	Dominante	GG	102 (0,406)	378 (0,485)	Referencia		
		AG+AA	149 (0,594)	401 (0,515)	1,377 (1,032-1,837)	0,0147	0,0348
	Recesivo	GG+AG	214 (0,853)	716 (0,919)	Referencia		
		AA	37 (0,147)	63 (0,081)	**1,965 (1,274-3,032)**	**0,0009**	**0,0031**
rs1867277 (9q22.23)	Alélico	G	280 (0,558)	705 (0,646)	Referencia		
		A	222 (0,442)	387 (0,354)	1,444 (1,165-1,792)	0,0004	0,0009
	Dominante	GG	81 (0,323)	222 (0,407)	Referencia		
		AG+AA	170 (0,677)	324 (0,593)	1,438 (1,05-1,97)	0,0139	0,0277
	Recesivo	GG+AG	199 (0,793)	483 (0,885)	Referencia		
		AA	52 (0,207)	63 (0,115)	**2,003 (1,339-2,997)**	**0,0006**	**0,0010**
rs9442	Alélico	C	289 (0,576)	1000 (0,644)	Referencia		
		T	213 (0,424)	554 (0,356)	1,33 (1,084-1,633)	0,0032	0,0068

	Dominante	CC	75 (0,299)	318 (0,409)	Referencia		
		TC+TT	176 (0,701)	459 (0,591)	**1,626 (1,198-2,207)**	**0,0009**	**0,0017**
	Recesivo	CC+TC	214 (0,853)	682 (0,878)	Referencia		
		TT	37 (0,147)	95 (0,122)	1,241 (0,824-1,87)	0,1503	0,3286
rs116909374 (14q13.3)	Alélico	G	488 (0,972)	1537 (0,985)	Referencia		
		A	14 (0,028)	23 (0,015)	1,917 (0,979-3,755)	0,0268	0,0791
	Dominante	GG	237 (0,944)	757 (0,971)	Referencia		
		AG+AA	14 (0,056)	23 (0,029)	**1,944 (0,985-3,839)**	**0,0257**	0,0764
	Recesivo	GG+AG	251 (1,0)	780 (1,0)	Referencia		
		AA	0	0	NA	NA	NA

Se resaltan en negrillas los valores P significativos al 95% de confianza y los valores de OR más altos.

Bullock y colaboradores (2012), reportan una frecuencia del alelo de riesgo A de 0,557 en casos y 0,388 en controles (OR= 1,99; P= 4 x 10^{-5}) de Australia; y Zhuang, *et al.,* (2014) reportan asociación para la población caucásica y asiática con OR de 1,85 (IC 95% 1,56-2,22) bajo el modelo dominante y 2,62 bajo el modelo recesivo (IC 95% 1,97-3,52). En el presente estudio, el alelo A presentó una frecuencia de 0,442 en NMTC, 0,446 en PTC y 0,354 en controles por tanto, se asocia significativamente con el incremento del riesgo de padecer carcinoma no-medular de tiroides con un OR de 1,43 y presenta un incremento en carcinoma papilar (OR= 1,609). La asociación de este polimorfismo con el riesgo es del doble bajo el modelo recesivo (Tabla 21).

Bullock y colaboradores (2012), relacionan el incremento del riesgo de cáncer de tiroides con la mutación FOXE1^{16Ala} con un OR de 2,23 (CI 95% 1,42-3,5) y demuestran el desequilibrio de ligamiento entre la región de repeticiones de polialanina de FOXE1 y el SNP rs1867277, aunque, no encuentran alteraciones en la expresión del gen FOXE1 en tejidos frescos congelados con o sin la mutación, a diferencia de Landa y colaboradores, quienes en 2009 reportaron diferencias en la expresión *in vitro* de FOXE1 en presencia del alelo de riesgo para este polimorfismo.

Los SNPs rs1867277 y rs965513 se han relacionado con PTC de tipo esporádico en pacientes expuestos a la radiación causada por el desastre de Chernóbil, además, el OR de rs965513 varió según el tiempo de latencia de la enfermedad después de la exposición a radiación, siendo más fuerte en los casos con exposición temprana, diagnosticados en los primeros 10 años después del desastre (OR= 1,97; P= 2,0 x 10^{-9}), que en los de exposición tardía, diagnosticados 16 años después (OR= 1,52; P= 6,0 x 10^{-8}) (Takahashi, *et al*., 2010). Tomaz y colaboradores (2012), en un análisis de pacientes y controles de Portugal, reportan para el rs965513, una asociación significativa en casos familiares (OR= 2,30 y P= 0,0022) y esporádicos (OR= 2,81; P <0,0001) de NMTC, sin embargo, el rs1867277 presenta asociación significativa con los casos esporádicos (OR= 1,76; P 0,0052) pero no en casos familiares de cáncer (OR= 1,63; P= 0,1660), similar a lo reportado para la población de Islandia (Gudmundsson, *et al*., 2009), Japón (Matsuse, *et al*., 2011) y Australia (Bullock, *et al.,* 2012).

Wang y colaboradores (2013) reportaron asociación significativa para la población de China con CT y los SNPs rs965513 (OR= 1,53; P= 2,028e^{-10}) y rs944289 (OR= 1,53; P= 1,436e^{-4}), así mismo, para pacientes de Islandia, Estados Unidos y España, Gudmundsson y colaboradores (2009), reportaron asociación entre PTC y estos dos SNPs (OR=1,75; P= 1,7 x10^{-27} y OR = 1,37; P= 2,0 x 10^{-9}) y establecen una relación con la disminución de la concentración sérica de TSH de 5,9% para rs965513 y 1,7% para rs944289, además, encontraron disminución de T4 e incremento de T3 (1,2% c/u) con el SNP de riesgo para rs965513, lo cual es evidencia de su relación con el funcionamiento endocrino de la glándula. Para Alemania se reporta un incremento significativo del riesgo de padecer FTC y PTC con el rs965513 (OR= 1,51; IC 95% 1,16-1,97; P= 3 x 10-3) pero no para rs944289 (OR= 1,00; IC 95% 0,77-1,30; P= 0,95) (Penna-Martinez, *et al*., 2014).

El rs944289 (14q13.3) no presenta genes de referencia asociados pero está muy cerca del factor de transcripción tiroideo NKX2-1 (en el telómero a 337kb), que es probablemente el mejor candidato como fuente de asociación con el CT, ya que tiene un papel destacado en el desarrollo de la tiroides y es importante en la regulación transcripcional de genes implicados en la supervivencia y diferenciación de las células

tiroideas en migración (Matsuse, *et al.,* 2011, Wang, *et al*., 2013, Gudmundsson, *et al.,* 2012 y Jendrzejewski, *et al*., 2012), además, está a 308kb del gen BRMS1L (*Breast Cancer Metastasis Supressor 1-like*) y a 119kb de MBIP (*MAP3K12 binding inhibitory protein 1*) (Jendrzejewski, *et al*., 2012).

Jendrzejewski y colaboradores (2012), en una muestra de tejidos tiroideos sanos y de pacientes con PTC en Estados Unidos, encontraron que el alelo de riesgo T del rs944289 en estado homocigoto está asociado con disminución en la regulación de la expresión de PTCSC3 (*Papillary Thyroid Carcinoma Susceptibility Candidate 3*) localizado a 3,2kb, dicho gen está implicado en la inhibición del crecimiento celular y la expresión de genes envueltos en la replicación, recombinación y reparación del ADN.

Para la variante rs944289, en presencia del alelo T, se detectó un aumento significativo en el riesgo, tanto para casos de NMTC (OR= 1,316) como de PTC (OR= 1,325), además, muestra mejor asociación en virtud del modelo dominante (P_{TT+TC} vs P_{CC}: OR= 1,626; IC 95% 1,198-2,207; P= 0,0009). Similares resultados fueron reportados para pacientes del Reino Unido (OR= 1,33; IC 95% 1,18-1,48) (Jones, *et al*., 2012); Islandia (OR=1,44; IC 95%: 1,26-1,63; P= $2,5x10^{-8}$) y Japón (OR= 1,21; P= 0,021) (Matsuse, *et al*., 2011). Para China, en un análisis de cuatro polimorfismo del gen NKX2-1, se reporta asociación únicamente para rs944289 (OR= 1,26; IC 95% 1,026-1,557) con un incremento bajo el modelo recesivo a 1,474 (IC 95% 1,028-2,112), y además, una interacción con bocio multinodular (P= 0,062) y diabetes (P= 0,029) en pacientes con PTC. Los autores no observaron relación con la historia familiar de cáncer ni la radiación ionizante (Ai, *et al.,* 2014).

Para la Polinesia Francesa, la tipificación de 168 casos y 262 controles, revela un incremento del riesgo de NMTC con el SNPs: rs965513 bajo el modelo recesivo (OR= 3,04; IC 95% 1,25–7,38; P= 0,01), y además, aunque sin significancia estadística, asociación para rs944289 (OR= 1,48; IC 95% 0,81–2,70; P= 0.2) y rs1867277 (OR= 1,66; IC 95% 0,56–4,94; P= 0,4), también en virtud del modelo recesivo (Maillard, *et al.*, 2015).

El polimorfismo rs6983267 fue tipificado en 7.665 casos de 11 tipos comunes de cáncer y 1.910 controles de Polonia, encontrándose una frecuencia del alelo de riesgo del 48%, similar a otras poblaciones caucásicas (50%) pero distinta a la de nativos de Hawái (31%) y afrodescendientes de América (85%). Los autores reportan asociación significativa para cáncer de próstata (OR= 1,77; IC 95% 1,47-2,13), colon (OR= 1,36; IC 95% 1,08-1,72), riñón (OR= 1,52; IC 95% 1,12-2,05), laringe (OR= 1,39; IC 95% 1,02-1,90) y tiroides (OR= 1,37; IC 95% 1,02-1,82), para este último, la edad de diagnóstico promedio fue 48,4 años con un rango de 12 a 75 años (Wokolorczyk, *et al.,* 2008). Para la muestra Colombiana la frecuencia del alelo de riesgo fue de 57,8% en casos y 52,8% en controles y por tanto, más cercana a la reportada en la población caucásica.

Se encontró asociación con el riesgo de NMTC para rs6983267 (OR= 1,217) y fue significativo bajo el modelo alélico (OR= 1,225; IC 95% 1,0-1,501; P=0,0249) y dominante (P_{GG+GT} vs P_{TT}: OR= 1,372; IC 95% 0,942-1,999; P= 0,0492), además, la asociación de este polimorfismo, fue más fuerte al restringir el análisis a carcinoma folicular (OR= 1,97), y pesar de presentar un intervalo de confianza amplio (IC 95% 0,927-4,188) está en el límite de significancia estadística (Anexo V). Es de anotar que Jones y colaboradores (2012), reportan un leve pero significativo incremento del riesgo de cáncer de tiroides en presencia del alelo G en rs6983267 (OR= 1,14; IC 95% 1,02-1,27) y explican su asociación bajo el modelo de recesivo (OR= 1,250; IC95% 1,089-1,435), esto también es apoyado en estudios de cáncer de próstata donde la significancia es mayor en el modelo recesivo que en el dominante (P=0,0029 vs P=0,082) (Brankovic, *et al.,* 2013).

El alelo G de rs6983267, revela un incremento del riesgo de cáncer de colón en pacientes Caucásico (OR= 1,17; IC 95 % 1,13–1,21; $P<10^{-5}$) y Asiáticos (OR= 1,18; IC 95% 1,15–1,21; $P<10^{-5}$) y fue significativo para los modelos dominante (OR= 1,21; IC 95% 1,16–1,26; $P<10^{-5}$) y recesivo (OR= 1,22; IC 95% 1,16–1,27; $P<10^{-5}$), pero no para los Afroamericanos (modelo dominante: OR= 1,15; IC 95% 0,92-1,44 y recesivo: OR= 1,16; IC 95% 0,93-1,46) (Wang, *et al*., 2014). Para pacientes Asiáticos, Cui, *et al.,* (2011) reportan asociación con carcinoma de colon con OR de 1,18 (IC 95% 1,11-1,25; P= 1,51E-08).

La frecuencia alélica encontrada en la muestra colombiana para el SNP rs116909374 (0,015 en controles y 0,028 en casos) es cercana, aunque inferior, a la reportada para Europa (0.017-0.044 en controles y 0.049-0.085 en casos) y Norte América (0.05) de acuerdo al proyecto HapMap (Gudmundsson, *et al*., 2012). Para este SNPs se encontró un incremento del riesgo de 1,792 para NMTC, acorde con otros estudios, pese a su baja frecuencia y la ausencia de homocigotos para el riesgo, lo cual, también fue evidenciado en Europa (Gudmundsson, *et al.,* 2012), inclusive para China, dicho alelo no fue detectado en la tipificación de una muestra de 846 casos de PTC, 506 casos de tumores tiroideos benignos y 1006 controles (Wang, *et al*., 2013). Como se muestra en el Anexo V, este SNP está más asociado con un incremento significativo del riesgo de carcinoma folicular con un OR de 4,45 (IC 95% 1,005-19,76).

Para rs2439302, ubicado en el primer intrón del gen NRG1 que codifica la neurogulina 1, una proteína de interacción célula-célula importante en el desarrollo del sistema nervioso, el corazón, seno y otros órganos, y relacionado con el desarrollo de esquizofrenia y enfermedad de Hirschsprung en asiáticos (Garcia-Barcelo, *et al.,* 2009), en el presente trabajo, se encontró un incremento leve del riesgo (OR=1,197) con significancia en el límite (P=0,0552), el cual incrementa bajo el modelo dominante (P_{GG+GC} vs P_{CC}: OR= 1,403; IC 95% 0,977-2,015; P= 0,0388). Para CT en Europeos, este polimorfismo incrementa el riesgo con OR de 1,36 (IC 95% 1,23-1,5; P= 2x10-9) y se relaciona con un decrecimiento del 40% en la expresión del gen NRG1 con un alelo de riesgo y hasta 64% en homocigotos, además, se asocia con la variación en los niveles de TSH y el incremento del riesgo de padecer la enfermedad de Hirschsprung (Gudmundsson, *et al*., 2012). En pacientes de China, no se encontró asociación significativa entre este SNP y el riesgo de presentar tumores benignos de tiroides (OR= 0,97; IC 95% 0,8-1,19; P= 0,7778) pero si para carcinoma papilar de tiroides (OR= 1,41; 1,2-1,66; P=2,77e-5), los autores atribuyen este incremento, mediante un análisis bioinformático, al cambio en la regulación transcripcional del gen NRG1 puesto que este SNP se encuentran en la región de unión de dicho gen con la proteína CTCF, cuya función, es reprimir la transcripción, lo mismo ocurre para el SNP rs966423 que se encuentra en la región de unión con CTCF del gen DIRC3 (Wang, *et al.,* 2013).

Como se presenta en las tablas 22 a 24, aunque no encontraron diferencias significativas en las comparaciones intra-casos, la comparación de casos y controles resultó significativa y mostró una tendencia al incremento del riesgo de presentar diferentes complicaciones y avances de la enfermedad, en presencia de los alelos de riesgo tipificados.

El alelo de riesgo para rs965513, se presentó con mayor frecuencia y en consecuencia un incremento del riesgo de presentar tumores bilaterales (OR= 1,588), multifocales (OR= 1,496), con compromiso capsular (OR= 1,598), invasión de ganglios (OR= 1,880) y extensión extratiroidea (OR= 1,698), por tanto, este SNP se relaciona con el mayor progreso de la enfermedad (Tabla 22 a 24). Para este SNP, Penna-Martinez y colaboradores (2014), reportan una mayor asociación con tumores clasificados como T3 y T4 (tumores mayores a 4cm y/o con mínima extensión extratiroidea e invasión capsular), con OR de 1,61 (IC 95% 1,09-2,36; P= 0,02) respecto a los controles, que en los T1 y T2 (tumores menores a 4cm limitados a la tiroides) con OR de 1,49 (IC 95% 1,11-2,00; P= 0,0075), además, reportan un incremento significativo en presencia de invasión de ganglios (N1) con OR de 1,59 (IC 95% 1,11-2,29).

El rs1867277 se asoció con tumores mayores a 2cm (OR= 1,603), con compromiso capsular (OR= 1,518), invasión vascular (OR= 1,474) y de ganglios (OR= 1,674) y con extensión extratiroidea (OR= 1,739), pero unifocales (OR= 1,593). Bychkov, *et al.*, 2013, comprobaron que la expresión de FOXE1 se ve afectada por la presencia del SNP de riesgo en este polimorfismo y en consecuencia, presenta una asociación significativa con el desarrollo de cáncer de tiroides, a pesar de contar con una muestra pequeña, concluyen que este SNP presenta relación con las características patológicas que envuelven el desarrollo del tumor desde etapas tempranas y que la expresión del gen se relaciona con la invasión extracapsular con un OR de 10,44 (IC 95% 0,98-110,7; P= 0,051) y la presencia de tumores multifocales con OR de 16,11 (IC 95% 1,28-203,43).
Los casos con menos complicaciones presentaron mayor frecuencia del alelo de riesgo rs944289, tanto para tumores menores a 1cm (OR= 1,610), que afectaron un solo lóbulo o el istmo (OR= 1,495), sin compromiso de la capsula (OR= 1,404), sin invasión vascular

(OR= 1,374), sin invasión de ganglios (OR= 1,38) y sin extensión extratiroidea (OR= 1,363), para este SNP no se encontraron datos reportados respecto a la relación con características del tumor.

Tabla 22. Comparación de la localización del tumor respecto a los SNPs de riesgo.

SNP	OR (IC 95%)	Valor P	OR (IC 95%)	Valor P	Valor P intracasos
	Unilateral vs Control		**Bilateral vs Control**		
rs2439302	1,181 (0,944-1,478)	0,0725	1,174 (0,749-1,84)	0,2415	0,4900
rs6983267	1,183 (0,952-1,469)	0,0650	**1,473 (0,933-2,328)**	**0,0475**	0,1875
rs965513	1,351 (1,077-1,694)	0,0045	**1,588 (1,008-2,502)**	**0,0225**	0,2565
rs1867277	**1,462 (1,163-1,838)**	**0,0005**	1,357 (0,861-2,138)	0,0935	0,3795
rs944289	**1,367 (1,098-1,702)**	**0,0025**	1,155 (0,732-1,822)	0,2675	0,2475
rs116909374	1,797 (0,869-3,717)	0,0545	2,538 (0,746-8,632)	0,0615	0,3005
	Unifocal vs Control		**Multifocal vs Control**		
rs2439302	1,042 (0,807-1,344)	0,3768	**1,347 (0,974-1,865)**	**0,0357**	0,0915
rs6983267	1,19 (0,926-1,527)	0,0866	**1,377 (0,997-1,902)**	**0,0259**	0,2275
rs965513	1,42 (1,096-1,838)	0,0038	1,496 (1,079-2,075)	0,0076	0,3953
rs1867277	**1,593 (1,229-2,064)**	**0,0002**	1,404 (1,012-1,948)	0,0208	0,2576
rs944289	**1,495 (1,164-1,921)**	**0,0008**	1,117 (0,806-1,549)	0,2524	0,0686
rs116909374	1,608 (0,684-3,781)	0,1362	**2,445 (0,981-6,091)**	**0,0237**	0,2275

Se resaltan en negrillas los valores P significativos al 95% de confianza y los valores de OR más altos.

Jendrzejewski y colaboradores (2012), identificaron este SNP en un estudio GWAs de PTC y sugieren que un ARN no caracterizado, llamado “Candidato 3 a susceptibilidad al carcinoma papilar de tiroides” (PTCSC3) está implicada en la predisposición, el alelo de riesgo de rs944289, disminuye la activación del promotor PTCSC3, mediante la reducción de CEBP alfa y la afinidad de unión CEBP-beta, en comparación con el alelo mayor y, por lo tanto, predispone al PTC. Cuando PTCSC3 tiene expresión normal actúa

como un tumor supresor, afecta a genes implicados en el crecimiento inhibe la célula, la replicación del ADN, la recombinación y la reparación. Estos resultados sugieren una asociación del polimorfismo con las etapas iniciales de la tumorigenesis. Además, NKX2-1 (factor de transcripción tiroideoespecifico), es probablemente el gen más cercano a rs944289 (Ai, *et al.,* 2014) y junto con FOXE1, se expresan en los estados tempranos de la morfogénesis tiroidea y juegan un papel importante en el desarrollo y diferenciación de la glándula tiroides (Matsuse, *et al.,* 2011; Ai, *et al.,* 2014).

Tabla 23. Comparación del tamaño del tumor respecto a los SNPs de riesgo.

SNP	OR (IC 95%)	Valor P	OR (IC 95%)	Valor P	Valor P intracasos
	Microcarcinoma vs Control		**Macrocarcinoma vs Control**		
rs2439302	0,958 (0,674-1,361)	0,4048	1,233 (0,958-1,587)	0,0520	0,1079
rs6983267	1,064 (0,752-1,505)	0,3639	**1,384 (1,079-1,776)**	**0,0052**	0,1001
rs965513	1,436 (1,004-2,055)	0,0234	1,347 (1,043-1,741)	0,0112	0,3807
rs1867277	1,407 (0,985-2,009)	0,0298	**1,538 (1,19-1,987)**	**0,0005**	0,3317
rs944289	**1,610 (1,137-2,279)**	**0,0034**	1,284 (1,00-1,647)	0,0246	0,1345
rs116909374	1,463 (0,434-4,936)	0,2685	**2,242 (1,056-4,76)**	**0,0155**	0,2594
	≤2cm vs Control		**>2cm vs Control**		
rs2439302	0,983 (0,751-1,287)	0,4514	**1,399 (1,024-1,911)**	**0,0171**	0,0336
rs6983267	1,129 (0,867-1,471)	0,1834	**1,510 (1,105-2,062)**	**0,0046**	0,0689
rs965513	**1,426 (1,085-1,875)**	**0,0053**	1,306 (0,950-1,794)	0,0496	0,3283
rs1867277	1,422 (1,081-1,872)	0,0058	**1,603 (1,173-2,190)**	**0,0014**	0,2670
rs944289	**1,432 (1,097-1,868)**	**0,0040**	1,308 (0,962-1,780)	0,0431	0,3207
rs116909374	1,579 (0,637-3,915)	0,1603	**2,584 (1,094-6,107)**	**0,0124**	0,1892

Se resaltan en negrillas los valores P significativos al 95% de confianza y los valores de OR más altos.

El rs116909374 presenta una mayor frecuencia en tumores multifocales, mayores de 2cm, sin compromiso capsular, sin invasión de ganglios y sin extensión extratiroidea,

para cada una de estas características el OR calculado fue de 2 a 2,5. Para esta variante no se obtuvieron homocigotos y el número de heterocigotos con el alelo de riesgo fue bajo en los casos y los controles, por lo tanto, estas diferencias pueden deberse a errores por el tamaño de la muestra, cabe destacar que dicha baja frecuencia y ausencia de homocigotos para el riesgo también fue reportada para Europa (Gudmundsson, *et al*., 2012) y China (Wang, *et al*., 2013).

El alelo de riesgo de rs6983267, se asoció con un incremento del riesgo de 1,2 a 1,5 veces de presentar macrocarcinomas, tumores bilaterales y sin invasión de ganglios (Tablas 22 a 24), al realizar el análisis respecto a los tumores mayores a 2cm, se encontró una mayor asociación (OR= 1,51), esto indica una posible relación del SNP con el progreso de la enfermedad, similar a lo reportado por Brankovic, *et al.,* (2013), quienes encontraron asociación del SNP respecto a cáncer de próstata (P= 0,0029), pero no respecto a hiperplasia prostática (0,1), además, Beuten, *et al.,* (2009), lo asocian con carcinomas de próstata de alto grado y de peor pronóstico (OR= 3,84 IC 95% 1,17-12,61 P=0,026) en hombres caucásicos e hispanos, Cicek, *et al.,* (2009) con cáncer de colon en estados III y IV (OR= 1,22 IC 95%1,06-1,41 P=0,00049) y Ahn, *et al.,* (2011), con cáncer de próstata metastásico (p=0.006). De otra parte, Carvajal y colaboradores (2013), reportan para cáncer de colon una posible relación con la iniciación del tumor (tumorigenesis), puesto que se presentó mayor asociación respecto a adenomas. Se destaca que en el presente estudio, cuatro pacientes con metástasis a distancia fueron GG, seis fueron GT y solo dos presentaron el alelo silvestre en homocigosis.

El polimorfismo rs6983267 (8q24), muestra una posible interacción con el proto-oncogen c-MYC y su asociación con el cáncer puede estar relacionada con la sobreexpresión de este gen, implicado en la vía de señalización WNT, importante para la regulación, diferenciación, proliferación y muerte celular (Wright, *et al.,* 2010), además, en el 2013 se demostró la relación entre CCAT2, un largo ARN transcrito no codificante (lncRNA) que abarca al SNP rs69832267, y está sobre expresado en cáncer colorrectal con estabilidad microsatelital, y promueve el crecimiento, metástasis e instabilidad

cromosómica, puesto que sobre regula la expresión de MYC, miR-17-5p y miR-20a, lo cual fue comprobado en experimentos *in vitro* con ratones (Ling, *et al.*, 2013).

Tabla 24. Comparación del riesgo de presentar compromiso capsular, invasión extratiroidea, vascular y de ganglios, respecto los SNPs tipificados.

SNP	No vs Control		Si vs Control		Valor P intracasos
	OR (IC 95%)	Valor P	OR (IC 95%)	Valor P	
Compromiso la capsula					
rs2439302	1,172 (0,910-1,510)	0,1094	1,192 (0,881-1,614)	0,1270	0,4631
rs6983267	**1,231 (0,961-1,579)**	**0,0500**	1,215 (0,902-1,639)	0,1000	0,4718
rs965513	1,262 (0,974-1,637)	0,0392	**1,598 (1,180-2,166)**	**0,0012**	0,1047
rs1867277	1,398 (1,080-1,810)	0,0054	**1,518 (1,118-2,062)**	**0,0036**	0,3269
rs944289	**1,404 (1,094-1,801)**	**0,0037**	1,224 (0,905-1,656)	0,0949	0,2293
rs116909374	**2,273 (1,071-4,826)**	**0,0141**	1,378 (0,472-4,026)	0,2782	0,1993
Invasión vascular					
rs2439302	**1,241 (0,987-1,560)**	**0,0323**	0,976 (0,653-1,458)	0,4525	0,1378
rs6983267	1,226 (0,982-1,531)	0,0360	1,221 (0,817-1,825)	0,1642	0,4929
rs965513	1,366 (1,084-1,721)	0,0040	1,474 (0,978-2,220)	0,0311	0,3691
rs1867277	**1,474 (1,167-1,861)**	**0,0005**	1,336 (0,888-2,010)	0,0817	0,3294
rs944289	**1,374 (1,098-1,718)**	**0,0027**	1,175 (0,782-1,764)	0,2187	0,2429
rs116909374	1,899 (0,918-3,930)	0,0394	1,985 (0,586-6,722)	0,1308	0,4735
Invasión de ganglios					
rs2439302	1,133 (0,894-1,437)	0,1503	1,308 (0,921-1,859)	0,0664	0,2356
rs6983267	1,283 (1,017-1,618)	0,0176	1,092 (0,773-1,542)	0,3094	0,2093
rs965513	1,224 (0,959-1,561)	0,0519	**1,880 (1,327-2,664)**	**0,0002**	0,0165
rs1867277	1,362 (1,068-1,736)	0,0063	**1,674 (1,178-2,380)**	**0,0019**	0,1496
rs944289	**1,380 (1,094-1,742)**	**0,0033**	1,210 (0,852-1,720)	0,1430	0,2573
rs116909374	**2,106 (1,017-4,361)**	**0,0202**	1,442 (0,428-4,864)	0,2764	0,2817

Extensión Extratiroidea					
rs2439302	1,195 (0,954-1,496)	0,0606	1,113 (0,718-1,726)	0,3162	0,3828
rs6983267	1,198 (0,963-1,489)	0,0526	1,370 (0,879-2,134)	0,0815	0,2891
rs965513	**1,330 (1,059-1,670)**	**0,0070**	1,698 (1,091-2,641)	0,0089	0,1552
rs1867277	1,389 (1,104-1,749)	0,0025	**1,739 (1,119-2,702)**	**0,0065**	0,1719
rs944289	**1,363 (1,094-1,699)**	**0,0028**	1,180 (0,757-1,841)	0,2323	0,2753
rs116909374	**1,985 (0,979-4,023)**	**0,0263**	1,591 (0,369-6,861)	0,2649	0,3872

Se resaltan en negrillas los valores P significativos al 95% de confianza y los valores de OR más altos.

