

Aplicación de las oncoproteínas p21RAS, p53, Bcl-2 y del factor de proliferación celular Ki-67 (MIB-1) en el diagnóstico y pronóstico de tumores tiroideos

Value of the expression of p21RAS, p53, Bcl-2 oncoproteins and Ki-67 (MIB-1) antigen of cellular proliferation in the diagnosis and prognosis of thyroid tumours

E. Almudévar¹, A. Puras¹, C. De Miguel¹, E. Urbiola¹, A. López-Cousillas¹, E. Menéndez⁴, J. García de Jalón², I. Romeo³

RESUMEN

Introducción. El tiroides es un buen órgano para estudiar las alteraciones genéticas en el desarrollo y progresión tumoral, siendo de interés estudiar marcadores de proliferación celular y oncogenes.

Material y métodos. Se han estudiado 36 adenomas, 58 carcinomas papilares, 32 carcinomas foliculares, 2 carcinomas anaplásicos y 12 carcinomas medulares. Se han estudiado factores clínicos e histológicos relacionados con el pronóstico y mediante inmunohistoquímica se ha estudiado Ki-67(MIB-1), p53, Bcl-2 y p21 RAS.

Resultados. Se obtienen diferencias estadísticas en el índice proliferativo Ki-67 (MIB-1) entre adenomas y carcinomas foliculares. La proteína p53 no se expresa en adenomas y lo hace en aquellos carcinomas con mayor dediferenciación histológica. También se correlaciona con la edad avanzada, el mayor tamaño y progresión tumoral. La expresión de Bcl-2 es alta en tejido tiroideo normal y en adenomas, se conserva en carcinomas y disminuye en relación a la dediferenciación histológica, perdiéndose totalmente en los carcinomas anaplásicos. En carcinomas medulares su pérdida se correlaciona con la mortalidad. La expresión intensa de la proteína p21 RAS se asocia significativamente en carcinomas papilares con estadios clínicos avanzados.

Conclusiones. Las diferencias en la actividad proliferativa entre adenomas y carcinomas foliculares puede ayudar al diagnóstico diferencial. La expresión de p53 y la pérdida de expresión de Bcl-2 se correlacionan con el proceso de dediferenciación histológica. La sobreexpresión de p21 RAS en carcinomas papilares se relaciona con la progresión tumoral.

Palabras Clave: Tiroides. Ki-67(MIB-1). p53. Bcl-2. p21RAS.

ABSTRACT

Introduction. The thyroid gland is a good organ for the study of genetic alterations in tumoural development and progress. The study of oncogenes and antigens of cellular proliferation is of interest.

Material and methods. Thirty six cases of thyroid adenomas, 58 papillary carcinomas, 32 follicular carcinomas, 2 anaplastic carcinomas and 12 medullary carcinomas were selected. Clinical and histological prognostic factors were studied and an immunohistochemical study with Ki-67 (MIB-1), p53, Bcl-2 and p21 RAS antibodies was performed.

Results. The proliferative rate Ki-67 (MIB-1) showed statistical differences in adenomas and follicular carcinomas. The p53 protein did not appear in adenomas, but was shown in those carcinomas with bigger histological dedifferentiation. A relationship was also established with greater age, larger size and progression of the tumour. The Bcl-2 protein was high in the normal thyroid, in the adenomas and in the carcinomas, decreasing in correlation with histological dedifferentiation, and totally disappearing in the anaplastic carcinomas. In medullary carcinomas its disappearance was correlated with mortality. The intense expression of the p21 RAS protein in papillary carcinomas is statistically correlated with advanced clinical studies.

Conclusions. The differences in the proliferative rate between adenomas and follicular carcinomas can be of help in differential diagnosis. The p53 manifestation and the loss of the Bcl-2 expression are correlated with the histological dedifferentiation process. An intense manifestation of p21 RAS in papillary carcinomas is correlated with tumoural progression.

Key words: Thyroid. Ki-67(MIB-1). p53. Bcl-2. p21RAS

ANALES Sis San Navarra 2000; 23 (2): 247-255.

1. Servicio de Anatomía Patológica.
2. Servicio de Medicina Preventiva.
3. Servicio de Cirugía General. Hospital Virgen del Camino.
4. Servicio de Endocrinología. Hospital de Navarra.

Trabajo realizado con una Beca de Investigación concedida por el Departamento de Salud del Gobierno de Navarra (Nº 2229/96).

Aceptado para su publicación el 6 de abril de 2000.

