

Patogenia molecular del cáncer de tiroides

P. SANTISTEBAN

Instituto de Investigaciones Biomédicas Alberto Sols. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Universidad Autónoma de Madrid. Centro de Investigación Biomédica en Red de Cáncer (CIBERONC). Instituto de Salud Carlos III (ISCIII). Madrid

RESUMEN

El cáncer de tiroides es la neoplasia endocrina más común que da lugar a uno de los tumores sólidos más indolentes, pero que puede llegar a ser uno de los más letales. En los últimos años, los estudios de secuenciación del genoma completo del cáncer, sobre todo los derivados de *The Cancer Genome Atlas* (TCGA), han proporcionado información importantísima sobre las lesiones genéticas responsables del inicio, progresión, dediferenciación y metástasis de los carcinomas tiroideos. Se han identificado aberraciones en el ADN, en la cromatina y en el ARN de los genomas de cientos de tumores en comparación con los genomas del tejido normal del mismo tumor; analizándose además sus consecuencias epigenéticas y proteicas. De esta manera, la genómica ha proporcionado nueva información sobre el desarrollo del cáncer y su comportamiento, así como nuevas ideas sobre alteraciones genéticas y vías moleculares. Los oncogenes *BRAF* y *RAS* y las vías de señalización *MAPK* y *PI3K* son los principales actores en los tumores tiroideos. Se revisarán en este capítulo los principales avances en relación con algunos aspectos esenciales de la patogénesis molecular del cáncer de tiroides, así como los mecanismos mutacionales, el papel del ARN no codificante y la descripción de nuevos genes de susceptibilidad en la predisposición al cáncer de tiroides. El uso de la genómica y las alteraciones celulares han resultado en una nueva interpretación del desarrollo y progresión de los tumores de tiroides, sugiriéndose nuevas herramientas y oportunidades para una mayor investigación y desarrollo clínico de novedosas estrategias de tratamiento.

PALABRAS CLAVE: Cáncer de tiroides. Patogénesis molecular.

ABSTRACT

Thyroid cancer is the most common endocrine neoplasm that gives rise to one of the most indolent solid tumors, but it can be one of the most lethal. In recent years, sequencing studies of the entire cancer genome, especially those derived from The Cancer Genome Atlas (TCGA), have provided crucial information on the genetic lesions responsible for the onset, progression, dedifferentiation, and metastasis of thyroid carcinomas. It has been identified, aberrations in the DNA, chromatin and RNA of the genomes of hundreds of tumors, relative to matched normal cellular genomes and have analyzed their epigenetic and protein consequences. In this way, genomics has provided new information on the development of cancer and its behavior, as well as new ideas on genetic alterations and molecular pathways. BRAF and RAS oncogenes, MAPK, and PI3K signaling pathways are major actors in thyroid tumors. In this chapter, it will be reviewed the main advances in relation to some essential aspects of the molecular pathogenesis of thyroid cancer such as mutational mechanisms, the role of non-coding RNA and the description of new susceptibility genes in predisposition to thyroid cancer. The use of genomics and cellular alterations have resulted in a new interpretation of the development and progression of thyroid tumors, suggesting new tools and opportunities for further investigation and clinical development of new treatment strategies.

KEY WORDS: Thyroid cancer. Molecular pathogenesis.