En muestras tiroideas de Japón, el SNP rs6983267 no fue asociado lesiones premalignas (adenomas foliculares) pero si con PTC (Rogounovitch, *et al.,* 2015), esta variante se encuentra localizada a 15kb del pseudogen POU5F1P1, que codifica la transcripción del factor OCT4, importante para el mantenimiento de la pluripotencia de las células madre, la autorenovación y la estructura de la cromatina en células madre, además, promueve el crecimiento tumoral de manera dependiente de la dosis (Matsuo, *et al.,* 2009), esto último podría explicar su mayor asociación con tumores grandes.

Los SNPs rs2439302, rs965513 y rs1867277, presentaron un leve incremento del riesgo en los casos diagnosticados después de los 45 años mientras que rs6983267, rs944289 y rs116909374, esto posiblemente se relaciona con un desarrollo de la enfermedad anterior a los 45 años, aunque podría estar influenciado por su mayor frecuencia en casos con antecedentes familiares. Es interesante destacar que, aunque se ha reportado que aproximadamente el 5% de los casos de CT presentan antecedentes familiares de cáncer (Goldgar, *et al.*, 1994; Hemminki, *et al*., 2005), para la muestra analizada en este trabajo, el 29% de los casos reportan antecedentes, tomando en cuenta únicamente a quienes declararon algún familiar en primer y segundo grado con CT, seno, estomago, colon, próstata y ovario. En la tabla 25 se presenta la comparación del riesgo de CT restringiendo el análisis a los casos con antecedentes de cáncer versus controles sanos, asi como en los pacientes que no declararon antecedentes.

Tabla 25. Comparación de la asociación de los SNPs con el riesgo de carcinoma de tiroides, según la edad de diagnóstico y la presencia de antecedentes familiares de cáncer.

SNP	No vs Control		Si vs Control		Valor P
	OR (IC 95%)	Valor P	OR (IC 95%)	Valor P	intracasos
Diagnosticado antes de los 45 años					
rs2439302	1,279 (0,989-1,655)	0,0303	1,054 (0,784-1,416)	0,3640	0,14295
rs6983267	1,146 (0,891-1,472)	0,1441	1,349 (1,004-1,811)	0,0230	0,1873
rs965513	**1,451 (1,12-1,88)**	**0,0024**	1,302 (0,961-1,764)	0,0440	0,28245
rs1867277	**1,634 (1,259-2,12)**	**0,0001**	1,21 (0,893-1,639)	0,1097	0,0506
rs944289	1,262 (0,979-1,628)	0,0361	**1,432 (1,068-1,918)**	**0,0079**	0,2462
rs116909374	1,869 (0,828-4,22)	0,0631	**1,985 (0,799-4,933)**	**0,0663**	0,45635
Presenta antecedentes de cáncer					
rs2439302	1,186 (0,935-1,505)	0,0797	1,165 (0,823-1,649)	0,1937	0,4645
rs6983267	1,147 (0,91-1,445)	0,1229	**1,449 (1,021-2,058)**	**0,0186**	0,12275
rs965513	1,328 (1,043-1,691)	0,0105	**1,545 (1,087-2,195)**	**0,0073**	0,2282
rs1867277	1,423 (1,116-1,814)	0,0022	**1,499 (1,055-2,129)**	**0,0116**	0,39665
rs944289	1,243 (0,983-1,572)	0,0346	**1,571 (1,114-2,214)**	**0,0048**	0,1194
rs116909374	1,723 (0,791-3,757)	0,0831	**2,404 (0,9-6,421)**	**0,0356**	0,27765

Se resaltan en negrillas los valores P significativos al 95% de confianza y los valores de OR más altos.

A pesar no de encontrar diferencias intracasos, se encontró un mayor incremento del riesgo en casos con antecedentes de cáncer, lo cual es evidente en la diferencia de frecuencias de los alelos, así, para rs6983267, incrementa de 0,528 en controles a 0,562 en casos sin antecedentes y 0,618 en casos con antecedentes, para rs944289 es de 0,357 en controles, 0408 en casos sin antecedentes y 0,465 en casos con antecedentes y para rs116909374 es de 0,015 en controles, 0,025 en casos sin antecedentes y 0,035 en casos con antecedentes. Para rs965513, la diferencia es amplia entre controles y casos pero menor entre casos sin y con antecedentes (0,298; 0,360 y 0,396

respectivamente). En contraste, los SNPs rs2439302 y rs1867277, no presentaron asociación en los casos con antecedentes de cáncer y las frecuencias del alelo de riesgo presentan poca diferenciación entre grupos (control 0,497; caso sin antecedentes 0,539 y caso con antecedentes 0.535 para el SNP rs2439302 y control 0,354; caso sin antecedentes 0,439 y caso con antecedentes 0,451 para rs1867277).

Resultados similares fueron reportados por Tomaz, *et al*., 2012 en pacientes de Portugal, donde, para rs965513 la comparación respecto a controles de los casos familiares (OR= 2,3; IC 95% 1,48-3,59; P= 0,0002) y esporádicos (OR= 2,81; IC 95% 1,87–4,22; P < 0,0001), reveló un incremento del riesgo similar en las comparaciones, mientras que para rs1867277, el riesgo se presentó únicamente para los casos esporádicos (OR= 1,76; IC 95% 1,18–2,62; P= 0,0052) o la combinación de esporádicos y familiares, respecto a controles (OR= 1,70; IC 95% 1,21–2,40; P= 0,0022). Previamente, estos dos polimorfismos de riesgo se han reportado en diversos estudios de casos esporádicos (Gudmundsson, *et al*., 2009; Landa, *et al*., 2009; Kallel, *et al*., 2010, Bullock, *et al*., 2012) o relacionados con radiación (Takahashi, *et al*., 2010), pero también se ha relacionado otras variantes del gen FOXE1 (como FOXE1 polyAla) en hipotiroidismo congénito y disgénesis tiroidea (Santarpia, *et al*., 2007) y al rs6983267 con mayor asociación respecto a cáncer de seno, próstata, vejiga, laringe y pulmón, con antecedentes de otros tipos de cáncer en primer y segundo grado (Wokołorczyk, *et al.,* 2008).

La variante rs6983267, se ha asociado con casos de cáncer de próstata con historial familiar de cáncer de próstata (OR= 2,14; IC 95% 1,25-3,68; P= 0,006) pero no de cáncer de seno u otros tipos de cáncer (Cussenot, *et al*., 2008), también, este alelo presenta mayor asociación en pacientes con CCR familiar de España (Abuli, *et al.,* 2010; Giraldez, *et al.,* 2012), Finlandia (Tuupanen, *et al.,* 2008) y Reino Unido (Tomlinson, *et al.,* 2007).

7.4.2. Polimorfismos combinados y riesgo de cáncer papilar de tiroides**.** Dentro del estudio se analizaron cuatro SNPs presentes en dos cromosomas, por lo tanto, se realizó

el análisis del desequilibrio de ligamiento (LD), con el fin de establecer si su asociación con el riesgo varia dependiendo de su combinación y si se correlacionan (Tabla 26).

Los SNPs rs1867277 (9q22.23) y rs965513 (9q22.33), se encuentran en un desequilibrio de ligamiento (LD) significativamente bajo, de acuerdo con los datos de referencia del proyecto "1000 Genomas", en África (r^2= 0,01; D'=0,078) y Asia (r^2=0,00; D'=0,0014) (Zhuang, *et al*., 2014), pero moderado en Europa (D'=0.73, r^2=0.39) (Jones, *et al*., 2012) y Japón (D'=0,23) (Matsuse, *et al*., 2011).

Tabla 26. Análisis del desequilibrio de ligamiento en los cromosomas 9q22 y 14q13.

Haplotipo	Frecuencia Observada	Frecuencia Esperada en equilibrio		
rs1867277 y rs965513				
AA	0,248	0,123	Fase	A/GG
GA	0,082	0,192	r^2	0,267
AG	0,143	0,267	D'	0,591
GG	0,527	0,417		
rs116909374 y rs944289				
AT	0,016	0,007	Fase	AT/GC
GT	0,352	0,362	r^2	0,023
AC	0,002	0,012	D'	0,843
GC	0,629	0,619		

D': coeficiente de desequilibrio, r^2: coeficiente de correlación al cuadrado

Los resultados en la muestra colombiana para estos dos SNPs indican que están ligados, por lo tanto, no se distribuyen completamente al azar (Tabla 26). Cabe destacar, que se observa que la interacción de los dos SNPs incrementa el riesgo a 2,331 (P= 0,0083) en los heterocigotos para rs1867277 con el homocigoto para rs965513, y a 2,735 (P= 0,0042) en los homocigotos para el alelo de riesgo de los dos polimorfismos (Tabla 27).

A pesar del bajo tamaño de la muestra se logran replicar los datos presentados para una muestra de más de 750 pacientes y 5000 controles europeos, donde el riesgo combinado de estos dos SNPs fue significativo en los heterocigotos para ambos *loci* (OR= 2,385; IC 95% 1,908-2,995), así como en las combinaciones del homocigotos para el riesgo en un *locus* y el heterocigoto en el otro (AG+AA: OR= 3,759; IC 95% 2,497-5,580 y AA+AG: OR= 2,491; IC 95% 1,774-3,473) o para el homocigoto en ambos *loci* (OR= 4,455; IC 95% 3,379-5,876) (Jones, *et al*., 2012).

Tabla 27. Combinación de la asociación para los SNPs del cromosoma 9q22.23 y su asociación con el riesgo de cáncer de tiroides.

rs1867277	**rs965513**	**Casos** *n (frec)*	**Control** *n (frec)*	**OR (IC 95%)**	**Valor P**
	G G	58 (0,231)	167 (0,308)	Referencia	
G G	A G	22 (0,088)	51 (0,094)	1,242 (0,694-2,224)	0,2789
	A A	1 (0,004)	3 (0,006)	0,960 (0,098-9,41)	0,4859
	G G	35 (0,139)	82 (0,151)	1,229 (0,749-2,018)	0,2449
A G	A G	66 (0,263)	156 (0,287)	1,218 (0,805-1,844)	0,1754
	A A	17 (0,068)	21 (0,039)	2,331 (1,151-4,721)	**0,0083**
	G G	9 (0,036)	9 (0,017)	2,879 (1,090-7,603)	**0,0135**
A A	A G	24 (0,096)	34 (0,063)	2,033 (1,113-3,710)	**0,0164**
	A A	19 (0,076)	20 (0,037)	2,735 (1,365-5,483)	**0,0042**

Se resaltan en negrillas los valores P significativos al 95% de confianza.

Los polimorfismos rs116909374 (14q13.3) y rs944289 (14q13.3), se encuentran localizados en dos regiones cercanas, y se ha reportado un ligero desequilibrio de ligamiento entre ellos (r^2= 0,005; D'= 0,35), para 3693 datos de Islandia (Gudmundsson, *et al*., 2012). En este trabajo, los dos SNPs del cromosoma 14 presentan ligamiento, por lo tanto, como se muestra en la tabla 28, se analizó el efecto combinado de los SNPs respecto al incremento del riesgo de TC, encontrándose que el riesgo es superior al doble cuando los dos polimorfismos son heterocigotos (OR= 2,402; P= 0,0196) y del triple cuando el SNP rs944289 es homocigoto (OR= 3,416). Aunque el gen más próximo a

rs116909374 es MBIP (proteína reguladora), también es cercano al factor de transcripción tiroideo NKX2-1, en cuyo telómero reside rs944289 (Parlato, *et al*., 2004; Gudmundsson, *et al*., 2012).

Tabla 28. Combinación de genotipos para los SNPs del cromosoma 14q13.3 y su asociación con el riesgo de cáncer de tiroides.

rs116909374	rs944289	Casos *n (frec)*	Control *n (frec)*	OR (IC 95%)	Valor P
	C C	74 (0,295)	316 (0,407)	Referencia	
G G	T C	130 (0,518)	348 (0,448)	1,595 (1,154-2,205)	**0,0028**
	T T	33 (0,131)	89 (0,115)	1,583 (0,987-2,541)	**0,0390**
	C C	1 (0,004)	2 (0,003)	2,135 (0,191-23,86)	0,4712
A G	T C	9 (0,036)	16 (0,021)	2,402 (1,022-5,648)	**0,0196**
	T T	4 (0,016)	5 (0,006)	3,416 (0,896-13,03)	**0,0284**

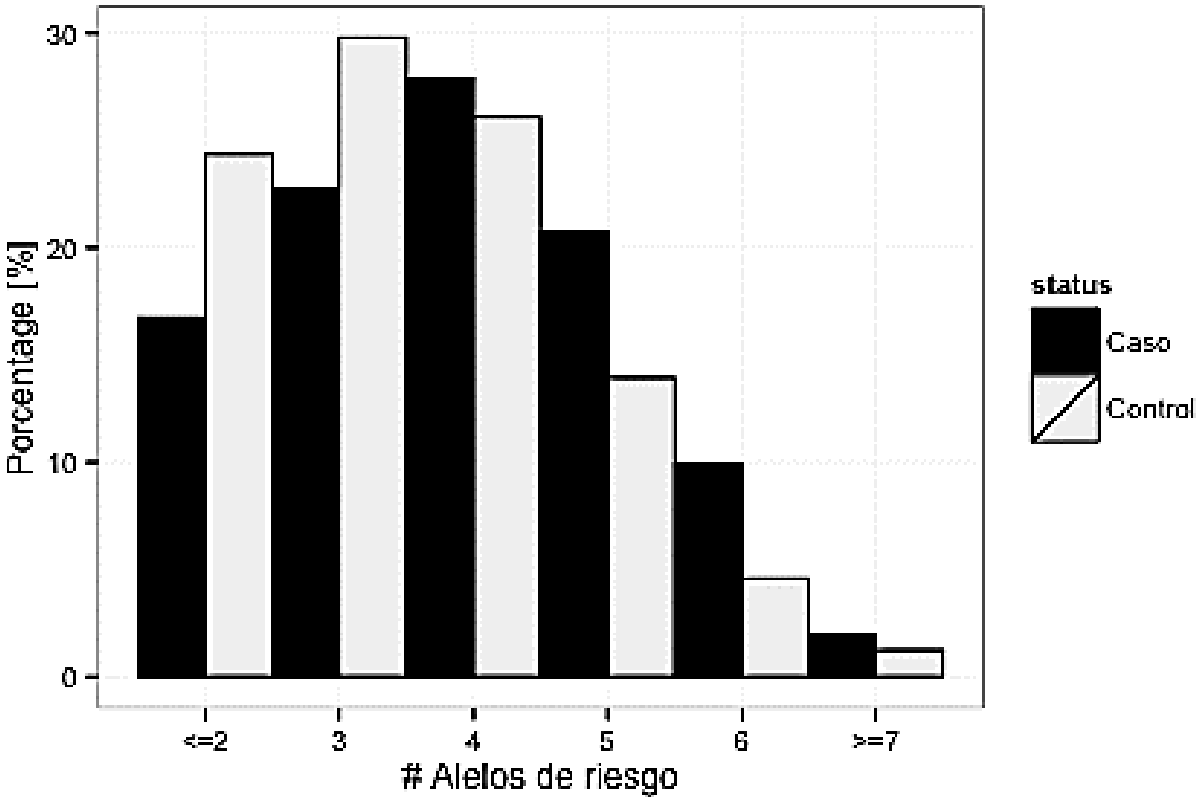
Se resaltan en negrillas los valores P significativos al 95% de confianza.

Como se dijo anteriormente, para los 6 SNPs analizados se ha reportado asociación con el riesgo de CT en distintas poblaciones (Bychkov, *et al*., 2013; Cipollini, *et al*., 2013; Landa, *et al*., 2009; Ghoussaini, *et al*., 2008; Gudmundsson, *et al*., 2009; Gudmundsson, *et al.,* 2012; Takahashi, *et al*., 2010; Neta, *et al*., 2012; Jendrzejewski, *et al*., 2012; Jones, *et al*., 2012; Ai, *et al*., 2014) de manera individual, además, aunque hasta el momento en este tipo de carcinoma son pocos los análisis combinados muestran un incremento significativo del riesgo (Figlioli et al., 2015; Liyanarachchi, et al., 2013).

En el presente estudio se realizó el análisis de polimorfismos combinados para los SNPs rs2439302, rs6983267, rs965513, rs944289 y rs116909374, usando 567 controles y 251 casos de PTC y FTC, y se encontró que los portadores de un mayor número de alelos de riesgo tienen un incremento significativo de la probabilidad de padecer NMTC en comparación con aquellos que no llevan alelos menores. El rs1867277, fue excluido del análisis por presentar ligamiento con rs965513 y rs966423 tampoco se incluyó a por no

estar en equilibrio de Hardy Weingber. En la figura 6, se muestra el porcentaje de casos y controles según el número de alelos de riesgo que porta, se observa que el número de casos portadores de alelos de riesgo, es superior al de los controles a partir de cinco alelos y la diferencia continua evidenciándose a mayor número de alelos, esto corresponde con la puntuación media no ponderada del riesgo acumulativo, que fue significativamente mayor en los casos que en los controles, incrementando el valor del OR a partir de cuatro alelos de riesgo de 1,582 (IC 95% 1,134-2,209) a 2,333 (IC 95% 1,134-2,209) con cinco alelos. El riesgo más alto se presentó para los portadores de 6 alelos (OR= 3,326; IC 95% 1,880-5,885) y decae a 2,35 (IC 95% 0,739-7,477) en portadores de más de 7 SNPs posiblemente debido al tamaño de la muestra (Figura 7).

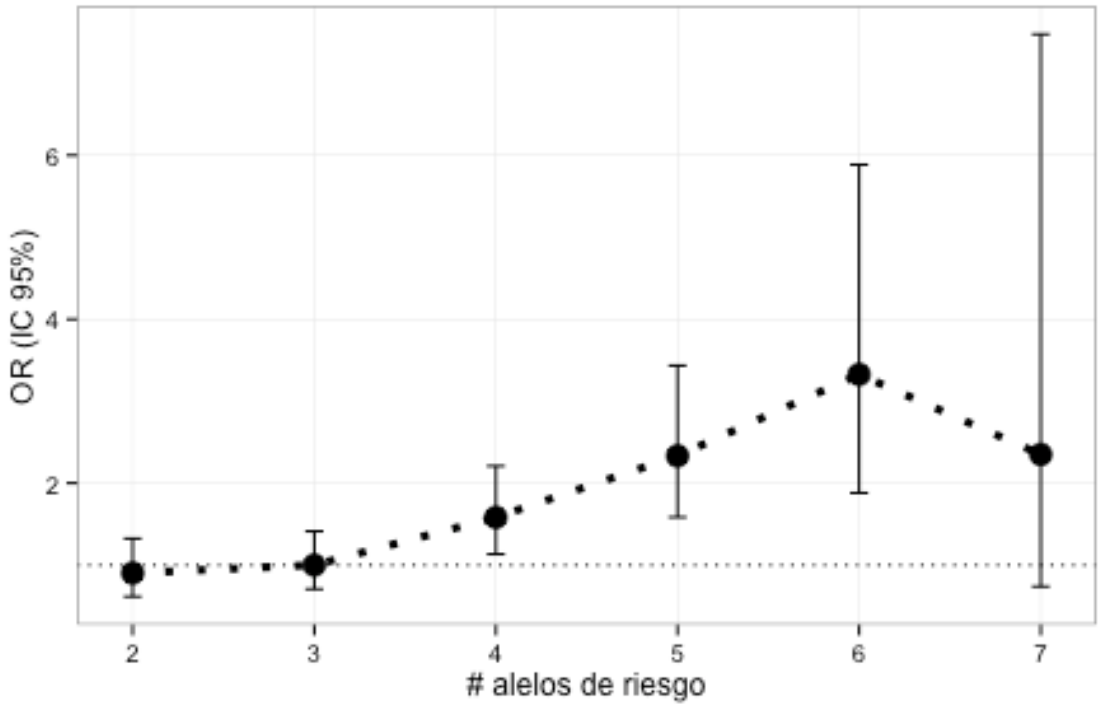
Figura 6. Distribución del número de alelos de riesgo y el porcentaje de riesgo acumulado entre casos y controles para el análisis no ponderado.



Fuente: la autora

Teniendo en cuenta que cada SNP representa un porcentaje diferente de riesgo individual, se realizó un análisis ponderado (Figura 8) que mostró una mejor diferenciación entre casos y controles portadores desde cinco o más SNPs y la prueba de asociación mostró un comportamiento similar (Figura 9), con cinco alelos el riesgo el OR es 1,575 (IC 95% 1,123-2,209) y aumenta al doble con seis (OR= 1,96; IC 95% 1,303-2,949) y más del triple con 7 o más alelos (OR= 3,539 (IC 95% 2,247-5,575). De acuerdo con Liyanarachchi *et al.,* (2013), el riesgo de padecer carcinoma papilar de tiroides aumenta con fuerte significancia entre 1,26 a 1,64 con cada alelo de riesgo adicional, para nuestra muestra el incremento es de hasta 1,58, pero es necesario contar con un mayor número de individuos con más SNPs interactuando. Nuestros resultados tienen significación estadística en concordancia con las curva ROC (Figura 10), y para estos cinco SNPs la sensibilidad y especificidad es del 59,32% (IC 95% 54,27%-65,12%) en el análisis no ponderado y 60,33% (IC del 95%: 56,56%-64,6%) en el análisis ponderado.

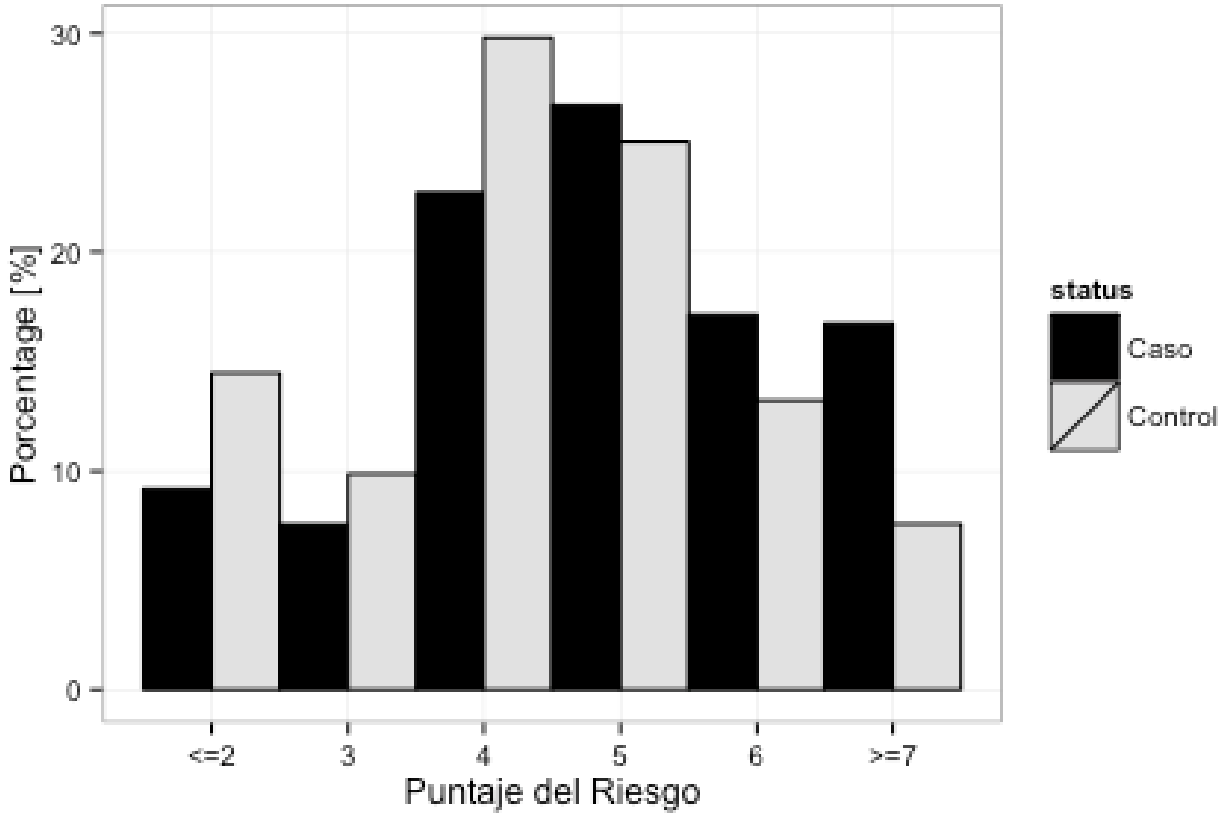
Figura 7. Distribución del número de alelos y el riesgo (OR con su respectivo IC del 95%) para el análisis no ponderado.



Fuente: la autora

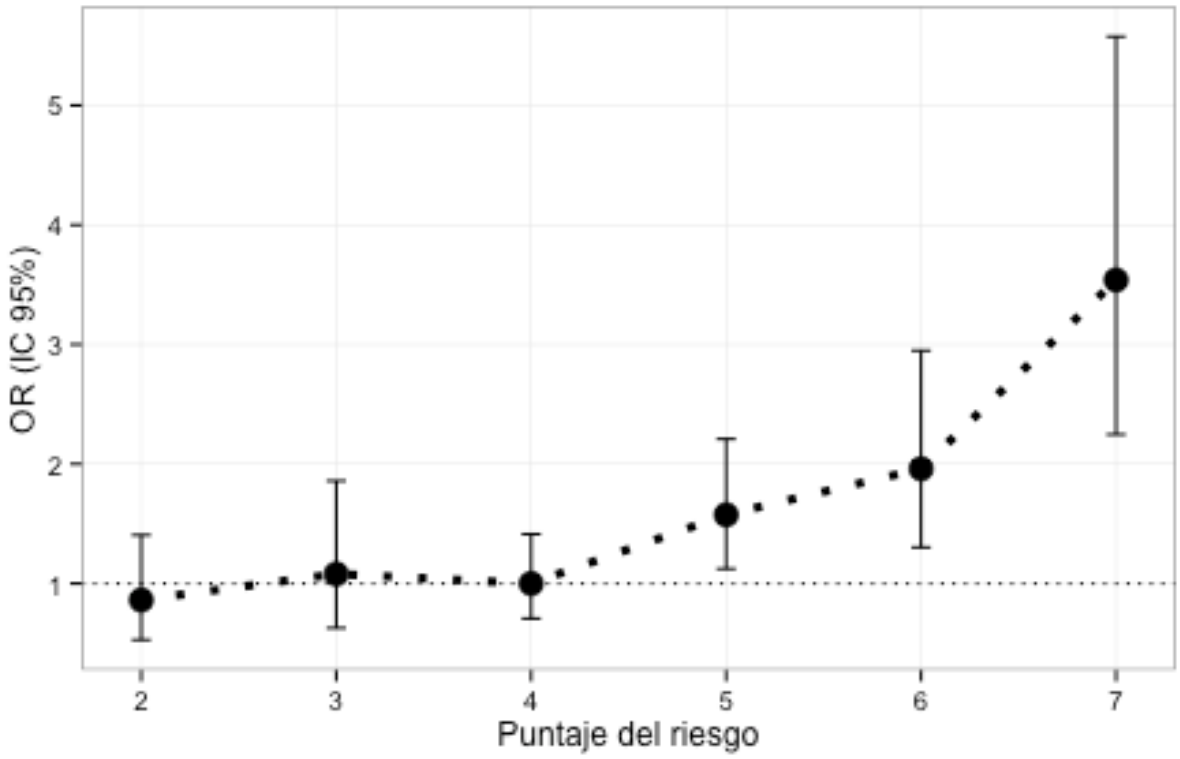
En el estudio de Liyanarachchi, *et al*., 2013, el efecto aditivo de los marcadores de riesgo para Polonia y América, presentó un AUC de 62,1% y 72,4%, respectivamente, utilizando cinco SNPs, en nuestro estudio el AUC fue de 61,33% (IC 95% 56,243-66,425) en el análisis ponderado, mostrando una buena replicación de los datos a pesar del menor número de muestra, lo cual se corrobora con la prueba "*t*" para los puntajes de riesgo entre casos y controles que fue altamente significativa (t= 4,5; df= 462,28; P= 8,609e-06).