Correspondencia

Elena Almudévar Bercero
Servicio de Anatomía Patológica
Hospital Virgen del Camino
31008 Pamplona
Tfno. 948 429965 / 429419
Fax 948 429978

INTRODUCCIÓN

El estudio del potencial maligno de los tumores endocrinos en ausencia de invasión o metástasis es frecuentemente un problema para el patólogo. Esto ocurre con los tumores de tiroides donde a veces es difícil mediante el estudio de los parámetros histológicos llegar a un diagnóstico de benignidad o malignidad, sobre todo en áreas de particular dificultad diagnóstica como el carcinoma folicular mínimamente invasivo frente al adenoma folicular.

La estimación de la actividad proliferativa ha emergido para lograr una mayor aproximación en la determinación de la agresividad, progresión y potencial metastásico de gran variedad de neoplasias. Dentro de este campo contamos con el estudio de la actividad proliferativa mediante el uso de anticuerpos monoclonales para varios componentes de las células proliferantes. Para este fin el Ki-67 es un anticuerpo monoclonal que reacciona con un antígeno presente dentro del núcleo de todas las células proliferantes, pero está ausente en el núcleo de las células quiescentes¹. El MIB-1 es un análogo del Ki-67 pero resistente al formol.

En el tiroides existen dos grandes grupos de tumores: los tumores de células foliculares y los de células parafoliculares o de células C. De los primeros hay que diferenciar aquéllos que son de bajo grado (adenomas foliculares, carcinomas papilares y foliculares), de los que muestran una marcada agresividad biológica (carcinomas pobremente diferenciados y anaplásicos). Por otra parte, las células parafoliculares dan lugar al carcinoma medular. Aunque muchas veces los carcinomas pobremente diferenciados se originan de "novo", en otras ocasiones proceden de la dediferenciación de tumores de más bajo grado como carcinomas papilares o foliculares, adenomas foliculares o incluso bocios. Por esto, los tumores tiroideos de células foliculares son un buen modelo para estudiar las alteraciones moleculares relacionadas con la progresión tumoral. Los genes implicados en el proceso de carcinogénesis tiroidea son muchos y en este trabajo vamos a estudiar la expresión de las oncoproteínas p53, Bcl-2 y p21 RAS.

El gen p53 es un gen supresor, el cual codifica una proteína de 53 Kd que interviene en el control del ciclo celular y de la replicación y reparación del DNA². Las proteínas p53 mutadas se acumulan en el núcleo de células tumorales, siendo fácilmente identificables mediante técnicas inmunohistoquímicas utilizando anticuerpos monoclonales anti-p53.

El gen bcl-2 es uno de los genes implicados en el control genético de la apoptosis junto con p53 y c-myc. Codifica una proteína de 25 Kd localizada en las membranas mitocondriales, retículo endoplásmico y envoltura nuclear, la cual puede ser mostrada inmunohistoquímicamente en tejidos parafinados³. La expresión excesiva de la proteína codificada por el oncogén bcl-2 provoca la inhibición de la apoptosis, aumentando la probabilidad de generación de células cancerosas.

Los tres miembros de la familia de genes ras (H-ras, K-ras, N-ras), codifican proteínas con pesos moleculares de 21000 daltons (p21), las cuales están estrechamente relacionadas unas con otras, tanto estructuralmente como funcionalmente. La proteína Ras participa en la transducción de la señal proliferativa inducida por los factores de crecimiento. Los genes ras están implicados en el control del crecimiento y de la diferenciación celular⁴.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han recogido un total de 140 tumores de tiroides procedentes del archivo del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Virgen del Camino de Pamplona. Estos casos corresponden a: 36 adenomas, 58 carcinomas papilares, 32 carcinomas foliculares, 2 carcinomas anaplásicos y 12 carcinomas medulares. En el estudio clínico, se evaluaron el sexo, edad, hiperplasia tiroidea asociada y tratamiento quirúrgico (tiroidectomía total o hemitiroidectomía). En el estudio histológico se evaluaron el tamaño del tumor, la multicentricidad, la hiperplasia nodular, los signos histológicos de tiroiditis, la presencia o no de cápsula, y la valoración del patrón histológico y de la variante dentro de cada tipo de tumor, siguiendo los criterios descritos en la clasificación de Rosai⁵.