INTRODUCCIÓN

El cáncer de tiroides derivado de las células foliculares tiroideas es el más común de los tumores endocrinos malignos y su incidencia ha ido en aumento durante los últimos años (1), siendo el quinto más diagnosticado entre las mujeres y el octavo entre la población general norteamericana (2). Actualmente se diagnostica con más frecuencia que todas las leucemias juntas y que los cánceres de ovario, útero, páncreas y esófago. La mayoría de los tumores tiroideos de origen folicular son tumores bien diferenciados, y en ellos se incluyen los carcinomas papilares (PTC de su sigla en inglés *papillary thyroid carcinoma*), que es el histotipo más frecuente con una incidencia de ~80% y los carcinomas foliculares (FTC de su sigla en inglés *follicular thyroid carcinoma*), que representa el 10-15% de todos los tumores. Ambos tienen bajos índices de proliferación y de densidad mutacional y, en consecuencia, un buen pronóstico. El tratamiento actual para estos tumores es la tiroidectomía seguida de la ablación con yodo radiactivo (RAI) y supresión de la TSH, lo que permite una tasa de supervivencia del 97,7% en 5 años (3). Sin embargo, algunos de estos pacientes pierden la capacidad de captar radioyodo, lo que conduce a una refractariedad a este tratamiento y el progreso a formas muy agresivas de la enfermedad, aunque raras (1-6%). Estos son los carcinomas pobremente diferenciados (PDTC de sus sigla en inglés *poorly differentiated thyroid carcinoma*) (4) y los anaplásicos (ATC de su sigla en inglés *anaplastic thyroid carcinomas*) (5), que se caracterizan por tener una tasa muy alta de proliferación y de carga mutacional, con metástasis locales y diseminadas. Desafortunadamente, la supervivencia media es de 3,2 y 0,5 años, respectivamente, para los PDTC y ATC.

El conocimiento sobre los mecanismos moleculares implicados en el origen y progresión del cáncer de tiroides ha experimentado en los últimos años un avance considerable. A ello han contribuido de manera significativa las tecnologías de secuenciación masiva y con ello la identificación de nuevos genes y mecanismos implicados en el desarrollo y comportamiento del cáncer tiroideo. Esto ha resultado en nuevos conocimientos sobre alteraciones genéticas y vías moleculares de señalización. Especial mención y reconocimiento por su enorme importancia en el campo han sido los resultados obtenidos del *The Cancer Genome Atlas* (TCGA) que han descrito aberraciones en el ADN, modificaciones en la cromatina y en el ARN del genoma de unos 500 tumores PTC comparados con el genoma del tejido control pareado (6). También hay que tener en cuenta el avance experimentado por los estudios funcionales, que usan modelos celulares y animales, y que han contribuido a la identificación de nuevos mecanismos moleculares implicados en la patogénesis de los tumores tiroideos (7-9). En este capítulo se revisará desde una

perspectiva genómica los conocimientos más actuales de la patogénesis molecular del cáncer de tiroides, tales como mecanismos mutacionales, nuevos genes tumorales implicados en la iniciación y progresión del tumor, el papel del ARN no codificante y la existencia de nuevos genes de susceptibilidad.

CÉLULA FOLICULAR TIROIDEA DIFERENCIADA

La célula folicular tiroidea es una célula epitelial polarizada, con una membrana apical orientada hacia el interior del lumen del folículo tiroideo y una membrana basal cuya superficie está en contacto con la lámina basal que sustenta a las células (Fig. 1). La diferenciación tiroidea y la síntesis de las hormonas T_3 y T_4 están reguladas por la hormona estimulante del tiroides (TSH), secretada por la hipófisis (10). La TSH se une al TSHR, que es un receptor de siete dominios transmembrana acoplado a proteínas G y localizado en la membrana basal de la célula folicular tiroidea. Esta unión activa una cascada de señalización dependiente de cAMP que induce la transcripción de genes específicos tiroideos y promueve la proliferación de la célula (11). Para la síntesis de las hormonas tiroideas, las células captan yodo (I) activamente del torrente sanguíneo a través del importador Na^+/I^- (NIS) localizado en la membrana basolateral de la célula tiroidea –revisado en (12)–. Dentro de la célula, el yodo es transportado hasta la membrana apical, donde diferentes proteínas transportadoras como la pendrina (13) se encargan de exportarlo al lumen. Una vez allí, se incorpora a la tiroglobulina (Tg) por un proceso de oxidación, mediado por la enzima tiroperoxidasa (TPO) que usa como sustrato el H_2O_2 producido por la oxidasa dual DUOX2 (14). La Tg, una vez yodada, es almacenada en el coloide desde donde, y de manera dependiente de la TSH, es endocitada al interior de la célula y forma las denominadas “gotas de coloide”. Estas gotas de coloide son proteolizadas por enzimas lisosomales para dar lugar a las hormonas T_3 y T_4 . Durante este proceso, la enzima DEHAL es la encargada de deshalogenar los productos intermedios de la reacción cargados de yodo la monoyodotironina y diyodotironina (MIT y DIT), permitiendo su reciclaje del yodo en el interior celular (15). La T_3 y T_4 posteriormente se liberan en los capilares que irrigan los folículos a través del transportador MCT8, localizado en la membrana basal (16).