Figura 8. Distribución del número de alelos de riesgo y el porcentaje de riesgo acumulado entre casos y controles para el análisis ponderado.



Fuente: la autora

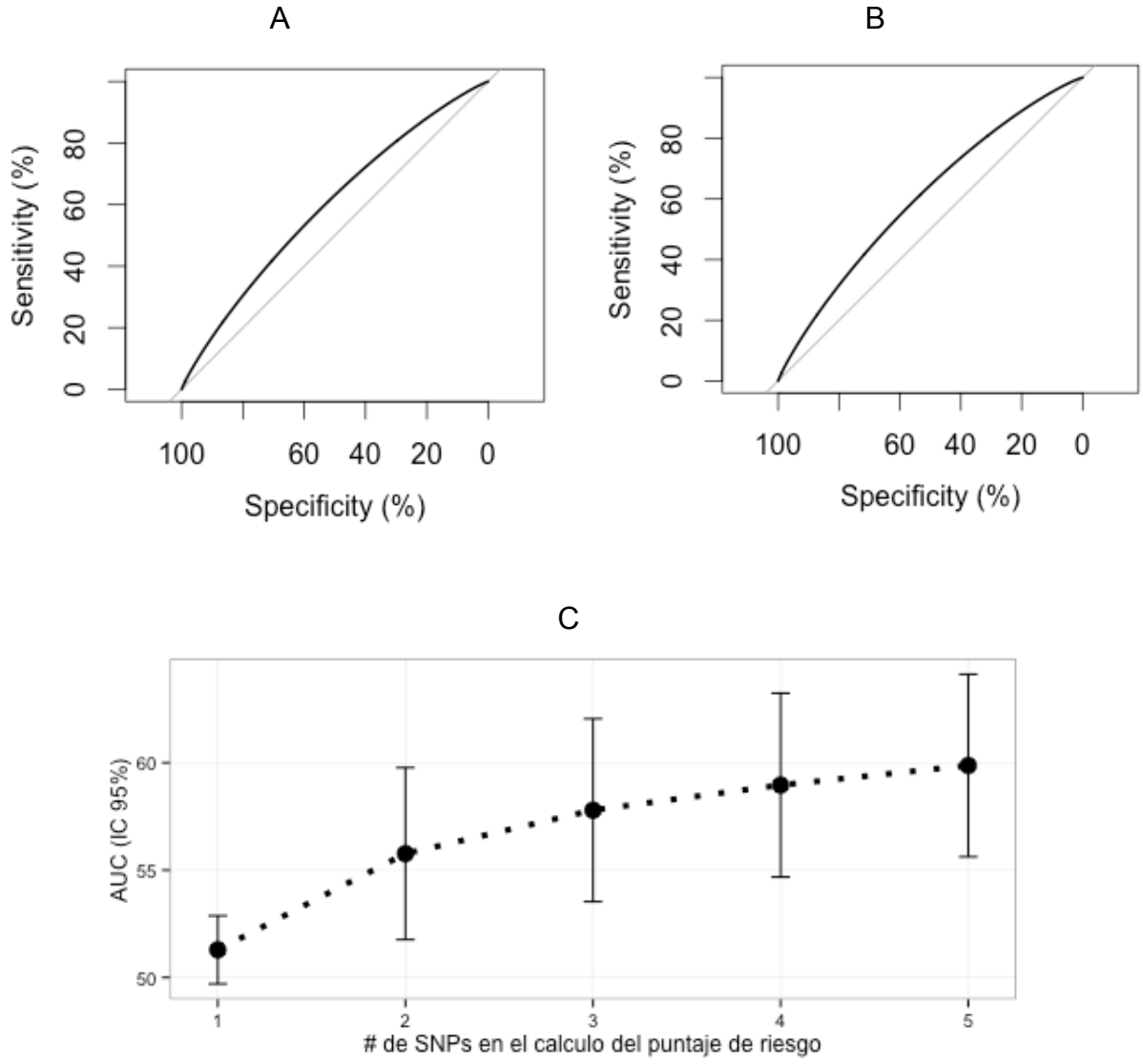
Figura 9. Distribución del número de alelos y el riesgo (OR con su respectivo IC del 95%) para el análisis ponderado.



Fuente: la autora

Para pacientes con cáncer papilar de tiroides de China, se encontró asociación con el riesgo respecto a los SNPs rs944289 (OR= 1,53; IC 95% 1,34-1,74; P= 2,028e-10), rs965513 (OR= 1,53; IC 95% 1,23-1,90; P= 1,436e-4), rs966423 (OR= 1,31; IC 95% 1,12-1,55; P= 0,0010) y rs2439302 (OR= 1,41; IC 95% 1,20-1,66; P= 2,776e-5) de manera individual y un incremento a 23,587 (IC 95% 2,73-203,77) en el análisis combinado con 6 alelos de riesgo ajustado por género (Wang, *et al.,* 2013).

Figura 10. Evaluación del poder discriminativo (A) no ponderado y (B) ponderado mediante Curvas ROC y (C) área bajo la curva (AUC).



Fuente: la autora

7.4.3. Modelo de regresión logística para el riesgo de padecer cáncer de tiroides según factores de riesgo ambientales y genéticos. A partir del análisis de todas las variables anteriores se obtuvo un modelo de regresión logística con el cual se determinó que, al analizar en conjunto, las variables con mayor influencia sobre el riesgo de padecer carcinoma de tiroides fueron: el estrato socioeconómico, el nivel de escolaridad y la presencia del alelo de riesgo en los SNPs rs2439302, rs6983267 y rs1867277 (Tabla

29). En el caso de las mujeres, las variables que influyen en la presencia de la enfermedad, según el modelo obtenido, son: el tipo de menopausia, la planificación hormonal y la presencia del alelo de riesgo en los SNPs rs2439302 y rs1867277.
El modelo descartó el consumo de tabaco y alcohol como factores de riesgo tanto en la población general como en el análisis del género femenino.

Tabla 29. Regresión logística para variables ambientales y genéticas.

A) Casos y controles

	Coeficiente	**Error Estándar**	**z**	**Valor P**
Estrato Alto	**0,960**	0,351	2,734	**0,0063**
Escolaridad Superior	**0,553**	0,241	2,293	**0,0219**
rs2439302	**0,662**	0,293	2,258	**0,0239**
rs6983267	**0,632**	0,312	2,030	**0,0424**
rs965513	0,776	0,445	1,744	0,0812
rs1867277	**1,143**	0,358	3,190	**0,0014**
rs116909374	1,113	0,715	1,555	0,1199

Total correctamente clasificado: 64,45%

B) Mujeres

	Coeficiente	**Error Estándar**	**z**	**Valor P**
Menopausia No funcional	**2,194**	0,827	2,652	**0,0079**
Menopausia Tardía	-1,147	0,732	-1,566	0,1173
Planifica	**0,590**	0,283	2,088	**0,0368**
rs2439302	**0,679**	0,327	2,079	**0,0376**
rs1867277	**0,897**	0,387	2,317	**0,0205**
rs944289	0,493	0,284	1,733	0,0831

Total correctamente clasificado: 65,43%

Se resaltan en negrillas los valores P significativos al 95% de confianza.

7.4.4. Mutación V600E del gen *BRAF.* En carcinoma papilar de tiroides, se han identificado principalmente mutaciones en los genes BRAF, RET, KRAS y NTRK1, todos ellos participantes de la vía de señalización de las quinasas MAPK y para la variante folicular de PTC son más comunes las translocaciones en PAX8 y PPARG (Vu-Phan & Koenig, 2014).

La mutación V600E del gen BRAF juega un rol importante en los primeros pasos de la carcinogénesis de la tiroides y su progresión hacia las formas anaplásicas (Begum, *et al.,* 2004; Quirós, *et al.,* 2005).

A fin de verificar el origen esporádico de la mutación, se realizó la genotipificación aleloespecífica del rs113488022, en 253 muestras de ADN de sangre de casos, encontrando que todas las muestras presentan timina en la posición 1799 y, por lo tanto, son silvestres para el gen BRAF. Además, se realizó la amplificación y secuenciación del exón 15 de este gen en 164 muestras de tejido tumoral, estableciendo que 84 muestras con PTC presentan el cambio de timina por adenina (T1799A), por lo tanto, son positivas para la mutación V600E, mientras que 69 muestras de PTC y 11 de FTC fueron silvestres. Además de presentarse en PTC, la mutación BRAF V600E se presenta en la mayoría de melanomas y leucemias de células pilosas, así como en algunos astrocitomas y carcinomas de colon, pulmón y ovario (Pakneshan, *et al.*, 2013).

Centrando el análisis a las muestras de PTC, el 54,4% de las mujeres y el 57,1% de los hombres presentaron la mutación, esto concuerda con los reportes de Estados Unidos con 69% de muestras de PTC con la mutación (Cohel, *et al*., 2003); Italia con 58,3% (Fernández, *et al*., 2013), 29,1% (Frattini, *et al*., 2004); 56,9% (Guerra, *et al*., 2012), 40% (Puxeddu *et al*., 2004); Korea con 74,3% (Lang, *et al*., 2014), 75,3% (Lim, *et al.,* 2013) y 73,7% (Kim, *et al.,* 2013). De 28 a 77% de todos los casos de PTC presentan la mutación y el promedio es de alrededor del 45% a nivel mundial (Vu-Phan & Koenig, 2014).

Como se muestra en la tabla 30, no se encontraron diferencias significativas en las comparaciones respecto al género (P=0,999), ni la edad de diagnóstico inferior o mayor

a 45 años (P= 0,458) y la presencia de la mutación V600E de *BRAF*, similar a lo reportado por Lupi, *et al*., 2007, con 42,8% de muestras de pacientes italianos PTC con la mutación, sin diferencias entre géneros y grupos de edad mayor o menor de 45 años.

Tabla 30. Comparación de la presencia de la mutación BRAF en tejidos de PTC respecto al género y la edad de diagnóstico.

		n (%)	n (%)	OR (IC 95%)	Valor P
		Mujer	**Hombre**		
≥ 45	Silvestre	26 (23,0)	6 (24,0)	Referencia	
	V600E	42 (37,2)	7 (28,0)	1,385 (0,419-4,575)	0,823
< 45	Silvestre	23 (20,4)	4 (16,0)	Referencia	
	V600E	22 (19,5)	8 (32,0)	0,478 (0,126-1,817)	0,442
Total	Silvestre	57 (45,6)	12 (42,9)	Referencia	
	V600E	68 (54,4)	16 (57,1)	0,895 (0,391-2,046)	0,999
		V600E	**Silvestre**		
≥ 45 PTC		49 (62,0)	32 (54,2)	Referencia	
< 45 PTC		30 (38,0)	27 (45,8)	0,726 (0,366-1,439)	0,458

Se resaltan en negrillas los valores P con corrección de Yates, significativos al 95% de confianza.

El cambio de valina por ácido glutámico ocasionado por la mutación del codón GTG a GAG (T1799A → V600E), se ha relacionado con el avance y complicaciones de la enfermedad, puesto que Lee, *et al.,* 2010 y Xing, *et al*., 2005 reportan un 60 y 71% de muestras con extensión extratiroidea que presentan la mutación V600E, lo cual es similar a lo encontrado en la muestra para Colombia con un 67,7% de casos con extensión extratiroidea y positivos para la mutación, aunque no se obtuvo significancia estadística en la asociación (Tabla 31).

La mutación V600E se identificó en el 80,8% de las muestras con tumor bilateral y por lo tanto, se asoció significativamente con un riesgo cuatro veces mayor de presentar tumor bilateral (Tabla 31). También se encontró un incremento superior al doble en el riesgo de presentar tumores de tamaño superior 1cm y con invasión a ganglios linfáticos. En este trabajo, se destaca que el 67,3% de los pacientes muestreados con N1a y 1b presentaron la mutación, lo cual concuerda con lo reportado por Lee, *et al.,* 2010, Lupi, *et al*., 2007 y Xing, *et al.,* 2005, donde el 60, 64 y 70% de casos con invasión a ganglios linfáticos fueron positivos para la mutación V600E, respectivamente.

En concordancia con nuestros datos, para Corea se reporta mayor porcentaje de casos con la mutación V600E en tumores grandes (>0,8cm vs <0,7cm, P<0,001), mayor incidencia de extensión extratiroidea (61 vs 43,3%, P<0,001), metástasis a ganglios centrales (37,4 vs 23%) y una baja incidencia de tiroiditis de Hashimoto respecto a los silvestres (34,6 vs 52,5%), además, se ha comprobado que la mutación V600E es un factor útil para predecir la metástasis a ganglios centrales oculta en el examen clínico, es decir en los casos que fueron clasificados inicialmente como cN0 pero resultaron pN1a después del análisis histopatológico, aunque con sensibilidad (82,5%), especificidad (29,8%), VPP (37,4%) y VPN (77%) relativamente bajos, lo cual podría mejorar, analizando una muestra de mayor tamaño (Lang, *et al*., 2014).

Para pacientes de PTC de Corea, se reporta asociación estadísticamente significativa (P<0.05) en análisis univariados y OR diferentes de 1, aunque sin significancia estadística en el análisis multivariado, en el análisis de la mutación V600E y características clinicopatológicas como el tamaño del tumor superior a 1cm (OR= 2,050; IC 95% 0.887-4.736), la extensión extratiroidea (OR= 1,508; IC 95% 0,874-2,602), el tipo histológico clásico (OR= 2,697; IC 95% 0,926-7,855), y la tiroiditis de Hashimoto (OR= 0,584; IC 95% 0,312-1,095), además, no se reportan asociaciones respecto a la edad, el género, la invasión de ganglios, la presencia de lesiones multifocales o el TNM (Kim, *et al.,* 2013).

Tabla 31. Comparación de la presencia de la mutación BRAF en tejidos de PTC respecto a las características del tumor.

	V600E	Silvestre	OR (IC 95%)	Valor P
Bilateral				
No	63 (49,6)	64 (50,4)	Referencia	
Si	21 (80,8)	5 (19,2)	4,267 (1,515-12,017)	**0,0071**
Tumor Multifocal				
No	46 (50,5)	45 (49,5)	Referencia	
Si	33 (60,0)	22 (40,0)	1,467 (0,745-2,891)	0,3482
Tamaño del tumor				
<1cm	16 (39,0)	25 (61,0)	Referencia	
>1cm	62 (60,8)	40 (39,2)	2,422 (1,152-5,09)	**0,0295**
Compromete la capsula				
No	43 (48,9)	45 (51,1)	Referencia	
Si	41 (63,1)	24 (36,9)	1,788 (0,929-3,44)	0,1138
Invasión vascular				
No	65 (55,1)	53 (44,9)	Referencia	
Si	19 (54,3)	16 (45,7)	0,968 (0,454-2,065)	0,9203
Invasión de ganglios				
No	51 (49,0)	53 (51,0)	Referencia	
Si	33 (67,3)	16 (32,7)	2,143(1,054-4,36)	**0,0379**
Extensión extratiroidea				
No	63 (51,6)	59 (48,4)	Referencia	
Si	21 (67,7)	10 (32,3)	1,967 (0,855-4,522)	0,1594

Se resaltan en negrillas los valores P con corrección de Yates, significativos al 95% de confianza.

Aunque no se encontró significancia en la asociación respecto al compromiso capsular e invasión vascular, se destaca que el 64,1% y el 54,3% de los pacientes presentaron estas características. En pacientes de China, se encontró una correlación positiva (P=

0,0003) entre la sobre-expresión de *BRAF*, la extensión extracapsular y la metástasis a ganglios linfáticos (Wei, *et al.,* 2014)

En la tabla 32, se presentan los datos de estadificación de las muestras tipificadas para *BRAF*, con y sin la mutación. En el análisis del riesgo, se destaca la asociación positiva entre la presencia de la mutación al comparar los tumores clasificados como T1 respecto a los T2 (OR= 2,18; IC 95% 1,036-4,586; P= 0,0431), y aunque el número de muestras es bajo, se observa un incremento del riesgo con valor P de 0,097 en los tumores clasificados de T2 en adelante, en presencia de V600E. El cálculo del riesgo no presentó significancia estadística para el grado de diferenciación, donde el 52,4% de los casos de PTC con la mutación presentaron tumor bien diferenciado (G1); así como el 46,15% de los moderada y pobremente diferenciado (G2 y G3). Tampoco hay significancia para el estado, aunque en presencia de la mutación el OR es superior a 2 en los estados III-IV.

El grado de diferenciación y el estado, tampoco fueron relacionados con la mutación V600E en pacientes de PTC de la India, donde la mutación se presentó en todos los bien diferenciados y en estados I y II, aunque se debe tener en cuenta que la muestra es muy pequeña para tener conclusiones (15 V600E positivos de 60 caso analizados) (Khan, *et al.*, 2014). Para pacientes de Italia, se reporta una mayor incidencia de la mutación V600E en pacientes en estado III (P <0,036), con invasión capsular (P <0,016), multifocales (P< 0,026) y asociados con tiroiditis linfocítica (Pelizzo, *et al.,* 2014).

Algunas características como la invasión de ganglios, extensión extratiroidea y estados avanzados (III y IV) de la enfermedad, así como el incremento en la recurrencia y mortalidad, han sido relacionados con la mutación V600E de BRAF (Xing, 2010; Zhang, *et al.,* 2014; Xing, *et al.,* 2014; Zoghlami, *et al.,* 2013). El efecto de la mutación en la proliferación y diferenciación celular ha sido comprobado en estudios *in vitro*, puesto que se ha inducido la formación de tumores en líneas celulares y ratones (Mitsutake, *et al.,* 2005) y la inestabilidad genómica en líneas celulares (Moretti, *et al*., 2006), además, de la formación de glándulas tiroides anormales y tumores invasivos en ratones

transgénicos con expresión temprana de V600E (Charles, *et al.,* 2011; Knauf, *et al.,* 2005).

Nueve casos tipificados para BRAF reportan metástasis a distancia, de los cuales cinco fueron positivos para la mutación V600E, la cual está implicada en la sobre activación de la ruta de las quinasas MAPK (Cantwell-Dorris, *et al*., 2011) y, por lo tanto, causa un incremento de la proliferación y supervivencia de las células tumorales, además, esta mutación se presentó en 6 de los 9 casos con recurrencia tipificados, por lo tanto, concuerda con los reportes de asociación con la recurrencia (Prescott, *et al*., 2012; Elisei, *et al*., 2012; Fernández, *et al*., 2013; Kim, *et al*., 2012; Lim, *et al*., 2013; Nimba, *et al*., 2003; Nikiforova, *et al*., 2003a; Xing, *et al*., 2005).

En contraste, para una muestra de 766 pacientes de Japón, con un seguimiento posterior al diagnóstico y tratamiento de aproximadamente 130 meses, se encontró que el 37% presentaron la mutación V600E y ésta no mostró asociación con la recurrencia a ganglios linfáticos (P= 0,70), recurrencia a distancia (0,696), pero si frente al estado IVa (0,021) y en las comparaciones multivariadas dentro de los casos con recurrencia a distancia, para la edad de diagnóstico (OR= 4,885; IC 95%1,478–16,146 en mayores de 45 años), la extensión extratiroidea (OR 5,556; IC 95% 2,710–11,364) y el N1 (OR= 5,076; IC 95% 2,398–10,753) (Ito*, et al.,* 2014).

En un análisis de cáncer papilar de tiroides de pacientes de Baltimore (USA), se encontró asociación significativa entre la recurrencia y la presencia de mutaciones simultaneas en BRAF V600E y TERT C228T (HR= 3,10; IC 95% 1,24-7,75 para todas las variedades de PTC y HR= 4,39; IC 95% 1,42-13,54 para PTC convencional), aunque no hay significancia en los casos que presentan un solo gen afectado (HR= 1,17; IC 95% 0,62-2,20 para BRAF y HR= 0,87; IC 95% 0,27-2,76 para TERT), por lo tanto, estos dos genes presentan un efecto cooperativo, puesto que la mutación C228T incrementa la actividad transcripcional del promotor TERT, el cual adiciona telómeros a los cromosomas causando el incremento de la proliferación celular y el decrecimiento de la apoptosis (Xing, *et al.,* 2014).

Tabla 32. Estadificación de las muestras de PTC con y sin la mutación V600E de BRAF.

	V600E	Silvestre	Comparación	OR (IC 95%)	Valor P
TNM					
TX	6 (46,2)	7 (53,8)	T1	Referencia	
T1	26 (43,3)	34 (56,7)	T2	2,18 (1,036-4,586)	**0,0431**
T2	35 (62,5)	21 (37,5)	T3	1,214 (0,488-3,021)	0,8625
T3	13 (48,1)	14 (51,9)	T3-T4	1,235 (0,535-2,852)	0,7773
T4a	3 (42,9)	4 (57,1)	>T2	1,744 (0,903-3,367)	0,0967
T4b	1 (100)				
N0-NX	52 (44,8)	64 (55,2)	N0-NX	Referencia	
N1a	26 (65,0)	14 (35,0)	N1a-N1b	2,462 (1,219-4,971)	**0,0176**
N1b	6 (75,0)	2 (25,0)			
M0-MX	79 (51,0)	76 (49,0)	M0-MX	Referencia	
M1	5 (55,6)	4 (44,4)	M1	1,203 (0,311-4,648)	1
Grado de diferenciación					
GX	12 (54,5)	10 (45,5)			
G1	54 (52,4)	49 (47,6)	G1	Referencia	
G2	17 (48,6)	18 (51,4)	G2-G3	0,778 (0,372-1,628)	0,6315
G3	1 (25,0)	3 (75,0)			
Estado ≥45 años					
I	15 (45,5)	18 (54,5)	I	Referencia	
II	12 (63,2)	7 (36,8)	II	2,057 (0,647-6,542)	0,3455
III	17 (60,7)	11 (39,3)	III - IV	2,031 (0,770-5,354)	0,2318
IVA	2 (100,0)				
IVC	3 (60,0)	2 (40,0)			
Estado <45 años					
I	28 (50,0)	28 (50,0)			
II	2 (40,0)	3 (60,0)			

Se resaltan en negrillas los valores P con corrección de Yates, significativos al 95% de confianza.

La mutación V600E se han relacionado con cambios epigenéticos como la metilación de otros genes, incluyendo los supresores de tumores TIMP3, SLC5A8, DAPK y RARβ2, lo cual se ha correlacionado con el progreso del tumor y un comportamiento más agresivo que genera invasión extratiroidea, metástasis a ganglios linfáticos y metástasis a distancia (Hu et al. 2006; Russo, et al., 2011). Dicha mutación también se han relacionado con la reducción de la expresión de proteínas de transporte de yodo (NIS) haciendo insuficiente la terapia con radioiodo o necesaria una mayor exposición para mitigar la enfermedad y su recurrencia (Elisei, *et al*., 2012; Gao*, et al*., 2012), gracias al conocimiento de estas características se han generado medicamentos para restablecer la actividad NIS, cómo Selumentinib que inhibe la actividad de MEK (normalmente activado por BRAF) e incrementa la respuesta al radioiodo (Ho *et al.,* 2013) y PLX4032 que reduce parcialmente el tamaño del tumor (Kim, *et al.,* 2013) y actúa como promotor de señalización en la ruta de las MAPK semejante a BRAF silvestre, bloquea la señal de BRAF V600E, causa apoptosis selectiva en células con BRAF V600E y reduce la replicación del ADN en células tumorales (Hanly, *et al.,* 2014).

Respecto al uso de marcadores en el diagnóstico molecular de PTC, Zhang y colaboradores (2014), analizaron 5 genes en muestras de tejido obtenido mediante biopsias con aguja fina y encontraron que BRAF presenta la mayor sensibilidad (71,43%), especificidad (100%), VPP(100%), VPN (75,5%) y precisión (71,43%), respecto a CALCA, DAPK1, TIMP3, RAR-beta, RASSF1A, la sensibilidad se incrementa a 88,1% usando los 5 genes, esto es muy interesante teniendo en cuenta que un alto porcentaje de biopsias (25% en la población China) generan resultados indeterminados, además de no ofrecer información a cerca del comportamiento de la enfermedad. Resultados similares se han reportado en el análisis de 7 genes (V600E en BRAF, codón 61 en NRAS, codones 12 y 13 en KRAS, RET/PTC1, RET/PTC3 y GAPDH), donde los autores encontraron que el gen BRAF presentó una sensibilidad de 76,5%, especificidad y PPV de 100%, NPV de 83,9% y precisión de 89,45 en el diagnóstico de PTC, siendo superado únicamente por la evaluación citológica del tejido (Liu, *et al*., 2014).

A pesar de los tratamiento existentes, entre el 20 y 30% de los pacientes presentan recurrencia de cáncer de tiroides y además, un pequeño pero importante número de pacientes desarrolla enfermedad metastásica cuando las terapias tradicionales fallan, demostrando la necesidad de mejorar en el conocimiento y uso de la información para generar terapias más especificas, tal es el caso de la mutación BRAF y su potencial para predecir un fenotipo con mayor agresividad y mal pronóstico, dada su correlación con estados avanzados, metástasis a ganglios, extensión extratiroidea y resistencia a la terapia con radio-iodo (Hanly, *et al.,* 2014). Por esta razón, se considera importante tener en cuenta, también en la población colombiana, la tipificación de esta mutación en los tejidos de los pacientes, a fin de contribuir a la escogencia de un adecuado tratamiento quirúrgico y posquirúrgico, que garantice su supervivencia y calidad de vida.

La mutación V600E se presentó en casos con y sin antecedentes familiares de cáncer y no se encuentran diferencias entre los grupos (Anexo X), lo cual, junto con su ausencia en las muestras de ADN obtenido a partir de sangre, apoya la hipótesis que, al menos en nuestra muestra, esta es una mutación de origen esporádico. Sin embargo, se destaca que se presentó en 11 de los 16 pacientes con antecedentes de cáncer de tiroides en primer y/o segundo grado (padres, hijos, abuelos y/o hermanos), 5 de los 7 pacientes con antecedentes de cáncer de colon, 4 de los 5 casos con familiares con cáncer de seno, 5 de los 9 casos con cáncer gástrico y el único caso con cáncer de parótida.

Se realizó una comparación del riesgo para los diferentes polimorfismos y la presencia o ausencia de la mutación BRAF en tejidos de PTC, encontrando que ninguno de los SNPs presentó asociación con la mutación en las comparaciones intracasos y no se observó significancia en el riesgo calculado para cada grupo respecto a los controles, esto posiblemente debido al tamaño de la muestra analizada (Anexo X). Para la población Japonesa se reporta una asociación entre el rs965513 y V600E con OR de 1,72 (IC 95% 1,29-2,29, p valor = 2,26 x 10^{-4}) y ausencia de asociación respecto al rs944289, sin embargo, los autores no encuentran diferencias intracasos debido al tamaño de la muestra (Matsuse, *et al*., 2011).

9. CONCLUSIONES

En Colombia, el diagnóstico de carcinoma de tiroides es tardío dado el tamaño y características del tumor en la muestra analizada, además, se encontró asociación entre un mayor estrato socioeconómico y educativo, posiblemente debido a las diferencias en el acceso al sistema de salud.

La relación entre el desarrollo de cáncer de tiroides y factores hormonales, se evidenció en una frecuencia de diagnóstico cinco veces superior en mujeres que en hombres, la cual se incrementa en quienes presentaron menarquia temprana, menopausia no funcional y uso de planificación hormonal.

Se encontró asociación entre los polimorfismos analizados y el desarrollo de la patología, evidenciando la importancia de genes de baja penetrancia como factor de riesgo genético en los casos considerados esporádicos, más aún en quienes reportaron antecedentes de adenocarcinomas en familiares de primer y segundo grado.

Se confirma el origen esporádico de la mutación V600E del gen BRAF, presente únicamente en tejidos tumorales de PTC y su relación con estados avanzados de la enfermedad, lo cual apoya su uso como herramienta decisiva en el diagnóstico, tratamiento y pronóstico.

RECOMENDACIONES

Estandarizar la toma de datos en la entrevista para disminuir los rangos en variables como consumo de alcohol y cigarrillo, para las cuales es difícil analizar la frecuencia y tiempo de consumo.