El estudio inmunohistoquímico se realizó utilizando el método enzimático de la avidina-biotina. Como trazador enzimático se utilizó la peroxidasa con revelado con diaminobencidina (DAB). Como control positivo se utilizó un carcinoma anaplásico para la p53 y para Ki-67. En el caso de Bcl-2 se utilizó como control positivo el tejido tiroideo normal. En el caso de p21 RAS se tomó como control positivo una metástasis de carcinoma papilar de tiroides en un ganglio linfático. Como control negativo se realizó control interno. Se utilizaron los siguientes anticuerpos primarios: Anticuerpo monoclonal Ki-67 (MIB-1) (Immunotech); Anticuerpo monoclonal anti p53 (DO7) (Novocastra); Anticuerpo monoclonal Bcl-2 oncoprotein (Biogenex); Anticuerpo monoclonal p21RAS (pan RAS; Ab-1) (Oncogene Science).

La valoración de las inmunotinciones se realizó de la siguiente forma: la valoración del Ki-67 (MIB-1) se realizó siguiendo el método realizado en el trabajo de Katoh⁶. La inmunotinción fue de tipo nuclear y se calculó el porcentaje, contando el número de núcleos teñidos por cien células, valorando entre 500 y 1.000 células. Se seleccionaron las áreas donde la tinción fue mayor. La tinción de la p53 fue nuclear y se valoró el porcentaje de células teñidas, según los criterios de los trabajos de Pilotti⁷ y Dobashi⁸, de la siguiente forma: 0: tinción de 0 a 5% de las células. 1: tinción de 5 a 10% de las células. 2: tinción de 10 a 50% de las células. 3: tinción del 50 a 100% de las células. Además, se valoró si la tinción fue difusa o localizada en una zona del tumor. Para la valoración estadística se consideró negativo el valor 0 y positivos

los valores 1, 2 y 3. No se tuvo en cuenta si la tinción fue difusa o regional. La inmunotinción para Bcl-2 fue de tipo citoplasmático y granular, con afectación difusa del tumor. Se valoró la positividad y negatividad tomando como control el tejido tiroideo no tumoral periférico, que habitualmente es positivo⁹. La inmunotinción para p21 RAS fue citoplasmática y de membrana. Se valoró la intensidad de la tinción de la siguiente forma⁹: Intensidad -: Tinción nula. Intensidad +/-: Tinción dudosa. Intensidad +: Tinción leve. Intensidad ++: Tinción moderada. Intensidad +++ : Tinción intensa.

Los resultados fueron analizados mediante el test de Chi-cuadrado, con corrección de Yates. Para las tablas 2x2 se empleó el test exacto de Fisher. Para la comparación de medias se utilizó el método de análisis de la varianza de Kruskal-Wallis. Se consideró estadísticamente significativos valores de p inferiores a 0,05 (límite de confianza del 95%).

RESULTADOS

En los adenomas el índice de proliferación celular Ki-67 varió desde 0,1 al 2% con una media de 0,34% (Tabla 1). Los casos que mostraron ausencia total de expresión no fueron incluidos en la media. La inmunoexpresión para la proteína p53 fue negativa en todos los casos. Todos mostraron inmunoexpresión para Bcl-2. La inmunoexpresión de p21RAS fue dudosa en 10 casos, leve en 17 y moderada en 9 casos. Ningún caso mostró expresión de forma intensa (Tabla 2). La evolución fue buena en todos los casos.

Tabla 1. Adenomas y carcinomas de tiroides. Índice de células positivas Ki-67 (MIB-1).

| Diagnóstico histológico | Nº de casos | Índice de células positivas Ki-67 (MIB-1)% |
|-------------------------|-------------|--|
| Adenomas | 36 | 0,34 |
| Carcinoma Folicular | 31 | 2,90* |
| Carcinoma Insular | 3 | 10 |
| Carcinoma Papilar | 56 | 2,50** |
| Carcinoma Anaplásico | 2 | 27,5 |
| Carcinoma Medular | 12 | 1,57 |

*Diferencia significativa con los adenomas (p<0,00001).

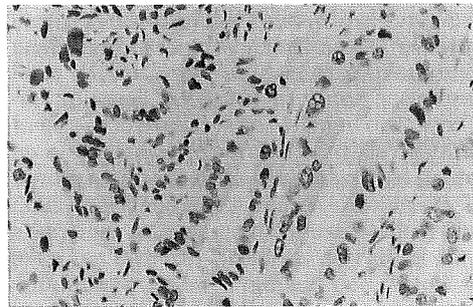
**Diferencia significativa con los adenomas (p<0,001).