La expresión de los genes involucrados en la formación de las hormonas tiroideas está coordinada por cuatro factores de transcripción, NKX2.1, FOXE1, PAX8 y HHEX, cuya expresión conjunta solo tiene lugar en la glándula tiroidea (17). Estos factores de transcripción y sus genes diana son en última instancia los responsables del fenotipo tiroideo diferenciado y su pérdida de expresión se asocia a la malignidad de los tumores tiroideos (Fig. 1).

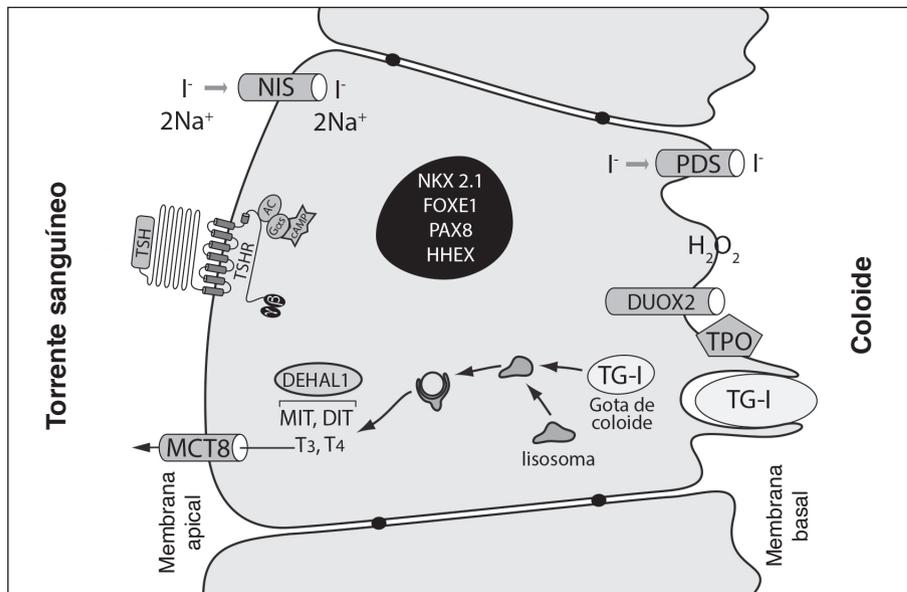


Fig. 1. Diagrama esquemático de una célula folicular tiroidea diferenciada. El yodo es concentrado desde la circulación sanguínea por las células foliculares a través de la proteína transportadora NIS (del inglés Na/I Symporter), localizada en la membrana basolateral. Posteriormente, ese yodo es transportado rápidamente a la membrana apical, donde a través de otras proteínas transportadoras como la pendrina (PDS) sale al coloide. La tiroglobulina (Tg), sintetizada en la célula se libera al coloide donde es yodada, tras la oxidación del yodo por la tiroides peroxidasa (TPO), usando agua oxigenada (H_2O_2) generada por la oxidasa dual 2 (DUOX2). La Tg yodada es endocitada, desde el coloide al interior celular, en forma de gotas de coloide que se fusionan con los lisosomas, cuyas enzimas se encargan de degradar y liberar MIT (monoyodotirosina), DIT (diyodotirosina). Los compuestos MIT y DIT son desyodados por la deshalogenasa (DEHAL) para reciclar el yodo, y la T_4 y T_3 liberadas al torrente circulatorio a través del transportador de hormonas tiroideas MCT8. En el núcleo de la célula se expresan los factores de transcripción NKX2.1, FOXE1, PAX8 y HHEX que regulan la expresión de NIS, Tg, TPO y el receptor de TSH (TSHR).