Analizar los factores reproductivos y hormonales, teniendo en cuenta si ocurrieron antes o después de la presencia de la enfermedad.

Realizar un análisis amplio del genoma (GWAs) en la población de estudio teniendo en cuenta que su componente genético puede ser diferente al europeo y asiático de los cuales se tienen datos de referencia.

Analizar un mayor número de muestras tumorales con el fin de llevar a cabo los análisis respecto a los SNPs de riesgo y otros genes implicados en la división, el crecimiento y la diferenciación celular.

REFERENCIAS

Abuli, A., Bessa, X., Gonzalez, J. R., Ruiz-Ponte, C., Caceres, A., Munoz, J., . . . Gastrointestinal Oncology Group of the Spanish Gastroenterological. (2010). Susceptibility genetic variants associated with colorectal cancer risk correlate with cancer phenotype. Gastroenterology, 139(3), 788-796, 796 e781-786. doi: 10.1053/j.gastro.2010.05.072

Ahn, J., Kibel, A. S., Park, J. Y., Rebbeck, T. R., Rennert, H., Stanford, J. L., . . . Hayes, R. B. (2011). Prostate cancer predisposition loci and risk of metastatic disease and prostate cancer recurrence. Clin Cancer Res, 17(5), 1075-1081. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-0881

Ai, L., Liu, X., Yao, Y., Yu, Y., Sun, H., & Yu, Q. (2014). Associations between rs965513/rs944289 and papillary thyroid carcinoma risk: a meta-analysis. Endocrine, 47(2), 428-434. doi: 10.1007/s12020-014-0256-4

Ai, L., Yu, Y., Liu, X., Wang, C., Shi, J., Sun, H., & Yu, Q. (2014). Are the SNPs of NKX2-1 associated with papillary thyroid carcinoma in the Han population of Northern China? Front Med, 8(1), 113-117. doi: 10.1007/s11684-014-0310-x

Akslen, L. a, Nilssen, S., & Kvåle, G. (1992). Reproductive factors and risk of thyroid cancer. A prospective study of 63,090 women from Norway. British journal of cancer, 65(5), 772-774.

Akulevich, N. M., Saenko, V. A., Rogounovitch, T. I., Drozd, V. M., Lushnikov, E. F., Ivanov, V. K., . . . Yamashita, S. (2009). Polymorphisms of DNA damage response genes in radiation-related and sporadic papillary thyroid carcinoma. Endocr Relat Cancer, 16(2), 491-503. doi: 10.1677/ERC-08-0336

Alsanea, O., Wada, N., Ain, K., Wong, M., Taylor, K., Ituarte, P. H., . . . Clark, O. H. (2000). Is familial non-medullary thyroid carcinoma more aggressive than sporadic thyroid cancer? A multicenter series. Surgery, 128(6), 1043-1050;discussion 1050-1041. doi: 10.1067/msy.2000.110848

American Cancer Society. (2015, 03/17/2015). Thyroid cancer: what are the key statistics about thyroid cancer? Retrieved May 10, 2015, from www.cancer.org/cancer/thyroidcancer/detailedguide/thyroid-cancer-key-statistics

Argos, M. (2011). Genetic Susceptibility to Arsenic Exposure and Arsenical Skin Lesion Prevalence in Bangladesh. Tesis doctoral. Universidad de Columbia, 215p. USA.

Arthan, D., Hong, S. K., & Park, J. I. (2010). Leukemia inhibitory factor can mediate Ras/Raf/MEK/ERK-induced growth inhibitory signaling in medullary thyroid cancer cells. Cancer Lett, 297(1), 31-41. doi: 10.1016/j.canlet.2010.04.021

Avruch, J., Khokhlatchev, A., Kyriakis, J.M., Luo, Z., Tzivion, G., Vavvas, D., & Zhang, X.F. (2001). Ras activation of the Raf kinase: Tyrosine kinase recruitment of the MAP kinase cascade. Recent Prog. Horm. Res. 56 , 127–155.

Bakiri, F., Djemli, F., Mo krane, L. & Djidel, F. (1998). The relative roles of endemic goiter and socioeconomic development status in the prognosis of thyroid carcinoma. Cancer 82 (6): 1146-1153.

Beebe-Dimmer, J. L., Levin, A. M., Ray, A. M., Zuhlke, K. A., Machiela, M. J., Halstead-Nussloch, B. A., . . . Douglas, J. A. (2008). Chromosome 8q24 markers: risk of early-onset and familial prostate cancer. Int J Cancer, 122(12), 2876-2879. doi: 10.1002/ijc.23471

Begum, S., Rosenbaum, E., Henrique, R., Cohen, Y., Sidransky, D., & Westra, W. H. (2004). BRAF mutations in anaplastic thyroid carcinoma: implications for tumor origin,

diagnosis and treatment. Modern Pathology : An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc, 17(11), 1359-1363. http://doi.org/ 10.1038/modpathol.3800198

Beuten, J., Gelfond, J. A., Martinez-Fierro, M. L., Weldon, K. S., Crandall, A. C., Rojas-Martinez, A., . . . Leach, R. J. (2009). Association of chromosome 8q variants with prostate cancer risk in Caucasian and Hispanic men. Carcinogenesis, 30(8), 1372-1379. doi: 10.1093/carcin/bgp148

Bignell, G. R., Canzian, F., Shayeghi, M., Stark, M., Shugart, Y. Y., Biggs, P., . . . Foulkes, W. D. (1997). Familial nontoxic multinodular thyroid goiter locus maps to chromosome 14q but does not account for familial nonmedullary thyroid cancer. Am J Hum Genet, 61(5), 1123-1130. doi: 10.1086/301610

Blumenthal, G. M., & Dennis, P. A. (2008). PTEN hamartoma tumor syndromes. Eur J Hum Genet, 16(11), 1289-1300. doi: 10.1038/ejhg.2008.162

Bonneau, D., & Longy, M. (2000). Mutations of the human PTEN gene. Human mutation, 16(2), 109-122. doi: 10.1002/1098-1004(200008)16:2<109::AID-HUMU3>3.0.CO;2-0

Bonora, E., Rizzato, C., Diquigiovanni, C., Oudot-Mellakh, T., Campa, D., Vargiolu, M., . . . Lesueur, F. (2014). The FOXE1 locus is a major genetic determinant for familial nonmedullary thyroid carcinoma. Int J Cancer, 134(9), 2098-2107. doi: 10.1002/ijc.28543

Bonora, E., Tallini, G., & Romeo, G. (2010). Genetic Predisposition to Familial Nonmedullary Thyroid Cancer: An Update of Molecular Findings and State-of-the-Art Studies. J Oncol, 2010, 385206. doi: 10.1155/2010/385206

Brankovic, A. S., Brajuskovic, G. N., Mircetic, J. D., Nikolic, Z. Z., Kalaba, P. B., Vukotic, V. D., . . . Romac, S. P. (2013). Common variants at 8q24 are associated with prostate

cancer risk in Serbian population. Pathol Oncol Res, 19(3), 559-569. doi: 10.1007/s12253-013-9617-1

Brown, R. L., & Cohen, E. E. W. (2008). Novel approaches in the treatment of thyroid cancer. Update on Cancer Therapeutics, 3(1), 1-11. doi: 10.1016/j.uct.2008.01.002

Bullock, M., Duncan, E. L., O'Neill, C., Tacon, L., Sywak, M., Sidhu, S., . . . Clifton-Bligh, R. J. (2012). Association of FOXE1 polyalanine repeat region with papillary thyroid cancer. J Clin Endocrinol Metab, 97(9), E1814-1819. doi: 10.1210/jc.2012-1456

Bychkov, A., Saenko, V., Nakashima, M., Mitsutake, N., Rogounovitch, T., Nikitski, A., . . . Yamashita, S. (2013). Patterns of FOXE1 expression in papillary thyroid carcinoma by immunohistochemistry. Thyroid, 23(7), 817-828. doi: 10.1089/thy.2012.0466

Canadas Garre, M., Lopez de la Torre Casares, M., Becerra Massare, P., Lopez Nevot, M. A., Villar Del Moral, J., Munoz Perez, N., . . . Llamas Elvira, J. M. (2011). [BRAF(T1799A) mutation in the primary tumor as a marker of risk, recurrence, or persistence of papillary thyroid carcinoma]. Endocrinol Nutr, 58(4), 175-184. doi: 10.1016/j.endonu.2011.02.006

Cañadas, M. (2010). diagnóstico preoperatorio de carcinoma papilar de tiroides mediante la determinación de la mutación BRAFT199A en citologías de tiroides obtenidas mediante punción y aspiración con aguja fina (PAAF). Tesis doctoral Departamento de Fisiología, Universidad de Granada, España.

Cancer Genome Atlas Research, N. (2014). Integrated genomic characterization of papillary thyroid carcinoma. Cell, 159(3), 676-690. doi: 10.1016/j.cell.2014.09.050

Cantwell-Dorris, E. R., O'Leary, J. J., & Sheils, O. M. (2011). BRAFV600E: implications for carcinogenesis and molecular therapy. Mol Cancer Ther, 10(3), 385-394. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-10-0799

Capezzone, M., Marchisotta, S., Cantara, S., Busonero, G., Brilli, L., Pazaitou-Panayiotou, K., . . . Pacini, F. (2008). Familial non-medullary thyroid carcinoma displays the features of clinical anticipation suggestive of a distinct biological entity. Endocr Relat Cancer, 15(4), 1075-1081. doi: 10.1677/ERC-08-0080

Carreño, M., Suárez, C., Llorente, JL., Martínez, JA., Alvarez, MJ. & Burón, G. (1997). Cáncer de tiroides. Aspectos epidemiológicos, diagnósticos y terapeúticos. Acta Otorrinolaringol Esp; Vol. 48: 647-652.

Carreño, M., Girbés, J., Malluguiza, R., Serrano, S., Matias-Guiu, X., Tudela, J., … Lagarda, H. (2001). Utility of the RET prot-oncogene in the diagnosis of the hereditary medullary thyroid carcinoma. Correlation with the surgical results. Acta Otorrinolaringol, 52, 57-63.

Carvajal-Carmona, L. G., Cazier, J.-B., Jones, A. M., Howarth, K., Broderick, P., Pittman, A., . . . Tomlinson, I. (2011). Fine-mapping of colorectal cancer susceptibility loci at 8q23.3, 16q22.1 and 19q13.11: refinement of association signals and use of in silico analysis to suggest functional variation and unexpected candidate target genes. Hum Mol Genet. doi: 10.1093/hmg/ddr190

Carvajal-Carmona, L. G., Churchman, M., Bonilla, C., Walther, A., Lefèvre, J. H., Kerr, D., . . . Tomlinson, I. (2010). Comprehensive assessment of variation at the transforming growth factor β type 1 receptor locus and colorectal cancer predisposition. Proceedings of the National Academy of Sciences, 107(17), 7858-7862. doi: 10.1073/pnas.1002816107

Carvajal-Carmona, L. G., Spain, S., Kerr, D., Houlston, R., Cazier, J.-B., & Tomlinson, I. (2009). Common variation at the adiponectin locus is not associated with colorectal cancer risk in the UK. Hum Mol Genet, 18(10), 1889-1892. doi: 10.1093/hmg/ddp109

Carvajal-Carmona, L. G., Zauber, A. G., Jones, A. M., Howarth, K., Wang, J., Cheng, T., . . . Tomlinson, I. (2013). Much of the genetic risk of colorectal cancer is likely to be mediated through susceptibility to adenomas. Gastroenterology, 144(1), 53-55. doi: 10.1053/j.gastro.2012.09.016

Cassol, C. A., & Asa, S. L. (2011). Molecular pathology of thyroid cancer. Diagnostic Histopathology, 17(3), 124-139. doi: 10.1016/j.mpdhp.2010.12.006

Chang, L., & Karin, M. (2001). Mammalian MAP kinase signalling cascades. Nature, 410(6824), 37-40. http://doi.org/10.1038/35065000

Charles, R.P., Iezza, G., Amendola, E., Dankort, D., and McMahon, M. (2011). Mutationally activated BRAF(V600E) elicits papillary thyroid cancer in the adult mouse. Cancer Res. 71, 3863–3871.

Cicek, M. S., Slager, S. L., Achenbach, S. J., French, A. J., Blair, H. E., Fink, S. R., . . . Thibodeau, S. N. (2009). Functional and clinical significance of variants localized to 8q24 in colon cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 18(9), 2492-2500. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-09-0362

Cipollini, M., Figlioli, G., Garritano, S., Bramante, S., Maiorano, L., Gnudi, F., . . . Landi, S. (2013). Risk of differentiated thyroid carcinoma and polymorphisms within the susceptibility cancer region 8q24. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 22(11), 2121-2125. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-13-0790

Cohen, Y., Xing, M., Mambo, E., Guo, Z., Wu, G., Trink, B., Beller, U., Westra, WH., Ladenson, PW., Sidransky, D. (2003). BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma. J Natl Cancer Inst. 2003 Apr 16;95(8):625-7.

Corvi, R., Lesueur, F., Martinez-Alfaro, M., Zini, M., Decaussin, M., Murat, A., & Romeo, G. (2001). RET rearrangements in familial papillary thyroid carcinomas. Cancer Letters, 170(2), 191-198. http://doi.org/10.1016/S0304-3835(01)00596-1

Cui, R., Okada, Y., Jang, S. G., Ku, J. L., Park, J. G., Kamatani, Y., . . . Matsuda, K. (2011). Common variant in 6q26-q27 is associated with distal colon cancer in an Asian population. Gut, 60(6), 799-805. doi: 10.1136/gut.2010.215947

Cussenot, O., Azzouzi, A. R., Bantsimba-Malanda, G., Gaffory, C., Mangin, P., Cormier, L., . . . Cancel-Tassin, G. (2008). Effect of genetic variability within 8q24 on aggressiveness patterns at diagnosis and familial status of prostate cancer. Clin Cancer Res, 14(17), 5635-5639. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-4999

D'Avanzo, B., La Vecchia, C., Franceschi, S., Negri, E., & Talamini, R. (1995). History of thyroid diseases and subsequent thyroid cancer risk. Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention, 4(3), 193-199.

Damiola, F., Byrnes, G., Moissonnier, M., Pertesi, M., Deltour, I., Fillon, A., … Kesminiene, A. (2014). Contribution of ATM and FOXE1 (TTF2) to risk of papillary thyroid carcinoma in Belarusian children exposed to radiation. International Journal of Cancer, 134(7), 1659-1668. http://doi.org/10.1002/ijc.28483

Davies, H., Bignell, G. R., Cox, C., Stephens, P., Edkins, S., Clegg, S., … Futreal, P. A. (2002). Mutations of the BRAF gene in human cancer. Nature, 417(6892), 949-954. http://doi.org/10.1038/nature00766

De la Chapelle, A., & Jazdzewski, K. (2011). MicroRNAs in thyroid cancer. J Clin Endocrinol Metab, 96(11), 3326-3336. doi: 10.1210/jc.2011-1004

DeLellis, R. (2006). Pathology and genetics of thyroid carcinoma. En: Journal Surgical Oncology 94: 662-669.

DeLellis, R., Lloyd, R., Heitz, P., Eng, C. (2004). WHO Classification of Tumours of Endocrine Organs. En: Pathology y Genetics: Tumor of Endocrine Organs. IARC Press: Lyon. France

DeRuiter, J. (2002). Thyroid Hormone Tutorial. (Pypp 5260), 1-30.

Dettmer, M., Perren, A., Moch, H., Komminoth, P., Nikiforov, Y. E., & Nikiforova, M. N. (2013). Comprehensive MicroRNA expression profiling identifies novel markers in follicular variant of papillary thyroid carcinoma. Thyroid, 23(11), 1383-1389. doi: 10.1089/thy.2012.0632

Dettmer, M., Vogetseder, A., Durso, M. B., Moch, H., Komminoth, P., Perren, A., . . . Nikiforova, M. N. (2013). MicroRNA expression array identifies novel diagnostic markers for conventional and oncocytic follicular thyroid carcinomas. J Clin Endocrinol Metab, 98(1), E1-7. doi: 10.1210/jc.2012-2694

Dillon, L., Lehman, E. & Wang, YH. (2012). The Role of Fragile Sites in Sporadic Papillary Thyroid Carcinoma. Journal of Thyroid Research. doi:10.1155/2012/927683

Duque, C., García, D., Osorio, C. & Rendon, C. (2008). Thyroid Nodule: Fine-Needle Aspiration Biopsy (FNAB) vs the pathological results, after thyroidectomy or hemithyroidectomy. Acta de Otorrinolaringología & Cirugía de Cabeza y Cuello 36(1): 9-15

Eaker, S., Dickman, P. W., Bergkvist, L., & Holmberg, L. (2006). Differences in management of older women influence breast cancer survival: results from a population-based database in Sweden. PLoS Medicine, 3(3), e25. http://doi.org/10.1371/journal.pmed.0030025

Edwards, B. K., Noone, A. M., Mariotto, A. B., Simard, E. P., Boscoe, F. P., Henley, S. J., . . . Ward, E. M. (2014). Annual Report to the Nation on the status of cancer, 1975-2010, featuring prevalence of comorbidity and impact on survival among persons with lung, colorectal, breast, or prostate cancer. Cancer, 120(9), 1290-1314. doi: 10.1002/cncr.28509

Edwards, S. L., Beesley, J., French, J. D., & Dunning, A. M. (2013). Beyond GWASs: illuminating the dark road from association to function. Am J Hum Genet, 93(5), 779-797. doi: 10.1016/j.ajhg.2013.10.012

Elisei, R., Viola, D., Torregrossa, L., Giannini, R., Romei, C., Ugolini, C., … Basolo, F. (2012). The BRAF V600E Mutation Is an Independent, Poor Prognostic Factor for the Outcome of Patients with Low-Risk Intrathyroid Papillary Thyroid Carcinoma: Single-Institution Results from a Large Cohort Study. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 97(12), 4390-4398. http://doi.org/10.1210/jc.2012-1775

Eng, C. (1999). RET Proto-Oncogene in the Development of Human Cancer. Journal of Clinical Oncology, 17(1), 380-393.

Eng, C., Clayton, D., Schuffenecker, I., Lenoir, G., Cote, G., Gagel, R., Ploos van Amstel, H., Lips, C., Nishisho, O., ...Ponder, B. & Mulligan, L. (1996). The relationship between specific RET proto-oncogene mutations and disease phenotype in multiple endocrine neoplasia type 2: International RET Mutation Consortium analysis. JAMA; Vol. 276: 1575-1579.

Fernandez, I. J., Piccin, O., Sciascia, S., Cavicchi, O., Repaci, A., Vicennati, V., & Fiorentino, M. (2013). Clinical significance of BRAF mutation in thyroid papillary cancer. Otolaryngol Head Neck Surg, 148(6), 919-925. doi: 10.1177/0194599813481942

Fernandez, L. P., Lopez-Marquez, A., Martinez, A. M., Gomez-Lopez, G., & Santisteban, P. (2013). New insights into FoxE1 functions: identification of direct FoxE1 targets in thyroid cells. PLoS One, 8(5), e62849. doi: 10.1371/journal.pone.0062849

Figge, J. J. (2006). Epidemiology of thyroid cancer. Thyroid Cancer (Second Edition): A Comprehensive Guide to Clinical Management, (29), 9-13. http://doi.org/10.1007/978-1-59259-995-0_2

Figlioli, G., Chen, B., Elisei, R., Romei, C., Campo, C., Cipollini, M., . . . Forsti, A. (2015). Novel genetic variants in differentiated thyroid cancer and assessment of the cumulative risk. Sci Rep, 5, 8922. doi: 10.1038/srep08922

Forga Llenas, L. (2007). Genética del carcinoma medular de tiroides. Endocrinologia y Nutricion, 54(7), 371-378. http://doi.org/10.1016/S1575-0922(07)71466-3

Franceschi, S., Fassina, A., Talamini, R., Mazzolini, A., Vianello, S., Bidoli, E., Cizza, G. & La Vecchia, C. (1990). The influence of reproductive and hormonal factors on thyroid cancer in women. Rev Epidemiol Sante Publique 38(1): 27-34.

Franco Vera, L. (2009). Enfermedades Epigenéticas: desde el cáncer hasta la sordera. Rev.R.Acad.Cienc.Exact.Fís.Nat. (Esp), 103(1), 79-96.

Frattini, M., Ferrario, C., Bressan, P., Balestra, D., De Cecco, L., Mondellini, P., . . . Greco, A. (2004). Alternative mutations of BRAF, RET and NTRK1 are associated with similar but distinct gene expression patterns in papillary thyroid cancer. Oncogene, 23(44), 7436-7440. doi: 10.1038/sj.onc.1207980

Furuya, F., Shimura, H., Suzuki, H., Taki, K., Ohta, K., Haraguchi, K., … Kobayashi, T. (2004). Histone deacetylase inhibitors restore radioiodide uptake and retention in poorly differentiated and anaplastic thyroid cancer cells by expression of the sodium/iodide symporter thyroperoxidase and thyroglobulin. Endocrinology, 145, 2865-2875.

Gaitan, E., Nelson, N. & Poole, G. (1991). Endemic goiter and endemic thyroid disorders. World Journal of Surgery 15(2): 205-215.

Galanti, M., Hansson, L., Lund, E., Bergstrom, R., Grimelius, L., Stalsberg, H., Carlsen, E., Baron, J., Persson, I. & Ekbom, A. (1996). Reproductive history and cigarette smoking as risk factors for thyroid cancer in women: a population-based case-control study. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 5: 425–31.

Garavito, G., Olier, A. L., Cadena, E., Los Reyes, A. D., Hurtado, G., Rojas, L., . . . Mejía, M. C. (2010). Manejo multidisciplinario del cáncer diferenciado de tiroides en el Instituto Nacional de Cancerología. Revista Colombiana de Cancerología, 14, 65-77. doi: 10.1016/S0123-9015(10)70100-1

Garcia-Barcelo, M. M., Tang, C. S., Ngan, E. S., Lui, V. C., Chen, Y., So, M. T., . . . Tam, P. K. (2009). Genome-wide association study identifies NRG1 as a susceptibility locus for Hirschsprung's disease. Proc Natl Acad Sci U S A, 106(8), 2694-2699. doi: 10.1073/pnas.0809630105

Ghossein, R., Asa, S. L., Barnes, L., Chan, J., Harrison, L., Heffess, C., . . . Wenig, B. (2011). Protocol for the Examination of Specimens from Patients with Carcinomas of the Thyroid Gland Protocol applies to all carcinomas of the thyroid gland. Lymphomas, sarcomas and metastases are not included., 31.

Ghoussaini, M., Song, H., Koessler, T., Al Olama, A. A., Kote-Jarai, Z., Driver, K. E., . . . Collaborators, U. K. P. S. (2008). Multiple loci with different cancer specificities within the 8q24 gene desert. J Natl Cancer Inst, 100(13), 962-966. doi: 10.1093/jnci/djn190

Giraldez, M., López-Dóriga, A., Bujanda, L., AbulÍ, A., Bessa, X., Fernández-Rozadilla, C., Muñoz, J., Cuatrecasas, M., ... & the Gastrointestinal Oncology Group of the Spanish Gastroenterological Association. (2012). Susceptibility genetic variants

associated with early-onset colorectal cancer. Carcinogenesis vol.33 no.3 pp.613–619, doi:10.1093/carcin/bgs009

GLOBOCAN. (2012). Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012. International Agency for Research on Cancer. World Health Organization. Recuperado a partir de http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx

Goldgar, D. E., Easton, D. F., Cannon-Albright, L. a. & Skolnick, M. H. (1994). Systematic population-based assessment of cancer risk in first-degree relatives of cancer probands. J Natl Cancer Inst, 86, 1600-1608. doi: 10.1093/jnci/86.21.1600

Grubbs, E. G., Rich, T. a., Li, G., Sturgis, E. M., Younes, M. N., Myers, J. N., … Evans, D. B. (2008). Recent Advances in Thyroid Cancer. Current Problems in Surgery, 45(3), 156-250. http://doi.org/10.1067/j.cpsurg.2007.12.010

Gudmundsson, J., Sulem, P., Gudbjartsson, D. F., Jonasson, J. G., Masson, G., He, H., . . . Stefansson, K. (2012). Discovery of common variants associated with low TSH levels and thyroid cancer risk. Nat Genet, 44(3), 319-322. doi: 10.1038/ng.1046

Gudmundsson, J., Sulem, P., Gudbjartsson, D. F., Jonasson, J. G., Sigurdsson, A., Bergthorsson, J. T., . . . Stefansson, K. (2009). Common variants on 9q22.33 and 14q13.3 predispose to thyroid cancer in European populations. Nat Genet, 41(4), 460-464. doi: 10.1038/ng.339

Guerra, A., Sapio, M. R., Marotta, V., Campanile, E., Rossi, S., Forno, I., . . . Vitale, M. (2012). The primary occurrence of BRAF(V600E) is a rare clonal event in papillary thyroid carcinoma. J Clin Endocrinol Metab, 97(2), 517-524. doi: 10.1210/jc.2011-0618

Guignard, R., Truong, T., Rougier, Y., Baron-Dubourdieu, D., & Guénel, P. (2007). Alcohol Drinking, Tobacco Smoking, and Anthropometric Characteristics as Risk Factors

for Thyroid Cancer: A Countrywide Case-Control Study in New Caledonia. En: Am J Epidemiol 166(10): 1140–1149. doi: 10.1093/aje/kwi136.

Guo, S., Wang, Y. L., Li, Y., Jin, L., Xiong, M., Ji, Q. H., & Wang, J. (2014). Significant SNPs have limited prediction ability for thyroid cancer. Cancer Med, 3(3), 731-735. doi: 10.1002/cam4.211

Hallquist, A., Hardell, L., Degerman, A. & Boquist, L. (1993). Occupational exposures and thyroid cancer: results of a case-control study. Eur J Cancer Prev 2:345–9.

Handkiewicz-Junak, D., Czarniecka, A., & Jarzab, B. (2010). Molecular prognostic markers in papillary and follicular thyroid cancer: Current status and future directions. Mol Cell Endocrinol, 322(1-2), 8-28. doi: 10.1016/j.mce.2010.01.007

Hanly, E. K., Rajoria, S., Darzynkiewicz, Z., Zhao, H., Suriano, R., Tuli, N., … Tiwari, R. K. (2014). Disruption of mutated BRAF signaling modulates thyroid cancer phenotype. BMC research notes, 7, 187. http://doi.org/10.1186/1756-0500-7-187

Hansen, K. D., Timp, W., Bravo, H. C., Sabunciyan, S., Langmead, B., McDonald, O. G., … Feinberg, A. P. (2011). Increased methylation variation in epigenetic domains across cancer types. Nature Genetics, 43(8), 768-775. http://doi.org/10.1038/ng.865

Hanson, D., Murray, P. G., Sud, A., Temtamy, S. A., Aglan, M., Superti-Furga, A., . . . Clayton, P. E. (2009). The primordial growth disorder 3-M syndrome connects ubiquitination to the cytoskeletal adaptor OBSL1. Am J Hum Genet, 84(6), 801-806. doi: 10.1016/j.ajhg.2009.04.021

Harach, H. R., Soubeyran, I., Brown, a, Bonneau, D., & Longy, M. (1999). Thyroid pathologic findings in patients with Cowden disease. Annals of diagnostic pathology, 3(6), 331-340. http://doi.org/10.1016/S1092-9134(99)80011-2

He, H., Li, W., Liyanarachchi, S., Jendrzejewski, J., Srinivas, M., Davuluri, R. V., . . . de la Chapelle, A. (2015). Genetic predisposition to papillary thyroid carcinoma: involvement of FOXE1, TSHR, and a novel lincRNA gene, PTCSC2. J Clin Endocrinol Metab, 100(1), E164-172. doi: 10.1210/jc.2014-2147

He, H., Li, W., Liyanarachchi, S., Srinivas, M., Wang, Y., Akagi, K., . . . de la Chapelle, A. (2015). Multiple functional variants in long-range enhancer elements contribute to the risk of SNP rs965513 in thyroid cancer. Proc Natl Acad Sci U S A, 112(19), 6128-6133. doi: 10.1073/pnas.1506255112

He, J., Wilkens, L. R., Stram, D. O., Kolonel, L. N., Henderson, B. E., Wu, A. H., . . . Haiman, C. A. (2011). Generalizability and epidemiologic characterization of eleven colorectal cancer GWAS hits in multiple populations. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 20(1), 70-81. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0892

Hemminki, K., Eng, C., & Chen, B. (2005). Familial risks for nonmedullary thyroid cancer. J Clin Endocrinol Metab, 90(10), 5747-5753. doi: 10.1210/jc.2005-0935

Hemminki, K., Rawal, R., Chen, B., & Bermejo, J. L. (2004). Genetic epidemiology of cancer: from families to heritable genes. Int J Cancer, 111(6), 944-950. doi: 10.1002/ijc.20355

Hill, R., Crisp, T., Hurley, P., Rosenthal, S. & Singh, D. (1998). Risk assessment of thyroid follicular cell tumors. Environ Health Perspec 106: 447–57

Ho, C. K., Halley, L., Wei, J., & Habib, F. K. (2012). Analysis of prostate cancer association with four single-nucleotide polymorphisms from genome-wide studies and serum phyto-estrogen concentrations. Prostate Cancer Prostatic Dis, 15(4), 365-368. doi: 10.1038/pcan.2012.24

Hu, S., Liu, D., Tufano, R. P., Carson, K. A., Rosenbaum, E., Cohen, Y., … Xing, M. (2006). Association of aberrant methylation of tumor suppressor genes with tumor aggressiveness and BRAF mutation in papillary thyroid cancer. International Journal of Cancer, 119(10), 2322-2329. http://doi.org/10.1002/ijc.22110

Hundal, B. Dhillon, V. & Sidhu, I. (1997), Genotoxic potential of estrogens. Mutation Research 389 (2-3): 173–181.