Tabla 2. Adenomas y carcinomas de tiroides. Casos positivos y negativos.

| Diagnóstico histológico | Nº de casos | Casos positivos/casos negativos | | |
|-------------------------|-------------|---------------------------------|---------|--------|
| | | P53 | Bcl-2 | P21RAS |
| Adenomas | 36 | 0/36* | 36/36** | 26/36 |
| Carcinoma Papilar | 58 | 14/58 | 53/58 | 58/58 |
| Carcinoma foliculares | 32 | 9/32 | 27/32 | 32/32 |
| Carcinomas Anaplásicos | 2 | 2/2 | 0/2 | 2/2 |
| Carcinomas Medulares | 12 | 1/12 | 7/12 | 12/12 |

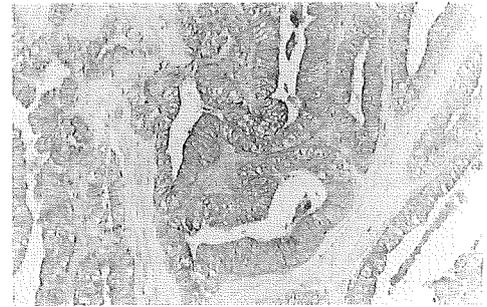
*Diferencia significativa con los Carcinomas ($p < 0,01$).**Diferencia significativa con los Carcinomas ($p < 0,00001$).

En los carcinomas papilares el índice de proliferación celular varió desde un 0,2% hasta un 10% (Tabla 1). El índice medio fue de 2,50%. Agrupando las variantes clásicos y papilares foliculares su índice fue de 1,82%. Los de los esclerosantes difusos fue de 2,5%, células altas 3%, células columnares 6,75% y en dos carcinomas papilares con áreas insulares fue del 10%. La inmunexpresión para p53 fue positiva en 14 casos (24%), siendo en todos de forma focal y localizada en las áreas de mayor patrón infiltrativo y relacionándose más con las variantes histológicas de tipo esclerosante difuso, células altas (Fig.1) y células columnares. La inmunexpresión para Bcl-2 fue positiva en 53 casos, siendo negativa en un carcinoma papilar clásico, 2 de células columnares, un esclerosante difuso y un carcinoma papilar con áreas insulares. La inmunexpresión de p21RAS fue leve en 7 casos, moderada en 35 e

**Figura 1.** Imagen de un carcinoma papilar de tiroides, variante histológica de células altas, el cual muestra expresión nuclear de la proteína p53 (x400).

intensa en 16 casos (Fig.2) (Tabla 2). De estos últimos 14 mostraron un estadio clínico superior a I (II,III ó IV). El estadio clínico fue I en 38 casos; estadio II en 9 casos; estadio III en 7 y estadio IV en 4 casos. La supervivencia fue del 98,2%, con un seguimiento medio de 74 meses.

En los carcinomas foliculares el índice de proliferación celular Ki-67 mostró una media de 2,9% en los carcinomas foliculares mínimamente invasivos (Fig. 3) y fue del 10% en un carcinoma folicular que mostraba áreas de carcinoma insular y que fue ampliamente invasivo (Tabla 1). La inmunexpresión para p53 fue positiva en 9 casos (28%) (Fig. 4). El Bcl-2 fue positivo en 27 casos (84,4%) (Fig.5). El p21 RAS mostró inmunotinción en 32 casos siendo de intensidad leve en 9 casos y moderada en 23 (Tabla 2). Ningún caso mostró expresión intensa así como tampoco metástasis ganglionares ni a distancia y la supervi-

**Figura 2.** Imagen de un carcinoma papilar de tiroides, variante histológica columnar, con expresión intensa citoplasmática y de membrana de la proteína p21Ras (x200).

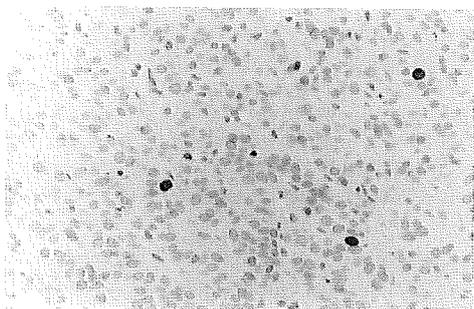


Figura 3. Carcinoma folicular mínimamente invasivo con moderada inmunopresión nuclear del antígeno Ki-67(MIB-1) (5%) (x400).

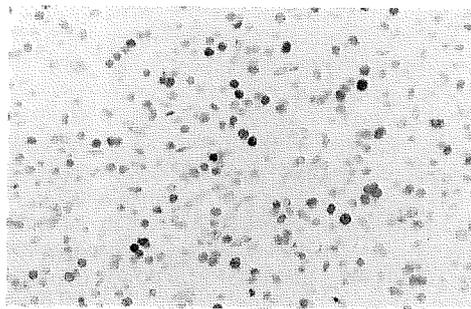


Figura 4. Carcinoma folicular con expresión nuclear de la proteína p53 (x200).

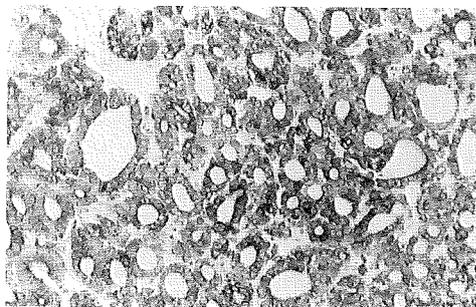


Figura 5. Expresión citoplasmática de la proteína Bcl-2 en un carcinoma folicular de tiroides (x100).

vencia fue del 100% con un periodo de seguimiento medio de 65 meses.

En los carcinomas anaplásicos el índice de proliferación celular Ki-67 fue 25% y 30% (Tabla 1) (Fig. 6). Su alto índice se correlaciona con su fatal pronóstico. La expresión de la proteína p53 fue positiva en un caso (Fig. 7) y lo fue de forma intensa y difusa. La expresión de Bcl-2 fue negativa en los 2 casos (Fig. 8). El p21RAS se expresó en los dos casos haciéndolo de forma intensa (Tabla 2). Los dos pacientes fallecieron de la enfermedad en 6 meses después del diagnóstico.

En los carcinomas medulares el índice de proliferación medio Ki-67 fue de 1,57% (Tabla 1). La inmunopresión de la p53 fue positiva únicamente en un caso de los 12. La inmunopresión para el Bcl-2 fue positiva en 7 casos de los 12 (Fig. 9); los cinco casos que no la expresaron evolucionaron hacia muerte por enfermedad. La inmunopresión para p21 RAS fue positiva en los 12 casos, 2 de forma leve, 8 moderada y 2 intensa (Tabla 2). En el seguimiento en un periodo medio de 102 meses fallecieron por la enfermedad el 50 % de los pacientes.

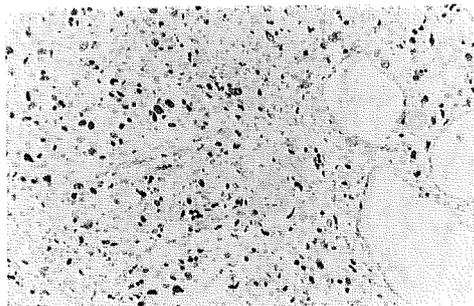


Figura 6. Carcinoma anaplásico de tiroides en continuidad con tejido tiroideo normal. Alta expresión nuclear del antígeno Ki-67(MIB-1) en las células tumorales (30%) (x400).

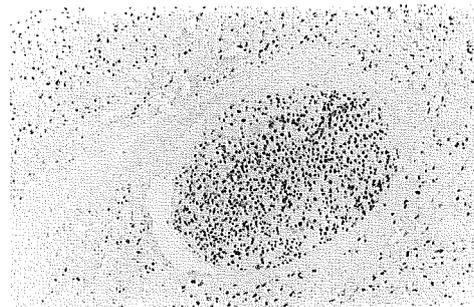


Figura 7. Imagen histológica de invasión vascular en un carcinoma anaplásico de tiroides, el cual muestra expresión nuclear de la proteína p53 (x200).

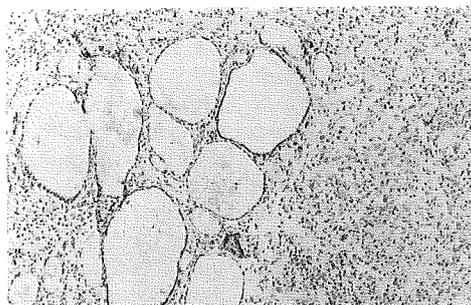


Figura 8. Expresión citoplasmática de la proteína Bcl-2 en las células de los folículos tiroideos atrapados por un carcinoma anaplásico donde las células tumorales han perdido totalmente su expresión (x200).

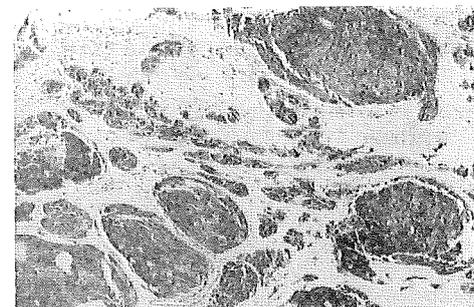


Figura 9. Expresión citoplasmática intensa de la proteína Bcl-2 en un carcinoma medular de tiroides (x200).