INC (2010). Magnitud de cáncer en el país - Incidencia estimada por localización. Recuperado 1 de enero de 2014, a partir de http://www.cancer.gov.co/content/ estadisticas

INC (2010). Protocolo de Manejo del Paciente con Cancer: Cancer de Tiroides. En: Colombia ISBN: 978-958-98496-9-9 ed: Legis Editores (Bogotá), p.237 - 272

INC (2011). Tablas Registro estadísticas del Instituto Nacional de Cancerología. Disponible online <URL: http://www.cancer.gov.co/ portal/default.aspx> Citado 5 de abril de 2012

Iribarren, C., Haselkorn, T., Tekawa, I. S., & Friedman, G. D. (2001). Cohort study of thyroid cancer in a San Francisco Bay area population. International Journal of Cancer, 93(5), 745-750. http://doi.org/10.1002/ijc.1377

Ito, Y., Kakudo, K., Hirokawa, M., Fukushima, M., Yabuta, T., Tomoda, C., . . . Miyauchi, A. (2009). Biological behavior and prognosis of familial papillary thyroid carcinoma. Surgery, 145(1), 100-105. doi: 10.1016/j.surg.2008.08.004

Ito, Y., Yoshida, H., Kihara, M., Kobayashi, K., Miya, A., & Miyauchi, A. (2014). BRAF(V600E) mutation analysis in papillary thyroid carcinoma: is it useful for all patients? World J Surg, 38(3), 679-687. doi: 10.1007/s00268-013-2223-2

Jazdzewski, K., Murray, E. L., Franssila, K., Jarzab, B., Schoenberg, D. R., & de la Chapelle, A. (2008). Common SNP in pre-miR-146a decreases mature miR expression and predisposes to papillary thyroid carcinoma. Proc Natl Acad Sci U S A, 105(20), 7269-7274. doi: 10.1073/pnas.0802682105

Jendrzejewski, J., He, H., Radomska, H. S., Li, W., Tomsic, J., Liyanarachchi, S., … de la Chapelle, A. (2012). The polymorphism rs944289 predisposes to papillary thyroid carcinoma through a large intergenic noncoding RNA gene of tumor suppressor type. Proceedings of the National Academy of Sciences. http://doi.org /10.1073/pnas.1205654109

Jendrzejewski, J., Tomsic, J., Lozanski, G., Labanowska, J., He, H., Liyanarachchi, S., ... de la Chapelle, A. (2011). Telomere length and telomerase reverse transcriptase gene copy number in patients with papillary thyroid carcinoma. J Clin Endocrinol Metab, 96(11), E1876-1880. doi: 10.1210/jc.2011-1643

Jones, A. M., Howarth, K. M., Martin, L., Gorman, M., Mihai, R., Moss, L., . . . Carvajal-Carmona, L. G. (2012). Thyroid cancer susceptibility polymorphisms: confirmation of loci on chromosomes 9q22 and 14q13, validation of a recessive 8q24 locus and failure to replicate a locus on 5q24. J Med Genet, 49(3), 158-163. doi: 10.1136/jmedgenet-2011-100586

Jonklaas, J., Nogueras-Gonzalez, G., Mursell, M., Litofsky, D., Ain, KB., Bigos, ST., ... National Thyroid Cancer Treatment Cooperative Study Group. (2012). The impact of age and gender on papillary thyroid cancer survival. J Clin Endocrinol Metab; 97:E878–E888. [PubMed: 22496497]

Kabat, G. C., Kim, M. Y., Wactawski-Wende, J., & Rohan, T. E. (2012). Smoking and alcohol consumption in relation to risk of thyroid cancer in postmenopausal women. Cancer Epidemiology, 36(4), 335-340. http://doi.org/10.1016/j.canep.2012.03.013

Kalezic, N., Zivaljevic, V., Slijepcevic, N., Paunovic, I., Diklic, A. & Sipetic, S. (2013). Risk factors for sporadic medullary thyroid carcinoma. Eur J Cancer Prev 22(3):262-7. doi: 10.1097/CEJ.0b013e3283592c78.

Kallel, R., Belguith-Maalej, S., Akdi, A., Mnif, M., Charfeddine, I., Galofre, P., . . . Hadj Kacem, H. (2010). Genetic investigation of FOXE1 polyalanine tract in thyroid diseases: new insight on the role of FOXE1 in thyroid carcinoma. Cancer Biomark, 8(1), 43-51. doi: 10.3233/DMA-2011-0824

Kang, J., Deng, X. Z., Fan, Y. B., & Wu, B. (2014). Relationships of FOXE1 and ATM genetic polymorphisms with papillary thyroid carcinoma risk: a meta-analysis. Tumour Biol, 35(7), 7085-7096. doi: 10.1007/s13277-014-1865-5

Kawabata, W., Suzuki, T., Moriya, T., Fujimori, K., Naganuma, H., Inoue, S., … Sasano, H. (2003). Estrogen Receptors (α and β) and 17β-Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 and 2 in Thyroid Disorders: Possible In Situ Estrogen Synthesis and Actions. Modern Pathology, 16(5), 437-444. http://doi.org/10.1097/01.MP.0000066800.44492.1B

KBioScience. Genotyping Manual: KASP version 4.0 SNP. Disponible on line URL: <http://www.kbioscience.co.uk/download/KASP%20Manual%20V4%200.pdf> Citado 10 de mayo de 2012

Khan, A., Smellie, J., Nutting, C., Harrington, K. & Newbold, K. (2010). Familial Nonmedullary Thyroid Cancer: A Review of the Genetics. En: Thyroid 20 (7): 795-801

Khan, M. S., Pandith, A. A., Azad, N., Hussain, M. U., Masoodi, S. R., Wani, K. A., . . . Mudassar, S. (2014). Impact of molecular alterations of BRAF in the pathogenesis of thyroid cancer. Mutagenesis, 29(2), 131-137. doi: 10.1093/mutage/get066

Kim, J.-M., Kim, H.-M., Jung, B.-Y., Park, E.-C., Cho, W.-H., & Lee, S.-G. (2012). The Association between Cancer Incidence and Family Income: Analysis of Korean National

Health Insurance Cancer Registration Data. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 13(4), 1371-1376. doi: 10.7314/apjcp.2012.13.4.1371

Kim, M. K., Park, S. W., Kim, S. K., Park, H. J., Eun, Y. G., Kwon, K. H., & Kim, J. (2012). Association of Toll-like receptor 2 polymorphisms with papillary thyroid cancer and clinicopathologic features in a Korean population. J Korean Med Sci, 27(11), 1333-1338. doi: 10.3346/jkms.2012.27.11.1333

Kim, S. K., Park, H. J., Hong, I. K., Chung, J. H., & Eun, Y. G. (2013). A missense polymorphism (rs11466653, Met326Thr) of toll-like receptor 10 (TLR10) is associated with tumor size of papillary thyroid carcinoma in the Korean population. Endocrine, 43(1), 161-169. doi: 10.1007/s12020-012-9783-z

Kimura, E. T., Nikiforova, M. N., Zhu, Z., Knauf, J. a, Nikiforov, Y. E., & Fagin, J. a. (2003). High Prevalence of BRAF Mutations in Thyroid Cancer : Genetic Evidence for Constitutive Activation of the RET / PTC-RAS-BRAF Signaling Pathway in Papillary Thyroid Carcinoma. Cancer Res., 63(7), 1454-1457.

Kitahara, C. M., Linet, M. S., Beane Freeman, L. E., Check, D. P., Church, T. R., Park, Y., . . . Berrington de Gonzalez, A. (2012). Cigarette smoking, alcohol intake, and thyroid cancer risk: a pooled analysis of five prospective studies in the United States. Cancer Causes Control, 23(10), 1615-1624. doi: 10.1007/s10552-012-0039-2

Kitahara, C. M., Linet, M. S., Freeman, L. E. B., Check, D. P., Timothy, R., Park, Y., … De, A. B. (2012). pooled analysis of five prospective studies in the United States, 23(10), 1615-1624. http://doi.org/10.1007/s10552-012-0039-2.Cigarette

Knauf, J. A., Ma, X., Smith, E. P., Zhang, L., Mitsutake, N., Liao, X. H., . . . Fagin, J. A. (2005). Targeted expression of BRAFV600E in thyroid cells of transgenic mice results in papillary thyroid cancers that undergo dedifferentiation. Cancer Res, 65(10), 4238-4245. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-0047

Kolonel, L., Hankin, J., Wilkens, L., Fukunaga, F. & Hinds M. 1990. An epidemiological study of thyroid cancer in Hawaii. Cancer Causes Control 1: 223–34.

Kondo, T., Ezzat, S., & Asa, S. L. (2006). Pathogenetic mechanisms in thyroid follicular-cell neoplasia. Nature reviews. Cancer, 6(4), 292-306. http://doi.org/10.1038/nrc1836

Kondo, Y. (2009). Epigenetic Cross-Talk between DNA Methylation and Histone Modifications in Human Cancers. Yonsei Medical Journal, 50(4), 455. http://doi.org/10.3349/ymj.2009.50.4.455

Kravdal, O., Glattre, E. & Haldorsen, T. 1991. Positive correlation between parity and incidence of thyroid cancer: new evidence based on complete Norweigan birth cohorts. Int J Cancer 49: 831–6.

La Vecchia, C., Malvezzi, M., Bosetti, C., Garavello, W., Bertuccio, P., Levi, F., & Negri, E. (2015). Thyroid cancer mortality and incidence: a global overview. Int J Cancer, 136(9), 2187-2195. doi: 10.1002/ijc.29251

La Vecchia, C., Ron, E., Franceschi, S., Dal Maso, L., Mark, S, Chatenoud, L., Braga, C., ... Negri, E. (1999). A pooled analysis of case-control studies of thyroid cancer. III. Oral contraceptives, menopausal replacement therapy and other female hormones. Cancer Causes Control 10 (2): 157-66.

Landa, I., & Robledo, M. (2011). Association studies in thyroid cancer susceptibility: are we on the right track? J Mol Endocrinol, 47(1), R43-58. doi: 10.1530/JME-11-0005

Landa, I., Boullosa, C., Inglada-Perez, L., Sastre-Perona, A., Pastor, S., Velazquez, A., . . . Robledo, M. (2013). An epistatic interaction between the PAX8 and STK17B genes in papillary thyroid cancer susceptibility. PLoS One, 8(9), e74765. doi: 10.1371/journal.pone.0074765

Landa, I., Ruiz-Llorente, S., Montero-Conde, C., Inglada-Perez, L., Schiavi, F., Leskela, S., . . . Robledo, M. (2009). The variant rs1867277 in FOXE1 gene confers thyroid cancer susceptibility through the recruitment of USF1/USF2 transcription factors. PLoS Genet, 5(9), e1000637. doi: 10.1371/journal.pgen.1000637

Lang, B. H., Chai, Y. J., Cowling, B. J., Min, H. S., Lee, K. E., & Youn, Y. K. (2014). Is BRAFV600E mutation a marker for central nodal metastasis in small papillary thyroid carcinoma? Endocr Relat Cancer, 21(2), 285-295. doi: 10.1530/ERC-13-0291

Lee, H. J., Choi, J., Hwang, T. S., Shong, Y. K., Hong, S. J., & Gong, G. (2010). Detection of BRAF mutations in thyroid nodules by allele-specific PCR using a dual priming oligonucleotide system. Am J Clin Pathol, 133(5), 802-808. doi: 10.1309 /AJCPO3F2ENKMDTUS

Levi, F., Franceschi, S., Guilie, C., Negri, E. & La Vecchia, C. (1993). Female thyroid cancer: the role of reproductive and hormonal factors in Switzerland. Oncology 50(4): 309-15

Levi, F., Franceschi, S., Te, VC., Negri, E. & La Vecchia, C. (1990). Descriptive epidemiology of thyroid cancer in the Swiss canton of Vaud. J Cancer Res Clin Oncol 116: 639–47.

Li, J., Sham, P. C., Song, Y., & Li, M. (2015). SPS: A Simulation Tool for Calculating Power of Set-Based Genetic Association Tests. Genet Epidemiol, 39(5), 395-397. doi: 10.1002/gepi.21898

Li, M. J., Wang, L. Y., Xia, Z., Sham, P. C., & Wang, J. (2013). GWAS3D: Detecting human regulatory variants by integrative analysis of genome-wide associations, chromosome interactions and histone modifications. Nucleic Acids Res, 41(Web Server issue), W150-158. doi: 10.1093/nar/gkt456

Li, M., Zhou, Y., Chen, P., Yang, H., Yuan, X., Tajima, K., . . . Wang, H. (2011). Genetic variants on chromosome 8q24 and colorectal neoplasia risk: a case-control study in China and a meta-analysis of the published literature. PLoS One, 6(3), e18251. doi: 10.1371/journal.pone.0018251

Li, N., Du, X. L., Reitzel, L. R., Xu, L., & Sturgis, E. M. (2013). Impact of enhanced detection on the increase in thyroid cancer incidence in the United States: review of incidence trends by socioeconomic status within the surveillance, epidemiology, and end results registry, 1980-2008. Thyroid, 23(1), 103-110. doi: 10.1089/thy.2012.0392

Lim, J. Y., Hong, S. W., Lee, Y. S., Kim, B. W., Park, C. S., Chang, H. S., & Cho, J. Y. (2013). Clinicopathologic implications of the BRAF(V600E) mutation in papillary thyroid cancer: a subgroup analysis of 3130 cases in a single center. Thyroid, 23(11), 1423-1430. doi: 10.1089/thy.2013.0036

Lindor, N. M., & Greene, M. H. (1998). The concise handbook of family cancer syndromes. Mayo Familial Cancer Program. Journal of the National Cancer Institute, 90(14), 1039-1071. http://doi.org/10.1093/jnci/90.14.1039

Ling, H., Spizzo, R., Atlasi, Y., Nicoloso, M., Shimizu, M., Redis, R. S., . . . Calin, G. A. (2013). CCAT2, a novel noncoding RNA mapping to 8q24, underlies metastatic progression and chromosomal instability in colon cancer. Genome Res, 23(9), 1446-1461. doi: 10.1101/gr.152942.112

Liu, S., Gao, A., Zhang, B., Zhang, Z., Zhao, Y., Chen, P., . . . Shi, B. (2014). Assessment of molecular testing in fine-needle aspiration biopsy samples: an experience in a Chinese population. Exp Mol Pathol, 97(2), 292-297. doi: 10.1016/j.yexmp.2014.08.005

Liyanarachchi, S., Wojcicka, A., Li, W., Czetwertynska, M., Stachlewska, E., Nagy, R., . . . de la Chapelle, A. (2013). Cumulative risk impact of five genetic variants associated with papillary thyroid carcinoma. Thyroid, 23(12), 1532-1540. doi: 10.1089/thy.2013.0102

Loh KC. (1997). Familial nonmedullary thyroid carcinoma: a meta-review of case series. En: Thyroid 7(1): 107-113.

Lupi, C., Giannini, R., Ugolini, C., Proietti, A., Berti, P., Minuto, M., . . . Basolo, F. (2007). Association of BRAF V600E mutation with poor clinicopathological outcomes in 500 consecutive cases of papillary thyroid carcinoma. J Clin Endocrinol Metab, 92(11), 4085-4090. doi: 10.1210/jc.2007-1179

Mack, W., Preston-Martin, S., Brenstein, L., Qian, D. & Xiang, M. (1999). Reproductive and hormonal risk factors for thyroid cancer in Los Angeles County females. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 8: 991–7.

Maillard, S., Damiola, F., Clero, E., Pertesi, M., Robinot, N., Rachedi, F., . . . de Vathaire, F. (2015). Common variants at 9q22.33, 14q13.3, and ATM loci, and risk of differentiated thyroid cancer in the French Polynesian population. PLoS One, 10(4), e0123700. doi: 10.1371/journal.pone.0123700

Mansberger, A., & Wei, J. (1993). Surgical embryology and anatomy of the thyroid and parathyroid glands. Surg Clin North Am, 73(4), 727-746.

Matsuo, K., Suzuki, T., Ito, H., Hosono, S., Kawase, T., Watanabe, M., . . . Tajima, K. (2009). Association between an 8q24 locus and the risk of colorectal cancer in Japanese. BMC Cancer, 9, 379. doi: 10.1186/1471-2407-9-379

Matsuse, M., Takahashi, M., Mitsutake, N., Nishihara, E., Hirokawa, M., Kawaguchi, T., . . . Yamashita, S. (2011). The FOXE1 and NKX2-1 loci are associated with susceptibility

to papillary thyroid carcinoma in the Japanese population. J Med Genet, 48(9), 645-648. doi: 10.1136/jmedgenet-2011-100063

Matullo, G., Guarrera, S., Sacerdote, C., Polidoro, S., Davico, L., Gamberini, S., . . . Vineis, P. (2005). Polymorphisms/haplotypes in DNA repair genes and smoking: a bladder cancer case-control study. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 14(11 Pt 1), 2569-2578. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-05-0189

Matullo, G., Palli, D., Peluso, M., Guarrera, S., Carturan, S., Celentano, E., … Vineis, P. (2001). XRCC1, XRCC3, XPD gene polymorphisms, smoking and (32)P-DNA adducts in a sample of healthy subjects. Carcinogenesis, 22(9), 1437-1445.

Mazzaferri, E. (1987). Papillary thyroid carcinoma: factors influencing prognosis and current therapy. Sem Oncol 14: 315–32.

McTiernan, A., Weiss, N. & Daling, R. (1984). Incidence of thyroid cancer in women in relation to reproductive and hormonal factors. Am J Epidemiol 120:423–35.

Meinhold, C. L., Park, Y., Stolzenberg-Solomon, R. Z., Hollenbeck, R., Schatzkin, A. & Berrington de Gonzalez, A. (2009). Alcohol intake and risk of thyroid cancer in the NIH-AARP Diet and Health Study. British journal of cancer, 101(9), 1630-1634. http://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605337

Memon, A., Darif, M., Al-Saleh, K., & Suresh, A. (2002). Epidemiology of reproductive and hormonal factors in thyroid cancer: evidence from a case-control study in the Middle East. Int J Cancer, 97, 82-89. doi: 10.1002/ijc.1573

Mitsutake, N. (2005). Conditional BRAFV600E Expression Induces DNA Synthesis, Apoptosis, Dedifferentiation, and Chromosomal Instability in Thyroid PCCL3 Cells. Cancer Research, 65(6), 2465-2473. http://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-3314

Montero-Conde, C., Campos, M., Lerma, E., Gimenez, G., Martınez-Guitarte, J., Combalıa, N., Montaner, D., Matıas-Guiu, X., Dopazo, J., Leiva, A., Robledo, M., y D. Mauricio. (2008). Molecular profiling related to por prognosis in thyroid carcinoma. Combining gene expression data and biological information. En: Oncogene: 1–8.

Moretti, S., Macchiarulo, A., De Falco, V., Avenia, N., Barbi, F., Carta, C., Cavaliere, A., Melillo, R.M. . . . Puxeddu, E. (2006). Biochemical and molecular characterization of the novel BRAF(V599Ins) mutation detected in a classic papillary thyroid carcinoma. Oncogene 25, 4235– 4240.

Mosso, L., Velasco, S., Salazar, I., Solar, A., González, H., Cardona, B., Fardella, C., González, G., López, J., Rodríguez, J., Cruz, F., Arteaga, E. (2007). Carcinoma familiar del tiroides no medular (CFTNM): características de presentación en 17 casos. Revista Médica de Chile 135 (6): 718-724. doi.org/10.4067/S0034-98872007000600005

Namba, H., Nakashima, M., Hayashi, T., Hayashida, N., Maeda, S., Rogounovitch, T. I., … Yamashita, S. (2003). Clinical implication of hot spot BRAF mutation, V599E, in papillary thyroid cancers. The Journal of clinical endocrinology and metabolism, 88(9), 4393-4397. http://doi.org/10.1210/jc.2003-030305

Navarro Silvera, S. A., Miller, A. B., & Rohan, T. E. (2005). Risk factors for thyroid cancer: a prospective cohort study. Int J Cancer, 116(3), 433-438. doi: 10.1002/ijc.21079

NCI (2013). SEER Stat Fact Sheets: Thyroid Cancer (National Cancer Institute). Recuperado 1 de enero de 2015, a partir de http://seer.cancer.gov /statfacts/html/thyro.html

Negri, E., Dal Maso, L., Ron, E., La Vecchia, C., Mark, S. D., Preston-Martin, S., … Franceschi, S. (1999). A pooled analysis of case-control studies of thyroid cancer. II. Menstrual and reproductive factors. Cancer Causes & Control : CCC, 10(2), 143-155.

Neta, G., Yu, C. L., Brenner, A., Gu, F., Hutchinson, A., Pfeiffer, R., . . . Sigurdson, A. J. (2012). Common genetic variants in the 8q24 region and risk of papillary thyroid cancer. Laryngoscope, 122(5), 1040-1042. doi: 10.1002/lary.23209

NIH (2012). Instituto Nacional de Salud de Estados Unidos. Disponible online <URL: http://www.nih.gov/> Citado 3 de marzo del 2012.

Nikiforov, Y. E. (2011). Molecular analysis of thyroid tumors. Mod Pathol, 24 Suppl 2, S34-43. doi: 10.1038/modpathol.2010.167

Nikiforova, M. N., Kimura, E. T., Gandhi, M., Biddinger, P. W., Knauf, J. A., Basolo, F., . . . Nikiforov, Y. E. (2003). BRAF mutations in thyroid tumors are restricted to papillary carcinomas and anaplastic or poorly differentiated carcinomas arising from papillary carcinomas. J Clin Endocrinol Metab, 88(11), 5399-5404. doi: 10.1210/jc.2003-030838

Nikiforova, M. N., Tseng, G. C., Steward, D., Diorio, D., & Nikiforov, Y. E. (2008). MicroRNA expression profiling of thyroid tumors: biological significance and diagnostic utility. J Clin Endocrinol Metab, 93(5), 1600-1608. doi: 10.1210/jc.2007-2696

Nishida, T., Katayama, S., Tsujimoto, M., Nakamura, J., Matsuda, H. (1999). Clinicopathological significance of poorly differentiated thyroid carcinoma. En: American Journal of Surgical Pathology 23(2): 205-211.

Orru, G., Coghe, F., Faa, G., Pillai, S., Manieli, C., Montaldo, C., … Coni, P. (2010). Rapid multiplex real-time PCR by molecular beacons for different BRAF allele detection in papillary thyroid carcinoma. Diagnostic molecular pathology : the American journal of surgical pathology, part B, 19(1), 1-8. http://doi.org/10.1097/PDM.0b013e3181a23bd5

Oyer, SL, Smith, VA, Lentsch, EJ. (2012). Reevaluating the prognostic significance of age in differentiated thyroid cancer. Otoralyngol Head Neck Surg. 147(2):221–226.

Pakneshan, S., Salajegheh, A., Smith, R.A., Lam, A.K.-Y., (2013). Clinicopathological relevance of BRAF mutations in human cancer. Pathology 45, 346–356.

Pal, T., Vogl, F. D., Chappuis, P. O., Tsang, R., Brierley, J., Renard, H., … Foulkes, W. D. (2001). Increased risk for nonmedullary thyroid cancer in the first degree relatives of prevalent cases of nonmedullary thyroid cancer: A hospital-based study. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 86(11), 5307-5312. http://doi.org/10.1210/jc.86.11.5307

Papaleontiou, M., & Haymart, M. R. (2014). New insights in risk stratification of differentiated thyroid cancer. Curr Opin Oncol, 26(1), 1-7. doi: 10.1097/CCO.0000000000000022

Papini, E., Guglielmi, R., Bianchini, A., Crescenzi, A., Taccogna, S., Nardi, F., … Pacella, C. M. (2002). Risk of malignancy in nonpalpable thyroid nodules: Predictive value of ultrasound and color-doppler features. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 87(5), 1941-1946. http://doi.org/10.1210/jc.87.5.1941

Park, H. S., Jung, C. K., Lee, S. H., Chae, B. J., Lim, D. J., Park, W. C., . . . Bae, J. S. (2014). Clinicopathologic characteristics and surgical outcomes of elderly patients with thyroid cancer. Jpn J Clin Oncol, 44(11), 1045-1051. doi: 10.1093/jjco/hyu132

Park, S. L., Chang, S. C., Cai, L., Cordon-Cardo, C., Ding, B. G., Greenland, S., . . . Zhang, Z. F. (2008). Associations between variants of the 8q24 chromosome and nine smoking-related cancer sites. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 17(11), 3193-3202. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-08-0523

Parkin, D. M., Bray, F., Ferlay, J. & Pisani, P. (2005). Global cancer statistics, 2002. CA Cancer J. Clin. 55, 74–108.

Parlato, R., Rosica, A., Rodriguez-Mallon, A., Affuso, A., Postiglione, M. P., Arra, C., . . . De Felice, M. (2004). An integrated regulatory network controlling survival and migration in thyroid organogenesis. Dev Biol, 276(2), 464-475. doi: 10.1016/j.ydbio.2004.08.048

Patel, K. N., & Shaha, A. R. (2006). Poorly differentiated and anaplastic thyroid cancer. Cancer Control, 13(2), 119-128.

Pelizzo, M. R., Dobrinja, C., Casal Ide, E., Zane, M., Lora, O., Toniato, A., . . . Rubello, D. (2014). The role of BRAF(V600E) mutation as poor prognostic factor for the outcome of patients with intrathyroid papillary thyroid carcinoma. Biomed Pharmacother, 68(4), 413-417. doi: 10.1016/j.biopha.2014.03.008

Penna-Martinez, M., Epp, F., Kahles, H., Ramos-Lopez, E., Hinsch, N., Hansmann, M. L., . . . Badenhoop, K. (2014). FOXE1 association with differentiated thyroid cancer and its progression. Thyroid, 24(5), 845-851. doi: 10.1089/thy.2013.0274

Peterson, E., Prithwish, D. & Nuttall, R. (2012). BMI, Diet and Female Reproductive Factors as Risks for Thyroid Cancer: A Systematic Review. Plos One 7 (1). doi: 10.1371/journal.pone.0029177

Pilotti, S., Collini, P., Mariani, L., Placucci, M., Bongarzone, I., Vigneri, P., … Rilke, F. (1997). Insular carcinoma: a distinct de novo entity among follicular carcinomas of the thyroid gland. The American journal of surgical pathology, 21(12), 1466-1473. http://doi.org/10.1097/00000478-199712000-00009

Pontikides, N., & Krassas, G. E. (2002). Influence of cigarette smoking on thyroid function, goiter formation and autoimmune thyroid disorders. Hormones (Athens, Greece), 1(2), 91-98. http://doi.org/10.14310/horm.2002.1156

Prescott, J. D., Sadow, P. M., Hodin, R. A., Le, L. P., Gaz, R. D., Randolph, G. W., … Lubitz, C. C. (2012). BRAF V600E status adds incremental value to current risk

classification systems in predicting papillary thyroid carcinoma recurrence. Surgery, 152(6), 984-990. http://doi.org/10.1016/j.surg.2012.08.039

Preston-Martin, S., Bernstein, L., Pike, M., Maldonado, A. & Henderson, B. (1987). Thyroid cancer among young women related to prior thyroid disease and pregnancy history. British Journal of Cancer 55: 191-195.

Preston-Martin, S., Jin, F., Duda, M. J., & Mack, W. J. (1993). A case-control study of thyroid cancer in women under age 55 in Shanghai (People's Republic of China). Cancer Causes & Control : CCC, 4(5), 431-440.

Pugliese, M., Fortunati, N., Germano, A., Asioli, S., Marano, F., Palestini, N., … Catalano, M. G. (2013). Histone Deacetylase Inhibition Affects Sodium Iodide Symporter Expression and Induces 131 I Cytotoxicity in Anaplastic Thyroid Cancer Cells. Thyroid, 23(7), 838-846. http://doi.org/10.1089/thy.2012.0359

Puppin, C., Passon, N., Frasca, F., Vigneri, R., Tomay, F., Tomaciello, S., & Damante, G. (2011). In thyroid cancer cell lines expression of periostin gene is controlled by p73 and is not related to epigenetic marks of active transcription. Cellular Oncology, 34(2), 131-140. http://doi.org/10.1007/s13402-011-0009-9

Puxeddu, E., Moretti, S., Elisei, R., Romei, C., Pascucci, R., Martinelli, M., . . . Santeusanio, F. (2004). BRAF(V599E) mutation is the leading genetic event in adult sporadic papillary thyroid carcinomas. J Clin Endocrinol Metab, 89(5), 2414-2420. doi: 10.1210/jc.2003-031425

Quiros, R. M., Ding, H. G., Gattuso, P., Prinz, R. A., & Xu, X. (2005). Evidence that one subset of anaplastic thyroid carcinomas are derived from papillary carcinomas due to BRAF and p53 mutations. Cancer, 103(11), 2261-2268. doi: 10.1002/cncr.21073

Rahbari, R., Zhang, L., & Kebebew, E. (2010). Thyroid cancer gender disparity. Future Oncology, 6(11), 1771-1779. http://doi.org/10.2217/fon.10.127

Randolph, GW. & Maniar, D. (2000). Medullary carcinoma of the thyroid. Cancer Control 7:253–61.

Rogounovitch, T. I., Bychkov, A., Takahashi, M., Mitsutake, N., Nakashima, M., Nikitski, A. V., . . . Saenko, V. A. (2015). The common genetic variant rs944289 on chromosome 14q13.3 associates with risk of both malignant and benign thyroid tumors in the Japanese population. Thyroid, 25(3), 333-340. doi: 10.1089/thy.2014.0431

Rogounovitch, T. I., Saenko, V. A., Ashizawa, K., Sedliarou, I. A., Namba, H., Abrosimov, A. Y., … Yamashita, S. (2006). TP53 codon 72 polymorphism in radiation-associated human papillary thyroid cancer. Oncology Reports, 15(4), 949-956. Recuperado a partir de http://www.spandidos-publications.com/or/15/4/949/abstract

Rossing, M. a, Voigt, L. F., Wicklund, K. G., & Daling, J. R. (2000). Reproductive factors and risk of papillary thyroid cancer in women. American journal of epidemiology, 151(8), 765-772.

Russo, D., Damante, G., Puxeddu, E., Durante, C., & Filetti, S. (2011). Epigenetics of thyroid cancer and novel therapeutic targets. Journal of Molecular Endocrinology, 46(3), R73-R81. http://doi.org/10.1530/JME-10-0150

Saenko, V., Rogounovitch, T., Shimizu-Yoshida, Y., Abrosimov, A., Lushnikov, E., Roumiantsev, P., . . . Yamashita, S. (2003). Novel tumorigenic rearrangement, Δrfp/ret, in a papillary thyroid carcinoma from externally irradiated patient. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 527(1-2), 81-90. doi: 10.1016/s0027-5107(03)00056-3

Sahasrabudhe, R., Estrada, A., Lott, P., Martin, C., Polanco Echeverry, G., Velez, A., . . . Carvajal Carmona, L. G. (2015). 8q24 rs6983267G variant is associated with increased thyroid cancer risk. Endocr Relat Cancer.

Sakoda, L. C., & Horn-Ross, P. L. (2002). Reproductive and menstrual history and papillary thyroid cancer risk: the San Francisco Bay Area thyroid cancer study. Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology, 11(1), 51-57.

Sánchez-Borrego, R., Manubens, M. & Mendoza, N. (2009). Capitulo 3. La Menopausia En: Fundamentos de Ginecología. Ed Panamericana, España. ISBN:978-84-9835-276-4 pp 39-49

Santarpia, L., Valenzise, M., Di Pasquale, G., Arrigo, T., San Martino, G., Ciccio, M. P., … Benvenga, S. (2007). TTF-2/FOXE1 gene polymorphisms in Sicilian patients with permanent primary congenital hypothyroidism. Journal of Endocrinological Investigation, 30(1), 13-19. http://doi.org/3385 [pii]

Sapio, M. R., Posca, D., Troncone, G., Pettinato, G., Palombini, L., Rossi, G., . . . Vitale, M. (2006). Detection of BRAF mutation in thyroid papillary carcinomas by mutant allele-specific PCR amplification (MASA). Eur J Endocrinol, 154(2), 341-348. doi: 10.1530/eje.1.02072

Schlumberger, M. (1998). Papillary and Follicular Thyroid Carcinoma. The New England Journal of Medicine, 338(5), 297-306.

Schonfeld, S., Ron, E., Kitahara, C., Brenner, A., Park, Y., Sigurdson, A., Schatzkin, A. & Berrington, A. (2011). Hormonal and reproductive factors and risk of postmenopausal thyroid cancer in the NIH-AARP Diet and Health Study. Cancer Epidemiology 35: 85–90 doi:10.1016/j.canep.2011.05.009

Seethala, R., Asa, S., Carty, S., Hodak., S., McHugh, J., Richardson, M., Shah, J., Thompson, L. & Nikiforov, Y. (2014). Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Carcinomas of the Thyroid Gland. College of American Pathologists (CAP).

Sen, S., & Burmeister, M. (2008). Hardy-Weinberg analysis of a large set of published association studies reveals genotyping error and a deficit of heterozygotes across multiple loci. Human genomics, 3(1), 36-52.

Simmons, D. (2008). Epigenetic Influences and Disease. Nature Education, 1((1):6).

Smith, J. R., Marqusee, E., Webb, S., Nose, V., Fishman, S. J., Shamberger, R. C., … Huang, S. A. (2011). Thyroid Nodules and Cancer in Children with PTEN Hamartoma Tumor Syndrome. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 96(1), 34-37. http://doi.org/10.1210/jc.2010-1315

Sobrinho-Simões, M., Sambade, C., Fonseca, E. & Soares, P. (2002). Poorly differentiated carcinomas of the thyroid gland: a review of the clinicopathologic features of a series of 28 cases of a heterogeneous, clinically aggressive group of thyroid tumors. En: International Journal of Surgical Pathology 10(2): 123-131.

Sobrinho-Simões, M., Eloy, C., Magalhães, J., Lobo, C., & Amaro, T. (2011). Follicular thyroid carcinoma. Modern Pathology, 24, S10-S18. doi: 10.1038/modpathol.2010.133

Sungwalee, W., Vatanasapt, P., Kamsa-Ard, S., Suwanrungruang, K., & Promthet, S. (2013). Reproductive risk factors for thyroid cancer: a prospective cohort study in Khon Kaen, Thailand. Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP, 14(9), 5153-5. http://doi.org/10.7314/APJCP.2013.14.9.5153

Tafani, M., De Santis, E., Coppola, L., Perrone, G. A., Carnevale, I., Russo, A., . . . Russo, M. A. (2014). Bridging hypoxia, inflammation and estrogen receptors in thyroid cancer progression. Biomed Pharmacother, 68(1), 1-5. doi: 10.1016/j.biopha.2013.10.013

Takahashi, M., Saenko, V. A., Rogounovitch, T. I., Kawaguchi, T., Drozd, V. M., Takigawa-Imamura, H., . . . Yamashita, S. (2010). The FOXE1 locus is a major genetic determinant for radiation-related thyroid carcinoma in Chernobyl. Hum Mol Genet, 19(12), 2516-2523. doi: 10.1093/hmg/ddq123

Tomaz, R. A., Sousa, I., Silva, J. G., Santos, C., Teixeira, M. R., Leite, V., & Cavaco, B. M. (2012). FOXE1 polymorphisms are associated with familial and sporadic nonmedullary thyroid cancer susceptibility. Clin Endocrinol (Oxf), 77(6), 926-933. doi: 10.1111/j.1365-2265.2012.04505.x

Tomlinson, I., Webb, E., Carvajal-Carmona, L., Broderick, P., Kemp, Z., Spain, S., . . . Houlston, R. (2007). A genome-wide association scan of tag SNPs identifies a susceptibility variant for colorectal cancer at 8q24.21. Nat Genet, 39(8), 984-988. doi: 10.1038/ng2085

Truong, T., Orsi, L., Dubourdieu, D., Rougier, Y., Hémon, D., Guénel, P., … Guenel, P. (2005). Role of goiter and of menstrual and reproductive factors in thyroid cancer: a population-based case-control study in New Caledonia (South Pacific), a very high incidence area. Am J Epidemiol, 161(11), 1056-1065. http://doi.org/10.1093/aje/kwi136

Tuupanen, S., Niittymaki, I., Nousiainen, K., Vanharanta, S., Mecklin, J. P., Nuorva, K., . . . Aaltonen, L. A. (2008). Allelic imbalance at rs6983267 suggests selection of the risk allele in somatic colorectal tumor evolution. Cancer Res, 68(1), 14-17. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-5766

Tuupanen, S., Turunen, M., Lehtonen, R., Hallikas, O., Vanharanta, S., Kivioja, T., . . . Aaltonen, L. A. (2009). The common colorectal cancer predisposition SNP rs6983267 at

chromosome 8q24 confers potential to enhanced Wnt signaling. Nat Genet, 41(8), 885-890. doi: 10.1038/ng.406

Uchino, S., Noguchi, S., Kawamoto, H., Yamashita, H., Watanabe, S., Yamashita, H., & Shuto, S. (2002). Familial nonmedullary thyroid carcinoma characterized by multifocality and a high recurrence rate in a large study population. World J Surg, 26(8), 897-902. doi: 10.1007/s00268-002-6615-y

Vu-Phan, D., & Koenig, R. J. (2014). Genetics and epigenetics of sporadic thyroid cancer. Mol Cell Endocrinol, 386(1-2), 55-66. doi: 10.1016/j.mce.2013.07.030

Wang, Y. L., Feng, S. H., Guo, S. C., Wei, W. J., Li, D. S., Wang, Y., . . . Wang, J. C. (2013). Confirmation of papillary thyroid cancer susceptibility loci identified by genome-wide association studies of chromosomes 14q13, 9q22, 2q35 and 8p12 in a Chinese population. J Med Genet, 50(10), 689-695. doi: 10.1136/jmedgenet-2013-101687

Wang, Y. P., Zhang, J., Zhu, H. Y., Qian, C. L., Liu, H., Ji, F., & Shen, Z. Y. (2014). Common variation rs6983267 at 8q24.1 and risk of colorectal adenoma and cancer: evidence based on 31 studies. Tumour Biol, 35(5), 4067-4075. doi: 10.1007/s13277-013-1532-2

Wartofsky, L. (2010). Increasing world incidence of thyroid cancer: Increased detection or higher radiation exposure? Hormones, 9, 103-108.

Wei, W. J., Lu, Z. W., Li, D. S., Wang, Y., Zhu, Y. X., Wang, Z. Y., . . . Ji, Q. H. (2014). Association of the miR-149 rs2292832 polymorphism with papillary thyroid cancer risk and clinicopathologic characteristics in a Chinese population. Int J Mol Sci, 15(11), 20968-20981. doi: 10.3390/ijms151120968

Wei, X., Li, Y., Zhang, S., & Gao, M. (2014). Prediction of thyroid extracapsular extension with cervical lymph node metastases (ECE-LN) by CEUS and BRAF expression in

papillary thyroid carcinoma. Tumour Biol, 35(9), 8559-8564. doi: 10.1007/s13277-014-2119-2

Williams, ED. (1999) Biological mechanisms underlying radiation induction of thyroid carcinoma. In Radiation and Thyroid Cancer, Thomas G, Karaoglou A, Williams ED (eds) pp 177–188. Singapore: World Scientific

Wittke-Thompson, J. K., Pluzhnikov, A., & Cox, N. J. (2005). Rational inferences about departures from Hardy-Weinberg equilibrium. American journal of human genetics, 76(6), 967-986. http://doi.org/10.1086/430507

Wokolorczyk, D., Gliniewicz, B., Sikorski, A., Zlowocka, E., Masojc, B., Debniak, T., . . . Cybulski, C. (2008). A range of cancers is associated with the rs6983267 marker on chromosome 8. Cancer Res, 68(23), 9982-9986. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-1838

Wreesmann, V. B., Ghossein, R. A., Hezel, M., Banerjee, D., Shaha, A. R., Tuttle, R. M., . . . Singh, B. (2004). Follicular variant of papillary thyroid carcinoma: genome-wide appraisal of a controversial entity. Genes Chromosomes Cancer, 40(4), 355-364. doi: 10.1002/gcc.20049

Wright, J. B., Brown, S. J., & Cole, M. D. (2010). Upregulation of c-MYC in cis through a large chromatin loop linked to a cancer risk-associated single-nucleotide polymorphism in colorectal cancer cells. Mol Cell Biol, 30(6), 1411-1420. doi: 10.1128/MCB.01384-09

Xhaard, C., Rubino, C., Clero, E., Maillard, S., Ren, Y., Borson-Chazot, F., … de Vathaire, F. (2014). Menstrual and Reproductive Factors in the Risk of Differentiated Thyroid Carcinoma in Young Women in France: A Population-Based Case-Control Study. American Journal of Epidemiology, 180(10), 1007-1017. http://doi.org/10.1093/aje/kwu220

Xicola, R., Llor, X., Pons, E., Castells, A., Alenda, C., Piñol, V., Andreu, M., Castellví-Bel, S., ... Gassull, M. (2007). Performance of Different Microsatellite Marker Panels for Detection of Mismatch Repair – Deficient Colorectal Tumors. En: Journal of The National Cancer Institute 99: 244 – 252

Xing, J., Liu, R., Xing, M., & Trink, B. (2011). The BRAFT1799A mutation confers sensitivity of thyroid cancer cells to the BRAFV600E inhibitor PLX4032 (RG7204). Biochem Biophys Res Commun, 404(4), 958-962. doi: 10.1016/j.bbrc.2010.12.088

Xing, M. (2010). Prognostic utility of BRAF mutation in papillary thyroid cancer. Molecular and Cellular Endocrinology, 321(1), 86-93. http://doi.org/10.1016/j.mce.2009.10.012

Xing, M., Liu, R., Liu, X., Murugan, A. K., Zhu, G., Zeiger, M. A., . . . Bishop, J. (2014). BRAF V600E and TERT promoter mutations cooperatively identify the most aggressive papillary thyroid cancer with highest recurrence. J Clin Oncol, 32(25), 2718-2726. doi: 10.1200/JCO.2014.55.5094

Xing, M., Westra, W. H., Tufano, R. P., Cohen, Y., Rosenbaum, E., Rhoden, K. J., . . . Ladenson, P. W. (2005). BRAF mutation predicts a poorer clinical prognosis for papillary thyroid cancer. J Clin Endocrinol Metab, 90(12), 6373-6379. doi: 10.1210/jc.2005-0987

Ying, A. K., Huh, W., Bottomley, S., Evans, D. B., & Waguespack, S. G. (2009). Thyroid Cancer in Young Adults. Seminars in Oncology, 36(3), 258-274. http://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2009.03.009

Young, B., Lowe, J., Stevens, A., & Heath, J. (2006). Wheater's: Functional Histology -A Text and Colour Atlas, 5th Ed (5.a ed.). USA: Churchill Livingstone.

Zhang, X., Chen, Q., He, C., Mao, W., Zhang, L., Xu, X., . . . Chen, B. (2012). Polymorphisms on 8q24 are associated with lung cancer risk and survival in Han Chinese. PLoS One, 7(7), e41930. doi: 10.1371/journal.pone.0041930

Zhang, Y., Yi, P., Chen, W., Ming, J., Zhu, B., Li, Z., . . . Miao, X. (2014). Association between polymorphisms within the susceptibility region 8q24 and breast cancer in a Chinese population. Tumour Biol, 35(3), 2649-2654. doi: 10.1007/s13277-013-1348-0

Zhu, H., Xi, Q., Liu, L., Wang, J., & Gu, M. (2014). Quantitative assessment of common genetic variants on FOXE1 and differentiated thyroid cancer risk. PLoS One, 9(1), e87332. doi: 10.1371/journal.pone.0087332

Zhuang, Y., Wu, W., Liu, H., & Shen, W. (2014). Common genetic variants on FOXE1 contributes to thyroid cancer susceptibility: evidence based on 16 studies. Tumour Biol, 35(6), 6159-6166. doi: 10.1007/s13277-014-1896-y

Zivaljevic, V., Slijepcevic, N., Paunovic, I., Diklic, A., Kalezic, N., Marinkovic, J., … Sipetic, S. (2014). Risk Factors for Anaplastic Thyroid Cancer. International Journal of Endocrinology, 2014, 1-6. http://doi.org/10.1155/2014/815070

Zoghlami, A., Roussel, F., Sabourin, J.-C., Kuhn, J.-M., Marie, J.-P., Dehesdin, D., & Choussy, O. (2014). BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma: predictive value for long-term prognosis and radioiodine sensitivity. European Annals of Otorhinolaryngology, Head and Neck Diseases, 131(1), 7-13. http://doi.org/10.1016/j.anorl.2013.01.004

ANEXOS

Anexo A. Formato de autorización para Repositorio Institucional

	SISTEMA DE GESTION DE LA CALIDAD **FORMATO DE AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL**	Página **165** de **204** Código: GB-P04-F03 Versión: 01

Los suscritos:

Ana Patricia Estrada Flórez	con C.C N°	37’086.524
Ma. Magdalena Echeverry de Polanco	con C.C N°	38’221.503
Luis Guillermo Carvajal Carmona	con C.C N°	71’772.029
Mabel Elena Bohórquez	con C.C N°	55’154.387

Manifiesto (an) la voluntad de:

Autorizar [X]

No Autorizar [ ] **Motivo**: _____

La consulta en físico y la virtualización de **mi OBRA**, con el fin de incluirlo en el repositorio institucional de la Universidad del Tolima. Esta autorización se hace sin ánimo de lucro, con fines académicos y no implica una cesión de derechos patrimoniales de autor.
Manifestamos que se trata de una OBRA original y como de la autoría de LA OBRA y en relación a la misma, declara que la UNIVERSIDAD DEL TOLIMA, se encuentra, en todo caso, libre de todo tipo de responsabilidad, sea civil, administrativa o penal (incluido el reclamo por plagio).
Por su parte la UNIVERSIDAD DEL TOLIMA se compromete a imponer las medidas necesarias que garanticen la conservación y custodia de la obra tanto en espacios físico como virtual, ajustándose para dicho fin a las normas fijadas en el Reglamento de Propiedad Intelectual de la Universidad, en la Ley 23 de 1982 y demás normas concordantes.

La publicación de:

Trabajo de grado	[X]	Artículo	[ ]	Proyecto de Investigación	[ ]
Libro	[ ]	Parte de libro	[ ]	Documento de conferencia	[ ]
Patente	[ ]	Informe técnico	[ ]		

Otro: (fotografía, mapa, radiografía, película, video, entre otros) [ ]

Producto de la actividad académica/científica/cultural en la Universidad del Tolima, para que con fines académicos e investigativos, muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad del Tolima. Con todo, en mi condición de autor me reservo los derechos morales de la obra antes citada con arreglo al artículo 30 de la Ley 23 de 1982. En concordancia suscribo este documento en el momento mismo que hago entrega del trabajo final a la Biblioteca Rafael Parga Cortes de la Universidad del Tolima.

De conformidad con lo establecido en la Ley 23 de 1982 en los artículos 30 *"…Derechos Morales. El autor tendrá sobre su obra un derecho perpetuo, inalienable e irrenunciable"* y 37 "*…Es lícita la reproducción por cualquier medio, de una obra literaria o científica, ordenada u obtenida por el interesado en un solo ejemplar para su uso privado y sin fines de lucro"*. El artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, "*los derechos morales sobre el trabajo son propiedad de los autores*" y en su artículo 61 de la Constitución Política de Colombia.

- Identificación del documento:

Título completo: **ANÁLISIS GENÉTICO DEL CARCINOMA DE TIROIDES EN UNA MUESTRA DE PACIENTES COLOMBIANOS** .

- Trabajo de grado presentado para optar al título de:

Magíster en Ciencias Biológicas

- Proyecto de Investigación correspondiente al Programa (No diligenciar si es opción de grado "Trabajo de Grado"): _____

- Informe Técnico correspondiente al Programa (No diligenciar si es opción de grado "Trabajo de Grado"): _____

- Artículo publicado en revista: _____

- Capítulo publicado en libro: _____

- Conferencia a la que se presentó: _____

Quienes a continuación autentican con su firma la autorización para la digitalización e inclusión en el repositorio digital de la Universidad del Tolima, el:

Día: **18** Mes: **Agosto** Año: **2015**

Autores:		Firma		
Nombre:	Ana Patricia Estrada Flórez		C.C.	37086.524
Nombre:	María Magdalena Echeverry de Polanco		C.C.	38'221.503
Nombre:	Luis Guillermo Carvajal Carmona		C.C.	71'772.029
Nombre:	Mabel Elena Bohórquez		C.C.	55'154.387

El autor y/o autores certifican que conocen las derivadas jurídicas que se generan en aplicación de los principios del derecho de autor.

Copia:

Facultad: Ciencias

Programa Académico: Maestría en Ciencias Biológicas

Anexo B. Aprobaciones éticas y convenios con instituciones para el desarrollo del proyecto.

DOCUMENTO	INSTITUCION	CIUDAD Y FECHA
Aprobación del programa de investigación "Análisis genético poblacional de enfermedades humanas"	Comité de ética de la Universidad del Tolima.	Ibagué, 27 de junio de 2005
	Hospital Federico Lleras Acosta	Ibagué, 23 de noviembre de 2006
	Hospital Regional del Líbano	1 de febrero del 2007
Aprobación del proyecto "Estudios Clínico-Genéticos y Somáticos de Cáncer de Tiroides en Colombia"	Comité de Bioética de la Universidad del Tolima	Ibagué, 14 de mayo del 2012
	Comité de Docencia e investigación del hospital Federico Lleras Acosta	Ibagué, 14 de septiembre de 2011
	Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo	Neiva, 3 de junio de 2011
Autorización para toma de muestras	Laboratorio CITOPAT	Medellín, 14 de junio de 2012
	Servicio de Medicina Nuclear del Hospital Pablo Tobón Uribe	Medellín, 18 de julio de 2012
	Laboratorio de Patología y Citología, Pensionado Hospital San Vicente de Paúl	Medellín, 7 de junio del 2012

Anexo C. Carta de presentación del programa.

Universidad del Tolima
Grupo de Investigación Citogenética, Filogenia y Evolución de Poblaciones
Directora: María Magdalena Echeverry de Polanco Ph. D.
Entrevista del Programa de Investigación *Análisis Genético de Enfermedades Humanas*

Información sobre la Investigación

***Análisis Genético de Enfermedades Humanas,* programa de Investigación aprobado por el Comité de de Ética de la Universidad del Tolima mediante acta del 27 de junio del 2005). Área: estudios genéticos de cáncer en Colombia**

El cáncer es una enfermedad cuya incidencia esta creciendo en nuestra región, que en ocasiones puede ser causada por algunos factores que se heredan. Nuestro grupo de investigación está estudiando personas con historia familiar de cáncer con el fin de identificar aquellos genes que confieren un mayor riesgo a presentar dicha enfermedad. Las familias y los pacientes han sido identificadas a través de nuestros colegas médicos en los hospitales.

Con el fin de desarrollar el proyecto solicitamos su colaboración para responder algunas preguntas relacionadas con la forma de presentación de la enfermedad y con sus antecedentes familiares de cáncer. Si usted tiene familiares con historia previa de cáncer, se le pedirá el favor de contactarlos para saber si ellos estarían interesados en participar en el estudio.

La participación en la investigación no posee ningún riesgo y requiere la donación de dos muestras de sangre de 8 ml, de las cuales, se extraerá el material genético (ADN y ARN) y, de ser posible, se establecerá una línea celular. En esta investigación también se le harán preguntas relacionadas con su historial médico y se le pedirá autorización para revisar su historia clínica.

Si a usted le han extirpado tumores; se le preguntara en qué hospital se los extrajeron y, si nos autoriza, dichos tumores también serán analizados en la investigación.

Es posible que nuestros estudios revelen hallazgos que tengan aplicaciones clínicas. Si esto sucede, le pediremos autorización para informar a su médico tratante al respecto.

Por favor, no dude en contactarnos si desea mayor información o quiere discutir cualquiera de los aspectos relacionados con su participación en el estudio y con el uso de las muestras que usted donará. Nos puede contactar en el teléfono 8-2641216, 3163033776 o a los correos electrónicos del programa (echeverrydepolanco@hotmail.com, toligen@ut.edu.co).

Si usted desea participar en la investigación por favor diligencie los siguientes datos:

FECHA _____

DIAGNÓSTICO _____

NOMBRE _____ FIRMA _____

DIRECCIÓN _____

TELÉFONO (celular _____ fijo _____)

MÉDICO _____

Muchas gracias por su colaboración y estaremos atentos a sus comentarios.

María Magdalena Echeverry de Polanco, e-mail: echeverrydepolanco@hotmail.com
toligen@ut.edu.co, cel: 3163033776.

Anexo D. Formato del consentimiento informado y entrevista de controles.

Universidad del Tolima
Grupo de Investigación Citogenética, Filogenia y Evolución de Poblaciones
Directora: María Magdalena Echeverry de Polanco Ph. D.
Entrevista del Programa de Investigación *Análisis Genético de Enfermedades Humanas*

CONSENTIMIENTO INFORMADO CONTROLES

Codigo:

Por favor lea con detenimiento este documento. Si después de ello, usted esta interesado en participar, como control, en la investigación, señale con una X el cuadro del Si (si acepta) o del No (si no acepta) cada uno de los enunciados que aparecen a continuación. Si no entiende completamente o, si desea más información, por favor pregúntenos antes de firmar.