DISCUSIÓN

De los resultados obtenidos en el presente trabajo, se puede decir que el mayor índice proliferativo lo presentaron los carcinomas indiferenciados (27,5%), y siguieron los carcinomas pobremente diferenciados (10%), los carcinomas foliculares (2,90%), los carcinomas papilares (2,50%), y los carcinomas medulares (1,57%). Los índices más bajos fueron mostrados por los adenomas (0,34%). Existieron diferencias significativas entre los adenomas y los carcinomas tanto papilares como foliculares (Tabla 1). Un carcinoma folicular que mostraba áreas insulares y que fue ampliamente invasivo, mostró mayor índice de proliferación (10%) que el grupo de los carcinomas mínimamente invasivos (2,90%).

Estos resultados coinciden por los obtenidos por Katoh⁶. Este autor obtuvo diferencias significativas entre carcinomas y adenomas normo y macrofoliculares, pero no con los adenomas sólido-trabeculares. El hecho de que las diferencias en nuestro trabajo hayan resultado significativas, podrían también atribuirse a que el patrón de la mayoría de nuestros adenomas fue de tipo folicular. Dentro de los carcinomas papilares (CP) la media global de los índices proliferativos es de 2,5%, pero si separamos los carcinomas papilares por variantes histológicas existen diferencias. El grupo de CP clásicos y papilar folicular, que tuvieron un comportamiento clínico menos agresivo (estadio I en el 87,8%), muestran un índice de proliferación de

1,87%, siendo menor que el de CP esclerosante difuso (2,5%), células altas (3%) y células columnares (6,75%). El grupo de CP formado por estas últimas variantes dieron metástasis ganglionares e invasión extratiroidea con una frecuencia mayor de forma estadísticamente significativamente, respecto a las variantes clásica y papilar folicular.

En nuestro trabajo, como en la mayoría de los trabajos previos⁸, se observa que la diferencia en la expresión de p53 entre los adenomas y los carcinomas de tiroides es estadísticamente significativa ($p < 0,01$) (Tabla 2). En el grupo de 58 carcinomas papilares la positividad para p53 es ligeramente superior a otras series (24%). Esto se puede explicar porque dentro de estos carcinomas están incluidas formas de carcinoma papilar menos diferenciadas como son los carcinomas columnares y los carcinomas de células altas. Además, separando los CP en grupos de variantes histológicas, se observó que la expresión de p53 entre los CP clásicos y papilar folicular fue nula frente a una expresión en el grupo de CP esclerosante difuso, células altas y columnares del 82,2%, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,001$). Dentro de los CP en nuestro trabajo, la expresión de p53 se correlacionó significativamente con otros factores pronósticos, entre ellos: con una mayor tamaño tumoral (2,47cm) frente a 1,6 cm para los CP que no expresaron p53 ($p < 0,01$). También se correlacionó significativamente con una edad media superior (53,5 años) con respecto a los CP que no expresaron p53 (39,5 años) ($p < 0,05$). Estos resultados son similares a los obtenidos por Gerasimov en 1995¹⁰, el cual estudió la expresión nuclear de p53 en 55 carcinomas papilares y encontró asociación con factores de mal pronóstico como son la edad superior a 50 años y la aneuploidia nuclear. Otras asociaciones encontradas en nuestro trabajo con la inmunoreactividad para p53 fueron la incidencia significativamente aumentada de metástasis ganglionares, a distancia y de invasión extratiroidea ($p < 0,000001$). Estos hallazgos son comparables a los de Sapi en 1995¹¹, el cual encontró significación estadística en la expresión de p53 que fue del 45,5% en car-

cinomas con metástasis respecto al 14,2% de positividad en los carcinomas que no habían dado metástasis. En el grupo de carcinomas foliculares el porcentaje de expresión de p53 en nuestro trabajo, fue del 28%. Se ha encontrado asociación estadísticamente significativa entre la expresión de la proteína p53 en carcinomas foliculares, con el patrón de crecimiento de tipo sólido trabecular frente a los que mostraron un patrón de crecimiento folicular ($p < 0,001$). Esto se relaciona con lo que ocurre en los trabajos de Soares¹² y Dobashi⁸, los cuales muestran mayor positividad para p53 en los carcinomas con patrón sólido-trabecular que el encontrado en los carcinomas de patrón folicular. Igualmente de acuerdo con trabajos previos^{8,12}, en nuestro trabajo, la mayor expresión de p53 se dio en carcinomas indiferenciados (50%).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo en cuanto a la expresión de la proteína Bcl-2 en tumores de tiroides se correlacionan en gran medida con los mostrados hasta ahora en la literatura^{7,13}. La proteína Bcl-2 ha mostrado siempre expresión en el tejido tiroideo normal peritumoral. En los tumores la expresión de la proteína fue citoplasmática y heterogénea mostrando intensidades de leves a moderadas. La expresión ha sido del 100% en el grupo de los adenomas. En el grupo de los carcinomas la expresión ha sido positiva en el 85,4% en los carcinomas foliculares, en el 91,4% de los carcinomas papilares y en el 58,4% de los carcinomas medulares. No ha habido expresión en ninguno de los carcinomas indiferenciados. Existen pues diferencias en la expresión de Bcl-2 entre adenomas y carcinomas ($p < 0,00001$) (Tabla 2). Estos resultados están en correlación con los mostrados por Pilotti y Pollina^{7,13}. Dentro de grupo de carcinomas papilares, los de tipo histológico clásico y papilar-folicular mostraron ausencia de expresión de Bcl-2 en el 2,4% siendo esta del 23,4% en los grupos histológicos que mostraron una mayor agresividad biológica: células altas y columnares y esclerosante difuso. Las diferencias fueron estadísticamente significativas ($p < 0,05$). El análisis de la expresión de Bcl-2 ha resultado negativo en el 7,1% del grupo de carcinomas folicu-

lares que mostraron un patrón de crecimiento de tipo folicular, siendo superior la negatividad en la expresión de Bcl-2 en el grupo de carcinomas foliculares que mostraron un patrón de crecimiento de tipo sólido-trabecular, aunque las diferencias no han sido estadísticamente significativas. Los resultados presentes, en cuanto a los carcinomas medulares, están de acuerdo a los descritos por Viale¹⁴. La asociación entre ausencia de expresión para Bcl-2 en carcinomas medulares de tiroides y mortalidad por enfermedad ha sido estadísticamente significativa ($p < 0,001$). Por ello, parece ser que este marcador podría ser de importancia como factor pronóstico en el carcinoma medular.

La expresión de p21 RAS en tumores de tiroides en los resultados de nuestro trabajo varió de dudosa (-/+) a leve (+), moderada (++) e intensa (+++) entre los diversos grupos de tumores de nuestra serie. No ha habido diferencias significativas, aunque sí se observa una mayor expresión fundamentalmente en carcinomas papilares, seguida de los carcinomas foliculares respecto a los adenomas (Tabla 2). En relación con nuestros resultados, p21 RAS resulta de mayor interés en los carcinomas papilares, donde la expresión intensa de dicha proteína se han asociado significativamente, tanto con carcinomas papilares con menor grado de diferenciación, como con estadios clínicos más avanzados ($p < 0,0000001$). Estos resultados serían comparables a los obtenidos por Basolo en carcinomas papilares de tiroides¹⁵. A nivel de otros órganos estos resultados se pueden comparar con los obtenidos en carcinomas gástricos y en carcinomas de cervix, donde la sobreexpresión de p21RAS se asoció a estadios clínicos más avanzados.

Dado que existen diferencias significativas entre los índices de proliferación entre los adenomas y los carcinomas foliculares mínimamente invasivos, nos podemos apoyar en este dato para el diagnóstico, siempre sin olvidarnos de los criterios histológicos.

Las diferencias en la expresión de la proteína p53 entre los adenomas y carcinomas de tiroides son estadísticamente

significativas. Su expresión es alta en carcinomas indiferenciados, hallándose más baja en carcinomas foliculares y papilares, estando ausente en adenomas, lo cual sugiere que las alteraciones de este gen se hallan implicadas en la progresión tumoral del cáncer de tiroides.

Dentro de los carcinomas papilares la expresión de p53 se correlacionó de forma estadísticamente significativa con factores conocidos de mal pronóstico como fueron el mayor tamaño tumoral, una mayor edad de presentación, una mayor incidencia de metástasis ganglionares, a distancia y de invasión extratiroidea; y con las siguientes variantes del carcinoma papilar: esclerosante difuso, células altas y columnares.

En los carcinomas papilares, se correlacionó significativamente una mayor actividad proliferativa Ki-67(MIB-1) con la expresión de p53, lo cual se relaciona con el hecho conocido de que las alteraciones del gen p53 incrementan la capacidad de proliferación celular.