Programa de investigación: *Análisis genético de enfermedades humanas.* Aprobado por el comité de ética de la Universidad del Tolima mediante acta del 27 de junio de 2005.		
Nombres y Apellidos del control	**Fecha y lugar de nacimiento**	
Yo confirmo que he sido informado adecuadamente de los objetivos del proyecto y tuve la oportunidad de hacer preguntas y solucionar todas las dudas al respecto.	Si	No
Yo entiendo que mi participación es voluntaria y que puedo retirarme de la investigación si lo deseo sin necesidad de argumentar ninguna razón ante el investigador principal.	Si	No
Yo autorizo al investigador principal y a las personas designadas por él, a que me tomen 2 (tres) muestras de sangre para que las almacenen y utilicen en la presente investigación. Una de dichas muestras puede ser usada para establecer una línea celular. Yo entiendo que las muestras proporcionadas serán anonimizadas. Sólo el investigador principal, y las personas autorizadas por él, tendrán acceso a dicha información y a los resultados derivados de ellas.	Si	No
Yo autorizo a el investigador principal, y a las personas designadas por él, para que usen mis muestras de sangre con el fin de investigar y entender los factores genéticos involucrados en diversos tipos de canceres humanos (cáncer colorrectal, de tiroides, entre otros).	Si	No
Yo autorizo a que las muestras de sangre que he proporcionado sean almacenadas y estudiadas por el investigador principal, y por las personas designadas por él, en futuras investigaciones relacionadas con los aspectos genéticos del cáncer colorrectal y de otras enfermedades humanas.	Si	No
Yo autorizo al investigador principal, y a las personas designadas por él, para que utilicen mis muestras de sangre en centros de investigación del país y del exterior.	Si	No
Yo estoy de acuerdo con participar en la presente investigación.	Si	No

Nombre del **participante** y cédula	Fecha	Firma
Persona que obtiene el consentimiento (**testigo 1**)	Fecha	Firma
Persona que obtiene el consentimiento (**testigo 2**)	Fecha	Firma

Altos de Santa Helena- Universidad del Tolima-Facultad de Ciencias-, Laboratorio de Citogenética-Filogenia y Evolución de Poblaciones-LCFEP. Ibagué-ColombiaTel. 2771212-2772049-2772040, ext. 9658; 3163033776. Correo electrónico: echeverrydepolanco@hotmail.com, toligen@ut.edu.co

Universidad del Tolima
Grupo de Investigación Citogenética, Filogenia y Evolución de Poblaciones
Directora: María Magdalena Echeverry de Polanco Ph. D.
Entrevista del Programa de Investigación *Análisis Genético de Enfermedades Humanas*

Entrevista socio-económica, clínica y ambiental de la línea de investigación en aspectos genéticos y genómicos del cáncer en Colombia

Programa: ***Estudios Genéticos y Genómicos del Cáncer en Colombia***

Fecha de diligenciamiento: _____ **Diligenciado por**: _____

Sección 1. Información personal

Código del control:_____

¿Ha padecido usted o un familiar de primer grado de cáncer de colon, de recto o cualquier otra enfermedad? Si__ No__
Detalles_____
¿Ha padecido usted de algún problema de colon o recto? Si__ No__
Detalles_____
¿Esposo (a) de algún paciente en esta investigación? No___ Si____ Código_____
¿Por cuánto tiempo convivió con el paciente antes de que este adquiriera el cáncer? _____

Apellidos: _____ Nombre:_____
Lugar y fecha de nacimiento: _____ Edad: _____
Sexo_____ Ocupación: _____ Teléfono: _____
Barrio: _____ Estrato socio-económico_____
Grupo étnico: _____ Estado civil: _____ Escolaridad: _____
¿Conoce si sus padres están emparentados?: _____

Sección 2. Alcohol, tabaquismo y actividad física:

2.1 Consumo de alcohol:

¿Consume bebidas alcohólicas? Si__ No__, ¿Desde qué edad?: _____

	Aguardiente	Ron	Cerveza
Cada cuanto toma			
Botellas/mes			
Años de consumo			

¿Cada cuanto y desde qué edad se embriaga?:_____
Si ya no bebe, ¿cada cuanto y en qué cantidad lo hacía?:_____
Si ya no bebe, ¿hace cuanto dejó de hacerlo?:_____

2.2 Tabaquismo:

Fumador: _____ Ex -fumador: _____ No-fumador: _____
¿Por cuantos años ha fumado o fumó?_____ ¿Con qué frecuencia (cigarrillos/día)?: _____
¿Fuma en su casa?:_____ ¿Por cuántos años?: _____ Horas de exposición al día: _____
¿Fuma en su lugar de trabajo?:_____ ¿Por cuántos años?: _____ Horas de exposición al día: _____
De 1 (poco) a 5 (mucho), ¿cómo califica su exposición doméstica o laboral al cigarrillo?:_____

Altos de Santa Helena- Universidad del Tolima-Facultad de Ciencias-, Laboratorio de Citogenética-Filogenia y Evolución de Poblaciones-LCFEP. Ibagué-ColombiaTel. 2771212-2772049-2772040, ext. 9658; 3163033776. Correo electrónico: echeverrydepolanco@hotmail.com, toligen@ut.edu.co

2.3 Salud, actividad física y peso:

Talla: _____ Peso actual: _____ Peso a los 20 años: _____Peso a los 40 años_____
Perimetro abdominal:_____ perímetro de la cadera:_____
Nivel de actividad física en su ocupación actual: Alta: _____ Media: _____ Baja: _____
¿Practica deporte (actividad, veces por semana, duración e intensidad)?:_____
_____
¿Padece de alguna enfermedad crónica?_____
¿Padece de alergias?_____
¿Ha padecido o padece de alguna enfermedad grave?_____

Sección 3. Origen geográfico:

Pariente	Nombre y Apellido	¿Ha tenido o tuvo cáncer?	Lugar de nacimiento[1]
Padre			
Madre			
Abuelo paterno			
Abuela paterna			
Abuelo materno			
Abuela materna			

[1] Si nació afuera del departamento, especificar.

Nivel socioeconómico del hogar donde creció: Bajo_____ Medio: _____ Alto: _____
Nivel socioeconómico de su familia paterna: Bajo_____ Medio: _____ Alto: _____
Nivel socioeconómico de su familia materna: Bajo_____ Medio: _____ Alto: _____
¿En total cuantos hermanos tuvo?: _____

¿Enfermedades más comunes de la familia: _____
_____

Sección 4.

4.1 Embarazo:

Número de embarazos: _____ Edad del primer embarazo: _____
Edad del último embarazo: _____ ¿Ha lactado todos sus hijos?:_____

¿Planifica?: Si____ No_____ ¿Por cuánto tiempo?:_____
Método de planificación: Pastas_____ Dispositivo_____ Inyección: _____ Parches: _____ Otro: _____
Nombre del medicamento: _____

4.2 Menarquia y menopausia:

Edad a la menarquía: _____ ¿Le ha llegado la menopausia?: Si (edad) _____ No_____

Causa de la menopausia: Natural_____ Histerectomía: _____ Extirpación de ovarios: _____ Otra: _____

¿Ha tenido o tuvo TRH?: Sí_____ No_____ Medicamento y duración: _____

Anexo E. Formato del consentimiento informado y entrevista de pacientes.

Universidad del Tolima
Grupo de Investigación Citogenética, Filogenia y Evolución de Poblaciones
Consentimiento informado: *Análisis Genético de Enfermedades Humanas*

Consentimiento Informado

Código:

Por favor lea con detenimiento este documento y la carta "*Información sobre la investigación*", que lo acompaña. Si después de ello, usted está interesado en participar en la investigación, señale con una X el cuadro de Si (si acepta) o de No (si no acepta) cada uno de los enunciados que aparecen a continuación. Si no entiende completamente, o si desea más información, por favor pregúntenos antes de firmar.		
Programa de Investigación: ***Análisis genético de enfermedades humanas***		
Nombre del paciente:	Fecha y lugar de nacimiento:	
Yo confirmo que he leído y entendido la carta "Información sobre la investigación" y que tuve la oportunidad de hacer preguntas y solucionar todas las dudas al respecto.	Si	No
Yo entiendo que mi participación es voluntaria y que puedo retirarme de la investigación si lo deseo sin necesidad de argumentar ninguna razón	Si	No
Yo autorizo al investigador principal y a las personas designadas por él para que revisen mi historia clínica con el propósito de llevar a cabo la presente investigación. También autorizo a dicho investigador y a las personas designadas por él, para que fotocopien y archiven dicha información, la cual solo podrá ser usada en análisis confidenciales.	Si	No
Yo autorizo para que el investigador principal y las personas designadas por él, tengan acceso a las muestras de tejido cancerígeno y normal previamente removidas en las biopsias y o cirugías y tomen placas de ellas.	Si	No
Yo autorizo al investigador principal y a las personas designadas por él, a que me tomen entre 15 y 20 mililitros de sangre para almacenarla y utilizarla en la presente investigación. Una de dichas muestras puede ser usada para establecer una línea celular. Yo entiendo que las muestras proporcionadas serán anonimizadas. Sólo el investigador principal, y las personas autorizadas por él, tendrán acceso a dicha información y a los resultados obtenidos con ellas.	Si	No
Yo autorizo al investigador principal, y a las personas designadas por él, para que usen mis muestras de sangre y otros tejidos con el fin de investigar y entender los factores genéticos involucrados en el cáncer.	Si	No
Yo entiendo que la presente investigación producirá beneficios para humanidad en general y no necesariamente para mí como individuo. Sin embargo, si los hallazgos encontrados en mis muestras son de interés, estoy de acuerdo en que mi médico tratante, el Dr. _____, sea informado al respecto.	Si	No
Yo autorizo a que las muestras de tejido y de sangre que he proporcionado sean almacenadas y estudiadas por el investigador principal, y por las personas designadas por él, en futuras investigaciones relacionadas con los aspectos genéticos del **carcinoma de tiroides** y de otras enfermedades humanas, así como de genética de poblaciones.	Si	No
Yo autorizo al investigador principal, y a las personas designadas por él, para que utilicen mis muestras de tejido cancerígeno y de sangre o ADN en centros de investigación del país y del exterior.	Si	No
Yo estoy de acuerdo en participar en la presente investigación.	Si	No

_____ _____
Nombre completo del **paciente** y número de cédula. Firma y fecha

_____ _____
Nombre completo del **testigo 1** y número de cédula. Firma y fecha

_____ _____
Nombre completo del **testigo 2** y número de cédula. Firma y fecha

Altos de Santa Helena- Universidad del Tolima-Facultad de Ciencias-, Laboratorio de Citogenética-Filogenia y Evolución de Poblaciones-LCFEP
Ibagué-ColombiaTel. 2771212-2772049-2772040, ext. 9658; 3163033776. 3152430924. Correo electrónico: echeverrydepolanco@hotmail.com.

Universidad del Tolima
Grupo de Investigación: Citogenética filogenia y evolución de poblaciones
Programa de investigación: *Análisis genético de enfermedades Humanas*

Aspectos genéticos y genómicos del cáncer en Colombia
Entrevista socio-económica, clínica y ambiental para pacientes de cáncer

Tipo de cáncer: Tiroides (CT).	Versión 4: febrero 2012

Fecha de diligenciamiento: _____ Diligenciado por: _____

Sección 1. Información personal del paciente

Apellidos: _____ Nombre: _____
Fecha de nacimiento: día ___mes___año____ Edad años: _____ Sexo: Hombre__ Mujer __
Estado Civil: Casado__ Soltero__ Separado___ Unión Libre__
Número de cédula: _____ Ocupación: _____
Dirección: _____ Ciudad _____
Teléfono: fijo_____ celular _____
Nombre de un familiar cercano: _____ Teléfono: fijo _____ celular _____
Escolaridad: Sin estudios:___ Primaria años __ Secundaria años ___ Tecnología años ___ Universitario años ___
Postgrado: Especialización . Maestría Doctorado
¿Son sus padres parientes consanguíneos? Sí No
Si la anterior es sí que parentesco consanguíneo tienen? Padre e hijo , Hermanos, tío(a) y sobrina(o) __,
primos hermanos____, primos segundos_____, otro cuál ___

Sección 2. Alcohol, tabaquismo y actividad física.

Nota: Las preguntas de esta sección se refieren a la vida del paciente antes de ser diagnosticado con el cáncer

2.1 Consumo de alcohol antes del cáncer

¿Consumía bebidas alcohólicas antes de padecer cáncer? Si: _____ No: _____

	Aguardiente				Ron				Cerveza			
¿Cada cuánto tomaba?	Diario	Semanal		Mensual	Diario	Semanal		Mensual	Diario	Semanal		Mensual
Botellas/mes	<1	1-5	5-10	>10	<1	1-5	5-10	>10	<1	1-5	5-10	>10
Años de consumo	0-5	5-10		>10	0-5	5-10		>10	0-5	5-10		>10

2.2 Tabaquismo – Antes del Cáncer

No fumador: ____
Fumador: ____Por cuantos años? 0-5___ 5-10 ___ 10-20 ___ >20 ___ Edad al inicio del habito____
Ya dejó de fumar: _Si No___
Si la respuesta anterior es sí hace cuántos años lo dejó? 0-5___ 5-10 ___ 10-20 ___ >20 ___
Edad en que lo dejo: ____

¿Con qué frecuencia fumaba antes del cáncer? (cigarrillos/día): 0-5___ 5-10 ___ 10-20 ___ >20 ___
¿Estuvo expuesto al tabaco en casa (s) ?: No ___ SI__ ¿Por cuántos años?: 0-5___ 5-10 ___ 10-20 ___ >20 ___
Horas de exposición al día: 0-1___ 1-2 ___ 2-3 ___ 3-4 ___ 4-5 ___ más ___

¿Fumaban en su lugar de trabajo?: _____ ¿Por cuántos años?: 0-5___ 5-10 ___ 10-20 ___ >20 ___

Horas de exposición al día: 0-1___ 1-2 ___ 2-3 ___ 3-4 ___ 4-5 ___
De 1 (poco) a 5 (mucho), ¿cómo califica su exposición doméstica o laboral al cigarrillo?: _____
Hora del primer cigarrillo: Al despertar____ 1 hora____ 2 horas ____ >3 horas ____

2.3 Actividad física y peso – Antes del Cáncer

Peso habitual antes del cáncer: _____ Peso a los 20 años: _____ Peso a los 40 años_____
Ocupación realizaba?:_____
Nivel de actividad física en dicha ocupación: Alta: _____ Media: _____ Baja: _____
¿Practicaba deporte? Si ____ No ____ Días semana 1__ 2___ 3___ 4___ 5__ 6 __ 7 ___
Horas día 1__ 2 __ 3___ Más ____
Intensidad: leve _____ moderada _____ alta _____

Sección 3. Datos físicos actuales

Talla: _____centimetros Peso:_____kg. Perímetro abdominal: _____centimetros
Color de ojos: oscuros: ____ claros: _____ miel: ____
Textura de pelo: lacio: ____ ondulado: ____ crespo: ____ muy crespo: ____
Destreza: Zurdo _____ Derecho:_____ Ambidextro_____
Grupo sanguíneo: _____ Rh: _____

Sección 4. Aspectos ginecológicos

4.1 Embarazo

Número de embarazos: 0 ___ 1-2___ 3-4 ___ >5___ Edad al primer embarazo: _____
Edad al último embarazo: _____ Número de hijos nacidos vivos: _____
¿Ha lactado todos sus hijos?: NO___ SI___ Al Primero ___ Al último___ A todos ___ Ninguno ___
¿Ha tenido partos múltiples?: NO ____ SI____
¿Planificó antes del cáncer?: NO ____ SI _____
¿Por cuántos años planificó antes del cáncer? 0-5 ___ 5-10___ 10-20___
Método de planificación: Pastas: _____ Dispositivo: _____ Inyección: _____ Parches: _____
Otro: _____
Nombre del medicamento si lo recuerda: _____
Para uso de la enfermera: Estrógenos ___ progestágenos ___ mixto ____

4.2 Menarquia y menopausia

Edad de la primera menstruación: _____
¿Le ha llegado la menopausia? Si (edad): _____ No: _____
Causa de la menopausia: Natural ____ Radio-terapia ____ Histerectomía ___ Extirpación de ovarios ____
Otras (¿Cuál?) _____
¿Ha tenido o tuvo terapia de reemplazo hormonal durante la menopausia (TRH)?: Si _____ No _____
Medicamento y duración de la TRH en años: 1__ 2___ 3___ 4___ 5___ 6 o más ___.

Sección 5: Información Familiar:

Datos del paciente y parientes con o sin cáncer	**Nombre**	**1. Apellido**	**2. Apellido**	**Municipio nacimiento**	**Departamento**	**Estrato socio económico De 1 a 6**	Si ha tenido cáncer tipo de tumor	Edad de Aparición años	¿Está vivo? Si no
Paciente									Si no
Padre									Si no
Madre									Si no
Abuelo paterno									Si no
Abuela paterna									Si no
Abuelo materno									Si no
Abuela materna									Si no
Otros parientes de primer o segundo grado de parentesco y línea familiar afectados con cáncer									
									Si no
									Si no
									Si no
									Si no
									Si no
									Si no
									Si no
									Si no
									Si no

Sección 6. Información Clínica de los pacientes:

6.1 Sintomatología inicial. Colocar una X y averiguar la duración del síntoma

	Masa en el cuello	Dificultad para tragar o pasar saliva	Disfonía	Carraspera en la garganta	Dolor	Otro
Síntoma						
Duración						

Presencia sincrónica o metacrónica de otro cáncer?: No__ si __
(detalles):_____
Tratamiento adyuvante: Radioterapia:_____ Quimioterapia: _____
Nombres e instituciones de los médicos tratantes:
Cirujano:
_____
Oncólogo:
_____
Patólogo:
_____
¿Ha padecido usted de alguna de las siguientes condiciones tiroideas?

hipertiroidismo: _____hipotiroidismo: _____Bocio (coto): _____

Otra (¿cuál?) _____

Detalles (Edad al diagnóstico y duración):
_____
Edad del diagnóstico:
20-30_____
31-40 _____
41-50 _____
51-60 _____
61-70 _____

¿Se ha sometido alguna vez a terapia de rayos X (incluso en la niñez)?: Si _____ No _____

¿Ha padecido o padece usted de otro tipo de cáncer?: No___ Si___ (en cual órgano): Ovario ____ Mama ___ Gastrointestinal____ Próstata____ Útero (endometrio) _____
Tipo de cáncer y edad al diagnóstico: _____

20-30_____
31-40 _____
41-50 _____
51-60 _____
61-70 _____
¿Ha padecido o padece de tumores benignos?, No___ Si___ (en cual órgano): detalles incluyendo edad de diagnóstico: _____
¿Antes del cáncer, de que enfermedades crónicas padeció? (incluir nombre de la enfermedad, edad al diagnóstico, tratamiento y duración de la enfermedad):
_____
_____
¿Sufre de alergias?: No ___ SI ___

6.2 Características histopatológicas: (Para uso de la enfermera)
Nota: Adjuntar copia(s) de reporte(s) de patología, biopsia y especímenes quirúrgicos
Reporte de Patología: Biopsia __ Quirúrgico____ No. Reporte (s):_____
Laboratorio de patología:_____
Bloques: 0 1 2 3
Láminas histológicas: 0 1 2 3

Información del tumor: tipo histológico: _____
Carcinoma Papilar: _____
Carcinoma Folicular: _____
Carcinoma Anaplásico: _____
Carcinoma Medular: _____
Localización; lóbulo derecho:_____ lóbulo izquierdo:_____ itsmo: _____ multifocal: _____
Grado histológico: grado 1 (bien diferenciado):____ grado 2 (moderadamente diferenciado):_____
grado 3 (mal diferenciado): ____ grado 4 (indiferenciado):_____
Cirugía practicada: tiroidectomía total: _____, lobectomía: _____.
Estado TNM:
Carcinoma Papillar o Folicular

Estado I	T1	N0	M0
Estado II	T2	N0	M0
Estado III	T3	N0	M0
	T1	N1a	M0
	T2	N1a	M0
	T3	N1a	M0
Estado IVA	T4a	N0	M0
	T4a	N1a	M0
	T1	N1b	M0

	T2	N1b	M0
	T3	N1b	M0
	T4a	N1b	M0
Estado IVB	T4b	cualquier N	M0
Estado IVC	cualquier T	cualquier N	M1

6.3 Características moleculares:
BRAF: POSITIVO _____ NEGATIVO_____.

Carta autorización retiro bloques y láminas

Fecha: _____

Señores:

Laboratorio de Patología: _____

Muy comedidamente les solicito entregar un bloque con tejido tumoral y sus correspondientes láminas histológicas y un bloque de tejido normal con sus correspondientes láminas histológicas, de mi patología, procesada y diagnosticada en su importante institución e identificada con el número:

_____

Estos bloques y láminas los necesito para estudios de inmunohistoquímica y genéticos y seguirán con la debida custodia.

Agradezco su amable colaboración en este trámite.

Atentamente,

Firma: _____

Nombre: _____

Cédula: _____

Anexo F. Estrato socio-económico de controles y casos según el tipo histológico y la edad de diagnóstico (mayor o menor de 45 años).

Tipo	Edad	Género	Estrato socioeconómico			Total
			1 y 2	3 y 4	5 y 6	
Controles	≥50	Mujer	185 (52,7)	155 (44,2)	11 (3,1)	351 (100)
		Hombre	46 (44,2)	54 (51,9)	4 (3,8)	104 (100)
PTC	≥45	Mujer	59 (51,3)	44 (38,3)	12 (10,4)	115 (100)
		Hombre	9 (40,9)	13 (59,1)	0	22 (100)
	<45	Mujer	46 (59)	29 (37,2)	3 (3,8)	78 (100)
		Hombre	9 (45)	9 (45)	2 (10)	20 (100)
	Total	Mujer	105 (54,4)	73 (37,8)	15 (7,8)	193 (100)
		Hombre	18 (42,9)	22 (52,4)	2 (4,8)	42 (100)
FTC	≥45	Mujer	2 (28,6)	5 (71,4)	0	7 (100)
		Hombre	2 (66,7)	0	1 (33,3)	3 (100)
	<45	Mujer	6 (100)	0	0	6 (100)
	Total	Mujer	8 (61,5)	5 (38,5)	0	13 (100)
		Hombre	2 (66,7)	0	1 (33,3)	3 (100)
MTC	≥45	Mujer	1 (50)	1 (50)	0	2 (100)
Casos	Total	Mujer	114 (54,8)	79 (38)	15 (7,2)	208 (100)
		Hombre	20 (44,4)	22 (48,9)	3 (6,7)	45 (100)

Anexo G. Nivel de escolaridad de controles y casos según el tipo histológico y la edad (menor de 45 años o mayor o igual a 45 años).

Tipo	Edad	Género	Nivel educativo			
			Sin estudios	Primaria	Secundaria y Técnico	Universitario y Posgrado
Control	≥50	Mujer	23 (7,9)	152 (52,4)	94 (32,4)	21 (7,2)
		Hombre	7 (7,1)	32 (32,7)	45 (45,9)	14 (14,3)
PTC	≥45	Mujer	3 (2,7)	43 (38,4)	49 (43,8)	17 (15,2)
		Hombre	1 (4,5)	5 (22,7)	11 (50)	5 (22,7)
	<45	Mujer	9 (11,5)	40 (51,3)	25 (32,1)	4 (5,1)
		Hombre	5 (25)	7 (35)	8 (40)	0
	Total	Mujer	12 (6,3)	83 (43,7)	74 (38,9)	21 (11,1)
		Hombre	6 (14,3)	12 (28,6)	19 (45,2)	5 (11,9)
FTC	≥45	Mujer	0	3 (42,9)	2 (28,6)	2 (28,6)
		Hombre	2 (66,7)	0	0	1 (33,3)
	<45	Mujer	0	3 (50)	2 (33,3)	1 (16,7)
	Total	Mujer	0	6 (46,2)	4 (30,8)	3 (23,1)
		Hombre	2 (66,7)	0	0	1 (33,3)
MTC	≥45	Mujer	0	0	2 (100)	0
Casos	Total	Mujer	12 (5,9)	89 (43,4)	80 (39)	24 (11,7)
		Hombre	8 (17,8)	12 (26,7)	19 (42,2)	6 (13,3)

Anexo H. Frecuencia de consumo de bebidas alcohólicas en controles y pacientes (A) y análisis estadístico (B), según el tipo histológico y la edad (menor de 45 años o mayor o igual a 45 años).

A)

Tipo	Edad	Género	Consumo de alcohol			
			No consume	**Ocasional y Anual**	**Mensual y Quincenal**	**Semanal y Diario**
Control	≥50	Mujer	290 (84,8)	33 (9,6)	11 (3,2)	8 (2,3)
		Hombre	35 (33,3)	14 (13,3)	17 (16,2)	39 (37,1)
PTC	≥45	Mujer	95 (82,6)	16 (13,9)	3 (2,6)	1 (0,9)
		Hombre	7 (31,8)	3 (13,6)	4 (18,2)	8 (36,4)
	<45	Mujer	58 (74,4)	12 (15,4)	5 (6,4)	3 (3,8)
		Hombre	6 (30)	6 (30)	3 (15)	5 (25)
	Total	Mujer	153 (79,3)	28 (14,5)	8 (4,1)	4 (2,1)
		Hombre	13 (31)	9 (21,4)	7 (16,7)	13 (31)
FTC	≥45	Mujer	5 (71,4)	2 (28,6)	0	0
		Hombre	1 (33,3)	0	1 (33,3)	1 (33,3)
	<45	Mujer	4 (66,7)	2 (33,3)	0	0
	Total	Mujer	9 (69,2)	4 (30,8)	0	0
		Hombre	1 (33,3)	0	1 (33,3)	1 (33,3)
MTC	≥45	Mujer	2 (100)	0	0	0
Casos	Total	Mujer	164 (78,8)	32 (15,4)	8 (3,8)	4 (1,9)
		Hombre	14 (31,1)	9 (20)	8 (17,8)	14 (31,1)

B)

	< Anual *n (%)*	> Mensual *n (%)*	OR (IC 95%)	Valor P
Mujeres				
Controles	323 (94,4)	19 (5,6)	Referencia	
Casos ≥45 años	120 (96,8)	4 (3,2)	0,567 (0,189-1,699)	0,4348
Casos <45 años	76 (90,5)	8 (9,5)	1,789 (0,755-4,242)	0,2774
Total Casos	196 (94,2)	12 (5,8)	1,041 (0,495-2,191)	0,9203
Hombres				
Controles	49 (46,7)	56 (53,3)	Referencia	
Casos ≥45 años	11 (44)	14 (56)	1,114 (0,463-2,679)	0,9964
Casos <45 años	12 (60)	8 (40)	0,583 (0,220-1,544)	0,3961
Total Casos	23 (51,1)	22 (48,9)	0,837 (0,416-1,684)	0,7518

Anexo I. Consumo y exposición a tabaco en controles y pacientes, según el tipo histológico y la edad (menor de 45 años o mayor o igual a 45 años).

Tipo	Edad	Fumador	Género		Fumador pasivo	Género	
			Mujer	Hombre		Mujer	Hombre
Control	≥50	No	44 (12,9)	28 (26,9)	No	145 (79,2)	49 (73,1)
		Ex-fumador	28 (8,2)	14 (13,5)	Si	38 (20,8)	18 (26,9)
		Fumador	268 (78,8)	62 (59,6)			
PTC	≥45	No	19 (16,5)	9 (40,9)	No	86 (74,8)	10 (45,5)
		Ex-fumador	2 (1,7)	2 (9,1)	Si	29 (25,2)	12 (54,5)
		Fumador	94 (81,7)	11 (50)			
	<45	No	7 (9)	2 (10)	No	51 (65,4)	15 (75)
		Ex-fumador	3 (3,8)	1 (5)	Si	27 (34,6)	5 (25)
		Fumador	68 (87,2)	17 (85)			
	Total	No	26 (13,5)	11 (26,2)	No	137 (71)	25 (59,5)
		Ex-fumador	5 (2,6)	3 (7,1)	Si	56 (29)	17 (40,5)
		Fumador	162 (83,9)	28 (66,7)			
FTC	≥45	No	3 (42,9)	2 (66,7)	No	4 (57,1)	3 (100)
		Ex-fumador	0	0	Si	3 (42,9)	0
		Fumador	4 (57,1)	1 (33,3)			
	<45	No	0		No	5 (83,3)	
		Ex-fumador	0		Si	1 (16,7)	
		Fumador	6 (100)				
	Total	No	3 (23,1)	2 (66,7)	No	9 (69,2)	3 (100)
		Ex-fumador	0	0	Si	4 (30,8)	0
		Fumador	10 (76,9)	1 (33,3)			
MTC	≥45	No	0		No	1 (50)	
		Ex-fumador	0		Si	1 (50)	
		Fumador	2 (100)				
Total casos		No	29 (13,9)	13 (28,9)	No	147 (70,7)	28 (62,2)
		Ex-fumador	5 (2,4)	3 (6,7)	Si	61 (29,3)	17 (37,8)
		Fumador	174 (83,7)	29 (64,4)			

Anexo J. Porcentaje de controles y pacientes, según la edad de la menarquia.