Los carcinomas foliculares que mostraron un patrón de crecimiento sólido-trabecular expresaron p53 de forma significativamente superior a los carcinomas foliculares con patrón de crecimiento folicular, lo cual sugiere que las alteraciones de p53, se correlacionan con el proceso de pérdida de diferenciación histológica.

La expresión de la proteína Bcl-2 es alta en el tejido tiroideo normal y en los adenomas. Su expresión, aunque se conserva en los carcinomas, empieza a disminuir especialmente en los casos que se van acompañando de pérdida de caracteres de diferenciación, tanto en carcinomas papilares como en foliculares, produciéndose la pérdida total de su expresión en los carcinomas indiferenciados.

En los carcinomas medulares hubo significación estadística entre la pérdida de expresión de la proteína Bcl-2 y la mortalidad por enfermedad.

La sobreexpresión de p21 RAS se asoció de forma significativamente estadística a estadios clínicos más avanzados, lo cual sugiere que esta proteína puede ser útil como marcador de progresión tumoral más que de carcinogénesis.

BIBLIOGRAFÍA

1. GERDES J, LEMKE H, BAISCH H, WACKER H, SCHWAB U, STEIN H. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol* 1984; 133: 1710-1715.
2. MUÑOZ A. Cáncer, Genes y Nuevas terapias. Editorial Hélice 1997.
3. FARROW SN, BROWN R. New members of the Bcl-2 family and their protein patterns. *Curr Opin Genet Dev* 1996; 45-49.
4. BARBACID M. 1987. Ras genes. *Annu Rev Biochem* 1987; 56: 779-827.
5. ROSAI J, CARCANGIU ML, DELELLIS RA. Tumors of the thyroid glands. *Atlas of Tumor Pathology AFIP* 1992.
6. KATO H, BRAY C, SUZUKI K, KOMIYAMA A, HEMMI A, KAWAOI A et al. Growth activity in hyperplastic and neoplastic human thyroid determined by an immunohistochemical staining procedure using monoclonal antibody MIB-1. *Human Pathol* 1995; 26: 139-146.
7. PILOTTI S, COLLINI P, DELBO R, CATTORETTI G, PIEROTTI MA, RILKE. A novel panel of antibodies that segregates immunocytochemically poorly differentiated carcinoma from undifferentiated carcinoma of the thyroid gland. *Am J Surg Pathol* 1994; 18: 1054-1064.
8. DOBASHI Y, SAKAMOTO A, SUGIMURA H, MERNYEI M, MORI M, OYAMA T, MACHINAMI R. Overexpression of p53 as a possible prognostic factor in human thyroid carcinoma. *Am J Surg Pathol* 1993; 17: 375-371.
9. MIZUKAMI Y, NONOMURA A, HASHIMOTO T, TERAHATA S, MATSUBARA F, MICHIGISHI T et al. Immunohistochemical demonstration of ras p21 oncogene product in normal, benign, and malignant human thyroid tissues. *Cancer* 1988; 61: 873-880.
10. GERASIMOV G, BRONSTEIN M, TROSHINA K, ALEXANDROVA G, DEDOV Y, JENNINGS T et al. Nuclear p53 immunoreactivity in papillary thyroid cancers is associated with two established indicators of poor prognosis. *Exp Mol Pathol* 1995; 62: 52-62.
11. SAPI Z, LUKACS G, SZTAN M, PAPP J, OLAH E. Contribution of p53 gene alterations to development of metastatic forms of follicular thyroid carcinoma. *Diag Mol Pathol* 1995; 4: 256-260.
12. SOARES P, CAMESELE-TELJEIRO J, SORINHO-SIMÕES M. Immunohistochemical detection of p53 in differentiated, poorly differentiated and undifferentiated carcinomas of the thyroid. *Histopathology* 1994; 24: 205-210.
13. POLLINA L, PACINI F, FONTANINI G, VIGNATI S, BEVILACQUA G, BASOLO F. Bcl-2, p53 and proliferating cell nuclear antigen expression is related to the degree of differentiation in thyroid carcinomas. *Br J Cancer* 1996; 73: 139-143.
14. VIALE G, RONCALLI M, GRIMELIUS L, GRAZIANI D, WILLANDER E, JOHANSSON H, BERGHOLM U, COGGI G. Prognostic value of Bcl-2 immunoreactivity in medullary thyroid carcinoma. *Human Pathol* 1995; 26: 945-950.
15. BASOLO F, PINCHERA A, FUGAZZOLA L, FONTANINI G, ELISEI R, ROMEI C et al. Expression of p21 ras protein as a prognostic factor in papillary thyroid cancer. *Eur J Cancer* 1994; 30A: 171-174.