	Control	PTC		FTC		MTC
	≥50	≥45	<45	≥45	<45	≥45
Edad de la menarquia						
9-11	26 (9,1)	18 (15,9)	11 (15,3)	2 (28,6)	1 (20)	1 (50)
12	43 (15)	13 (11,5)	22 (30,6)	0	0	1 (50)
13	71 (24,8)	26 (23)	12 (16,7)	0	1 (20)	0
14	59 (20,6)	28 (24,8)	12 (16,7)	2 (28,6)	2 (40)	0
15	51 (17,8)	17 (15)	7 (9,7)	2 (28,6)	1 (20)	0
16-19	36 (12,6)	11 (9,7)	8 (11,1)	1 (14,3)	0	0
Total	286 (100)	113 (100)	72 (100)	7 (100)	5 (100)	2 (100)

Anexo K. Controles y pacientes según el número de embarazos llegados a termino, la edad del primer embarazo y la lactancia.

	Control	PTC		FTC		MTC
	≥50	≥45	<45	≥45	<45	≥45
Número de embarazos						
0	57 (16,5)	15 (13)	22 (28,2)	0	0	0
1 a 3	146 (42,2)	53 (46,1)	51 (65,4)	2 (28,6)	6 (100)	1 (50)
4 a 6	116 (33,5)	35 (30,4)	5 (6,4)	4 (57,1)	0	0
7 a 9	20 (5,8)	9 (7,8)	0	1 (14,3)	0	1 (50)
≥10	7 (2)	3 (2,6)	0	0	0	0
Total	346 (100)	115 (100)	78 (100)	7 (100)	6 (100)	2 (100)
Edad del primer embarazo						
13-17	52 (18,2)	15 (15)	11 (20)	0	1 (16,7)	1 (50)
18-22	121 (42,5)	54 (54)	26 (47,3)	2 (28,6)	4 (66,7)	1 (50)
23-27	65 (22,8)	17 (17)	14 (25,5)	3 (42,9)	0	0
28-32	33 (11,6)	7 (7)	4 (7,3)	1 (14,3)	0	0
33-37	7 (2,5)	6 (6)	0	1 (14,3)	1 (16,7)	0
≥38	7 (2,5)	1 (1)	0	0	0	0
Total	285 (100)	100 (100)	55 (100)	7 (100)	6 (100)	2 (100)
Lactancia						
No	14 (5,9)	4 (4)	2 (3,6)	1 (14,3)	1 (16,7)	0
Si	224 (94,1)	96 (96)	54 (96,4)	6 (85,7)	5 (83,3)	2 (100)
Total	238 (100)	100 (100)	56 (100)	7 (100)	6 (100)	2 (100)

Anexo L. Análisis estadístico de la edad del primer embarazo (A) y el número de embarazos (B) en casos y controles y su relación con el riesgo de CT.

A)

Edad	n (%)	n (%)	OR (95%)	Valor P
	Controles	**Casos ≥45**		
18-22	121 (42,5)	57 (52,3)	Referencia	
13-17	52 (18,2)	16 (14,7)	0,653 (0,343-1,242)	0,2506
23-27	65 (22,8)	20 (18,3)	0,653 (0,361-1,181)	0,1009
≥28	47 (16,5)	16 (14,7)	0,723 (0,378-1,383)	0,4096
	Controles	**Casos <45**		
18-22	121 (42,5)	30 (49,2)	Referencia	
13-17	52 (18,2)	12 (19,7)	0,931 (0,442-1,959)	0,8414
23-27	65 (22,8)	14 (22,9)	0,869 (0,430-1,754)	0,8231
≥28	47 (16,5)	5 (8,2)	0,429 (0,157-1,172)	0,1398
	Controles	**Casos Total**		
18-22	121 (42,5)	87 (51,2)	Referencia	
13-17	52 (18,2)	28 (16,5)	0,749 (0,438-1,279)	0,3537
23-27	65 (22,8)	34 (20)	0,728 (0,442-1,197)	0,2579
≥28	47 (16,5)	21 (12,4)	0,621 (0,347-1,114)	0,1435

B)

	Control *n (%)*	PTC ≥45 *n (%)*	PTC ≥35 *n (%)*
Número de embarazos			
0	56 (16,2)	15 (13)	22 (15,3)
1 o 2	95 (27,5)	28 (24,3)	38 (26,4)
3 o 4	96 (27,8)	45 (39,1)	56 (38,9)
5 o 6	71 (20,6)	15 (13)	16 (11,1)
7 o 8	17 (4,9)	8 (7)	8 (5,6)
>9	10 (2,9)	4 (3,5)	4 (2,8)

	PTC ≥45		PTC ≥35	
Calculo del Odds ratio				
	OR (IC 95%)	**Valor P**	**OR (IC 95%)**	**Valor P**
Nulíparas vs 1-2	1,100 (0,542-2,235)	0,9203	1,018 (0,548-1,893)	0,9203
Nulíparas vs 3-4	1,75 (0,895-3,423)	0,1380	1,485 (0,821-2,687)	0,2453
Nulíparas vs ≥1	1,292 (0,699-2,386)	0,5023	1,075 (0,628-1,838)	0,8880
Nulíparas vs ≥5	1,029 (0,505-2,095)	0,9204	0,727 (0,381-1,39)	0,4237
1 o 2 vs ≥5	0,935 (0,513-1,702)	0,8791	0,714 (0,406-1,255)	0,3032

Anexo M. Lactancia y relación con el riesgo de padecer cáncer papilar de tiroides.

	No *n (%)*	**Si** *n (%)*	**OR (IC 95%)**	**Valor P**
Control	14 (5,9)	224 (94,1)	Referencia	
Caso ≥45	5 (4,6)	104 (95,4)	0,769 (0,269-2,192)	0,8065
Caso <45	3 (4,8)	59 (95,2)	0,814 (0,226-2,925)	1,000
Casos	8 (4,7)	163 (95,3)	0,785 (0,322-1,916)	0,7518

Anexo N. Controles y pacientes según el tipo y edad de la menopausia.

	Control	PTC	FTC	MTC	Total
Menopausia					
Natural	242 (76,3)	55 (28,5)	6 (46,2)	0	61 (29,3)
No funcional	62 (19,6)	59 (30,6)	0 (0)	2 (100)	61 (29,3)
No	13 (4,1)	79 (40,9)	7 (53,8)	0	86 (41,3)
Total	317 (100)	193 (100)	13 (100)	2 (100)	208 (100)
Edad de la Menopausia Natural					
≤44	26 (10,7)	4 (8)	1 (20)	0	5 (9,1)
45-47	52 (21,5)	12 (24)	1 (20)	0	13 (23,6)
48-51	104 (43)	20 (40)	2 (40)	0	22 (40)
52-54	33 (13,6)	12 (24)	0	0	12 (21,8)
55-57	27 (11,2)	2 (4)	1 (20)	0	3 (5,5)
Total	242 (100)	50 (100)	5 (100)	0	55 (100)
Edad menopausia no funcional					
≤35	5 (9,6)	6 (14,6)	0	0	6 (14)
36-40	22 (42,3)	8 (19,5)	0	0	8 (18,6)
41-45	7 (13,5)	10 (24,4)	0	1 (50)	11 (25,6)
46-50	12 (23,1)	7 (17,1)	0	0	7 (16,3)
≥51	6 (11,5)	10 (24,4)	0	1 (50)	11 (25,6)
Total	52 (100)	41 (100)	0	2 (100)	43 (100)
≤40	27 (51,9)	14 (34,1)	0	0	14 (32,6)
41-50	19 (36,5)	17 (41,5)	0	1 (50)	18 (41,9)
≥51	6 (11,5)	10 (24,4)	0	1 (50)	11 (25,6)
≤45	34 (65,4)	24 (58,5)	0	1 (50)	25 (58,1)
≥46	18 (34,6)	17 (41,5)	0	1 (50)	18 (41,9)

Anexo O. Distribución del número y porcentaje de pacientes, según el tipo histológico, la edad de diagnóstico y los antecedentes familiares de cáncer.

Tipo	Edad	Género	No declara	1^{r} grado	2do grado	1^{r} y 2do grado
PTC	≥45	Hombre	13 (7,8)	4 (19)	2 (6,1)	3 (21,4)
		Mujer	80 (47,9)	9 (42,9)	16 (48,5)	10 (71,4)
	<45	Hombre	16 (9,6)	1 (4,8)	3 (9,1)	0
		Mujer	58 (34,7)	7 (33,3)	12 (36,4)	1 (7,1)
FTC	≥45	Hombre	3 (25)	0	0	0
		Mujer	5 (41,7)	2 (100)	0	0
	<45	Hombre	0	0	0	0
		Mujer	4 (33,3)	0	1 (100)	1 (100)
MTC	≥45	Mujer	1 (100)	1 (100)	0	0
Total			**180**	**34**	**15**	**39**

Antecedentes de cáncer de colon, estómago, seno, próstata, endometrio y/o tiroides

Primer grado: Padres e hijos

Segundo grado: Abuelos y Hermanos

Anexo P. Distribución de los pacientes según la localización del tumor (A) y Análisis estadístico (B).

A)

		PTC		FTC		MTC
		Mujer	**Hombre**	**Mujer**	**Hombre**	**Mujer**
Edad	**Localización**					
≥45	IST	6 (4,6)	1 (5)	0	0	0
	L	72 (55,4)	12 (60)	5 (83,3)	2 (50)	2 (100)
	M	52 (40)	7 (35)	1 (16,7)	2 (50)	0
	Total	130 (100)	20 (100)	6 (100)	4 (100)	2 (100)
<45	IST	4 (4,7)	1 (5)	0		
	L	53 (62,4)	12 (60)	3 (60)		
	M	28 (32,9)	7 (35)	2 (40)		
	Total	85 (100)	20 (100)	5 (100)		
Total	IST	10 (4,4)	2 (4,7)	0	0	0
	L	132 (58,1)	26 (60,5)	8 (66,7)	2 (50)	2 (100)
	M	85 (37,4)	15 (34,9)	4 (33,3)	2 (50)	0
	Total	227 (100)	43 (100)	12 (100)	4 (100)	2 (100)
Edad	**Bilateral**					
≥45	No	104 (77,6)	22 (91,7)	7 (100)	3 (75)	2 (100)
	Si	30 (22,4)	2 (8,3)	0	1 (25)	0
	Total	134 (100)	24 (100)	7 (100)	4 (100)	2 (100)
<45	No	80 (86)	16 (76,2)	6 (100)		
	Si	13 (14)	5 (23,8)	0		
	Total	93 (100)	21 (100)	6 (100)		
Total	No	226 (83,7)	48 (85,7)	14 (100)	3 (75)	2 (100)
	Si	44 (16,3)	8 (14,3)	0	1 (25)	0
	Total	270 (100)	56 (100)	14 (100)	4 (100)	2 (100)

B)

	Presente *n (%)*	**Ausente** *n (%)*	**OR (IC 95%)**	**Valor P**
Bilateral				
≥45	33 (19,3)	138 (80,7)	Referencia	
<45	18 (15)	102 (85)	0,738 (0,394-1,384)	0,427
PTC ≥45	32 (20,3)	126 (79,7)	Referencia	
PTC <45	18 (15,8)	96 (84,2)	0,738 (0,391-1,394)	0,435
PTC Hombre	8 (14,3)	48 (85,7)	Referencia	
PTC Mujer	44 (16,3)	226 (83,7)	1,168 (0,517-2,64)	0,862
Multifocal				
≥45	62 (38,3)	100 (61,7)	Referencia	
<45	37 (33,6)	73 (66,3)	0,818 (0,493-1,357)	0,5169
PTC ≥45	59 (39,3)	91 (60,7)	Referencia	
PTC <45	35 (33,3)	70 (66,7)	0,771 (0,458-1,299)	0,3994
PTC Hombre	15 (34,9)	28 (65,1)	Referencia	
PTC Mujer	85 (37,4)	142 (62,5)	1,117 (0,565-2,211)	0,8875

Anexo Q. Distribución de los pacientes de acuerdo al tamaño del tumor según tipo histológico, edad y género (A) y Análisis estadístico (B).

A)

	PTC		**FTC**		**MTC**	**CASOS**	
	Mujer	**Hombre**	**Mujer**	**Hombre**	**Mujer**	**Mujer**	**Hombre**
Tamaño de la lesión en ≥45							
<1cm	44 (34,9)	6 (31,6)	2 (33,3)	0	0	46 (34,3)	6 (26,1)
1-2cm	37 (29,4)	6 (31,6)	1 (16,7)	0	1 (50)	39 (29,1)	6 (26,1)
2-3cm	20 (15,9)	4 (21,1)	1 (16,7)	1 (25)	0	21 (15,7)	5 (21,7)
3-4cm	11 (8,7)	2 (10,5)	1 (16,7)	0	0	12 (9)	2 (8,7)
>4cm	14 (11,1)	1 (5,3)	1 (16,7)	3 (75)	1 (50)	16 (11,9)	4 (17,4)
Total	126 (100)	19 (100)	6 (100)	4 (100)	2 (100)	134 (100)	23 (100)
Tamaño de la lesión en <45							
<1cm	25 (31,3)	4 (20)	0			25 (29,4)	4 (20)
1-2cm	24 (30)	5 (25)	2 (40)			26 (30,6)	5 (25)
2-3cm	15 (18,8)	4 (20)	2 (40)			17 (20)	4 (20)
3-4cm	10 (12,5)	2 (10)	1 (20)			11 (12,9)	2 (10)
>4cm	6 (7,5)	5 (25)	0			6 (7,1)	5 (25)
Total	80 (100)	20 (100)	5 (100)			85 (100)	20 (100)
Tamaño de la lesión en todos los casos							
<1cm	71 (32,6)	11 (26,2)	2 (16,7)	0	0	73 (31,5)	11 (23,9)
1-2cm	65 (29,8)	11 (26,2)	4 (33,3)	0	1 (50)	70 (30,2)	11 (23,9)
2-3cm	39 (17,9)	9 (21,4)	3 (25)	1 (25)	0	42 (18,1)	10 (21,7)
3-4cm	23 (10,6)	4 (9,5)	2 (16,7)	0	0	25 (10,8)	4 (8,7)
>4cm	20 (9,2)	7 (16,7)	1 (8,3)	3 (75)	1 (50)	22 (9,5)	10 (21,7)
Total	218 (100)	42 (100)	12 (100)	4 (100)	2 (100)	232 (100)	46 (100)

B)

	n (%)	*n (%)*	OR (IC 95%)	Valor P
Tamaño de la lesión	**<45**	**≥45**		
<1cm	29 (35,8)	52 (64,2)	Referencia	
1-2cm	31 (40,8)	45 (59,2)	1,235 (0,648-2,354)	0,632
2-3cm	21 (44,7)	26 (55,3)	1,448 (0,696-3,014)	0,42
3-4cm	13 (48,1)	14 (51,9)	1,665 (0,69-4,018)	0,362
>4cm	11 (35,5)	20 (64,5)	0,986 (0,415-2,342)	0,841
>1cm	76 (42)	105 (58)	1,298 (0,755-2,231)	0,42
<3cm	81 (39,7)	123 (60,3)	Referencia	
>3cm	24 (41,4)	34 (58,6)	1,266 (0,633-2,53)	0,624
Tamaño de la lesión	**PTC Mujer**	**PTC Hombre**		
<1cm	71 (86,6)	11 (13,4)	Referencia	
1-2cm	65 (85,5)	11 (14,5)	0,916 (0,372-2,254)	1
2-3cm	39 (81,3)	9 (18,8)	0,671 (0,256-1,76)	0,572
3-4cm	23 (85,2)	4 (14,8)	0,891 (0,259-3,07)	1
>4cm	20 (74,1)	7 (25,9)	0,443 (0,152-1,29)	0,143
>1cm	147 (82,6)	31 (17,4)	0,735 (0,349-1,546)	0,527
<3cm	175 (85)	31 (15)	Referencia	
>3cm	43 (79,6)	11 (20,4)	0,693 (0,322-1,487)	0,462

Anexo R. Distribución de los pacientes según el compromiso capsular, invasión vascular invasión de ganglios y extensión extra-tiroidea.

		PTC		FTC		MTC
		Mujer	**Hombre**	**Mujer**	**Hombre**	**Mujer**
Edad	**Compromiso capsular**					
≥45	No	86 (64,2)	13 (54,2)	4 (57,1)	1 (25)	1 (50)
	Si	48 (35,8)	11 (45,8)	3 (42,9)	3 (75)	1 (50)
<45	No	60 (64,5)	9 (42,9)	3 (50)		
	Si	33 (35,5)	12 (57,1)	3 (50)		
Edad	**Invasión vascular**					
≥45	No	106 (79,1)	19 (79,2)	6 (85,7)	3 (75)	2 (100)
	Si	28 (20,9)	5 (20,8)	1 (14,3)	1 (25)	0
<45	No	75 (80,6)	16 (76,2)	5 (83,3)		
	Si	18 (19,4)	5 (23,8)	1 (16,7)		
Edad	**Invasión a ganglios**					
≥45	No	105 (78,4)	16 (66,7)	7 (100)	4 (100)	2 (100)
	Si	29 (21,6)	8 (33,3)	0	0	0
<45	No	55 (59,1)	11 (52,4)	6 (100)		
	Si	38 (40,9)	10 (47,6)	0		
Edad	**Extensión extra-tiroidea**					
≥45	No	112 (83,6)	19 (79,2)	7 (100)	3 (75)	2 (100)
	Si	22 (16,4)	5 (20,8)	0	1 (25)	0
<45	No	77 (82,8)	15 (71,4)	6 (100)		
	Si	16 (17,2)	6 (28,6)	0		

Anexo S. Distribución de pacientes según la clasificación en escala TNM.

TNM	PTC		FTC		MTC
	Mujer	Hombre	Mujer	Hombre	Mujer
≥45					
T1	63 (49,2)	10 (50)	2 (33,3)	0	0
T2	36 (28,1)	4 (20)	2 (33,3)	1 (25)	1 (50)
T3	22 (17,2)	5 (25)	2 (33,3)	3 (75)	1 (50)
T4a	6 (4,7)	1 (5)	0	0	0
T4b	1 (0,8)	0	0	0	0
N0/NX	105 (78,4)	16 (66,7)	7 (100)	4 (100)	2 (100)
N1a	22 (16,4)	8 (33,3)	0	0	0
N1b	7 (5,2)	0	0	0	0
M0/MX	130 (97)	22 (91,7)	7 (100)	4 (100)	2 (100)
M1	4 (3)	2 (8,3)	0	0	0
<45					
T1	38 (47,5)	6 (30)	2 (40)		
T2	25 (31,3)	5 (25)	2 (40)		
T3	8 (10)	6 (30)	1 (20)		
T4a	8 (10)	2 (10)	0		
T4b	1 (1,3)	1 (5)	0		
N0/NX	55 (59,1)	11 (52,4)	6 (100)		
N1a	34 (36,6)	8 (38,1)	0		
N1b	4 (4,3)	2 (9,5)	0		
M0/MX	87 (93,5)	20 (95,2)	6 (100)		
M1	6 (6,5)	1 (4,8)	0		

Anexo T. Distribución de pacientes según el grado de diferenciación y estado del tumor.

A)

		PTC		FTC		MTC
		Mujer	**Hombre**	**Mujer**	**Hombre**	**Mujer**
Edad	**Grado**					
≥45	G1	75 (68,2)	15 (83,3)	6 (85,7)	4 (100)	1 (50)
	G2	31 (28,2)	3 (16,7)	1 (14,3)	0	1 (50)
	G3	4 (3,6)	0	0	0	0
	Total	110 (100)	18 (100)	7 (100)	4 (100)	2 (100)
<45	G1	57 (75)	11 (73,3)	6 (100)		
	G2	17 (22,4)	4 (26,7)	0		
	G3	2 (2,6)	0	0		
	Total	76 (100)	15 (100)	6 (100)		
Edad	**Estado**					
≥45	I	59 (45)	9 (39,1)	4 (57,1)	0	0
	II	28 (21,4)	2 (8,7)	1 (14,3)	1 (25)	1 (50)
	III	32 (24,4)	10 (43,5)	2 (28,6)	3 (75)	1 (50)
	IVA	9 (6,9)	0	0	0	0
	IVC	3 (2,3)	2 (8,7)	0	0	0
	Total	131 (100)	23 (100)	7 (100)	4 (100)	2 (100)
<45	I	81 (92)	20 (95,2)	6 (100)		
	II	7 (7,9)	1 (4,8)	0		
	Total	88 (100)	21 (100)	6 (100)		

B)

	n (%)	n (%)	OR (IC 95%)	Valor P
	PTC <45	**PTC ≥45**		
Grado 1	68 (43)	90 (57)	Referencia	
Grado 2	21 (38,2)	34 (61,8)	0,818 (0,436-1,533)	0,6390
Grados 2 y 3	23 (37,7)	38 (62,3)	0,801 (0,437-1,469)	0,5720
	PTC Mujer	**PTC Hombre**		
Grado 1	138 (83,6)	27 (16,4)	Referencia	
Grado 2	52 (86,7)	8 (13,3)	1,272 (0,543-2,978)	0,7290
Grados 2y3	59 (86,8)	9 (13,2)	1,283 (0,569-2,894)	0,6890
	PTC <45 Mujer	**PTC <45 Hombre**		
Grado 1	57 (83,8)	11 (16,2)	Referencia	
Grados 2y3	19 (82,6)	4 (17,4)	0,917 (0,261-3,221)	1,0000
Estado 1	81 (80,2)	20 (19,8)	Referencia	
Estado 2	7 (87,5)	1 (12,5)	1,728 (0,201-14,864)	1,0000
	PTC ≥45 Mujer	**PTC ≥45 Hombre**		
Grado 1	75 (83,3)	15 (16,7)	Referencia	
Grados 2y3	35 (92,1)	3 (7,9)	2,333 (0,634-8,587)	0,3060
Estados 1y2	87 (88,8)	11 (11,2)	Referencia	
Estados 3y4	44 (78,6)	12 (21,4)	0,464 (0,19-1,135)	0,1410

Anexo U. Equilibrio de Hardy Weinberg para todos los SNPs

SNP	Muestra	Alelo 1	Alelo 2	GENO	O(HET)	E(HET)	Valor P
rs966423	Todos	G	A	344/390/92	0,472	0,454	0,2505
rs966423	**Caso**	**G**	**A**	**84/148/19**	**0,59**	**0,467**	**$2,64E^{-05}$**
rs966423	Control	G	A	260/242/73	0,421	0,447	0,1622
rs2439302	Todos	G	C	213/412/198	0,501	0,5	1,0000
rs2439302	Caso	G	C	69/132/50	0,526	0,497	0,4458
rs2439302	Control	G	C	144/280/148	0,49	0,5	0,6164
rs6983267	Todos	G	T	288/538/206	0,521	0,497	0,1178
rs6983267	Caso	G	T	80/130/41	0,518	0,488	0,3668
rs6983267	Control	G	T	208/408/165	0,522	0,499	0,1965
rs965513	Todos	A	G	100/450/480	0,437	0,432	0,7729
rs965513	Caso	A	G	37/112/102	0,446	0,467	0,4998
rs965513	Control	A	G	63/338/378	0,434	0,418	0,3458
rs1867277	Todos	A	G	115/379/303	0,476	0,472	0,8808
rs1867277	Caso	A	G	52/118/81	0,47	0,493	0,4454
rs1867277	Control	A	G	63/261/222	0,478	0,458	0,3494
rs944289	Todos	T	C	132/503/393	0,489	0,468	0,1613
rs944289	Caso	T	C	37/139/75	0,554	0,489	0,03945
rs944289	Control	T	C	95/364/318	0,469	0,459	0,5848
rs116909374	Todos	A	G	0/37/994	0,036	0,035	1,0000
rs116909374	Caso	A	G	0/14/237	0,056	0,054	1,0000
rs116909374	Control	A	G	0/23/757	0,029	0,029	1,0000

Anexo V. Corrección por origen geográfico.

SNP	Caso n (frec)	Control n (frec)	OR (IC 95%)	P(R)	Q	I
rs2439302 (8p12)	232 (0,462)	576 (0,503)	Referencia			
	270 (0,538)	568 (0,497)	1,197 (0,956-1,456)	0,0552	0,4589	0
rs6983267 (8q24)	212 (0,422)	738 (0,472)	Referencia			
	290 (0,578)	824 (0,528)	1,217 (1-1,501)	0,0296	0,9551	0
rs965513 (9q22,33)	316 (0,629)	1094 (0,702)	Referencia			
	186 (0,371)	464 (0,298)	1,406 (1,124-1,714)	0,0010	0,6286	0
rs1867277 (9q22,23)	280 (0,558)	705 (0,646)	Referencia			
	222 (0,442)	387 (0,354)	1,43 (1,164-1,792)	0,0007	0,7132	0
rs944289 (14q13,3)	289 (0,576)	1000 (0,644)	Referencia			
	213 (0,424)	554 (0,356)	1,316 (1,084-1,633)	0,0039	0,6983	0
rs116909374 (14q13,3)	488 (0,972)	1537 (0,985)	Referencia			
	14 (0,028)	23 (0,015)	1,792 (0,979-3,755)	0,0394	0,4323	0

Anexo W. Riesgo de padecer carcinoma papilar o folicular de tiroides.

	Frecuencia alelo de riesgo		OR (95%)	Valor P
	Casos	**Controles**		
rs2439302				
PTC	0,5383	0,4965	1,182 (0,953-1,466)	0,127
PTC mujer	0,5415	0,4981	1,19 (0,941-1,504)	0,1455
FTC	0,5312	0,4965	1,149 (0,569-2,323)	0,6982
rs6983267				
PTC	0,5702	0,5275	1,188 (0,965-1,463)	0,1037
PTC mujer	0,5622	0,5284	1,146 (0,913-1,44)	0,2404
FTC	0,6875	0,5275	1,97 (0,927-4,188)	0,0727
rs965513				
PTC	0,3809	0,2978	1,45 (1,169-1,799)	0,0007
PTC mujer	0,3886	0,3091	1,42 (1,123-1,797)	0,0034
FTC	0,2188	0,2978	0,6602 (0,284-1,537)	0,3322
rs1867277				
PTC	0,4511	0,3544	1,497 (1,201-1,865)	0,0003
PTC mujer	0,4689	0,3543	1,609 (1,268-2,043)	0,00009
FTC	0,3125	0,3544	0,828 (0,388-1,767)	0,625
rs944289				
PTC	0,4234	0,3565	1,325 (1,074-1,636)	0,0086
PTC mujer	0,4145	0,3523	1,301 (1,032-1,641)	0,0255
FTC	0,4375	0,3565	1,404 (0,693-2,844)	0,3441
rs116909374				
PTC	0,02553	0,01474	1,751 (0,865-3,546)	0,1152
PTC mujer	0,02073	0,0157	1,327 (0,583-3,021)	0,4984
FTC	0,0625	0,01474	4,455 (1,005-19,76)	0,0315

Anexo X. Casos tipificados para la mutación V600E de BRAF según la presencia de antecedentes familiares de cáncer en primer y segundo grado (A) y los 6 polimorfismos de riesgo (B).

A)

	V600E n (%)	SILVESTRE n (%)	OR (IC 95%)	Valor P
Sin antecedentes	43 (69,4)	34 (70,8)	Referencia	
Con antecedentes	19 (30,6)	14 (29,2)	1,073 (0,471-2,446)	1
Primer y segundo grado	7 (11,3)	1 (2,1)	NA	NA
Solo en Primer grado	3 (4,8)	5 (10,4)	1,318 (0,435-3,989)	0,841
Solo de segundo grado	9 (14,5)	8 (16,7)	0,89 (0,31-2,55)	1

B)

SNP	OR (IC 95%)	Valor P	OR (IC 95%)	Valor P	Valor P Intracasos
	Silvestre vs Control		V600E vs Control		
rs2439302	1,383 (0,869-2,199)	0,0947	0,921 (0,635-1,334)	0,3308	0,0908
rs6983267	1,287 (0,811-2,043)	0,1413	0,987 (0,684-1,423)	0,4715	0,1810
rs965513	1,555 (1,000-2,479)	0,0508	1,165 (0,789-1,719)	0,2214	0,1673
rs1867277	0,964 (0,595-1,563)	0,4416	1,360 (0,933-1,982)	0,0544	0,1251
rs944289	1,324 (0,835-2,099)	0,1159	1,261 (0,8689-1,83)	0,1107	0,4343
rs116909374	0,868 (0,116-6,511)	0,4452	1,657 (0,491-5,597)	0,2057	0,2861