MECANISMOS MUTACIONALES

La tasa de mutación genética varía sustancialmente en los genomas de los distintos tipos tumorales y puede ir desde la mutación de una sola base hasta miles de mutaciones en los tumores más agresivos. Los altos niveles mutacionales son principalmente debidos al efecto de agentes mutagénicos potentes. En el caso del PTC existe una baja tasa mutacional como se ha demostrado en el TCGA (6). Este dato podría explicar el comportamiento clínico indolente de los PTC; sin embargo, no parece ser la única causa ya que las leucemias y los tumores pediátricos también tienen bajas tasas de mutación y no son tumores indolentes. Las mutaciones se generan en genes que controlan procesos celulares importantes como son el tiempo de replicación y reparación del ADN y las células tiroideas tienen tiempos cortos para ambos procesos. En el caso de los PTC los genes implicados en replicación y reparación se ven afectados con baja frecuencia, mientras que en los ATC la tasa mutacional es mucho mayor (18). Así, las mutaciones en el gen supresor tumoral *p53*

son frecuentes en ATC y son causa de la inestabilidad genómica de estos tumores (19).

En el caso de los PTC, se han descrito como agentes causales patógenos virales y la exposición a la radiación; sin embargo, ambas situaciones no son concluyentes en la actualidad. También existe una frecuencia relativamente alta de transición en islas CpG, aunque su significado es desconocido (20).

Es importante destacar que las alteraciones genéticas responsables de la mayoría de los subtipos de cáncer representan un número limitado (21). Estas alteraciones se dividen en *mutaciones genéticas* y *alteraciones del número de copias somáticas* (SCNA del inglés *somatic copy number alterations*) y existe una relación inversa entre ambas. De esta manera, los tumores tienen o una gran cantidad de mutaciones somáticas o un gran número de SCNA, pero nunca ambos. Los tumores PTC tienen mutaciones somáticas que afectan principalmente a componentes de al menos una de estas cuatro vías oncogénicas:

- RTK-RAS-RAF.
- PI3K-AKT-mTOR.

- Componentes de la maquinaria del ciclo celular.
- Componentes de la reparación del ADN por p53.

Tanto los PTC como los PDTC y ATC tienen una proporción relativamente alta de mutaciones somáticas y una proporción relativamente baja de SCNA (entre el 30% y 40%) (18,19). Sin embargo, aunque los SCNA sean un evento menor en cáncer de tiroides, hay que destacar que un tercio de los PTC estarían encuadrados en ese grupo que a la vez se caracterizan por no tener ni fusiones génicas ni mutaciones conductoras (*driver mutations*, en inglés) que confieran a una célula cancerígena una ventaja de crecimiento para su transformación neoplásica. En estos casos las mutaciones SCNA son oncogénicas *per se*. Esta tendencia persiste en PDTC y ATC, donde los SCNA son más frecuentes en aquellos pacientes que carecen de mutaciones conductoras. Los SCNA tienen papeles críticos en la activación de oncogenes y en la inactivación de supresores tumorales y la región del ADN afectada por los SCNA suele abarcar muchos genes. La pérdida de la región 22q afecta al 10% de los PTC y la mayoría de ellos pertenecen a la variante folicular, que está enriquecida en mutaciones *RAS*. Esta región incluye los genes supresores tumorales *NF2* y *CHEK2*. La inactivación de *NF2* aumenta la señalización de *RAS* y por tanto la intensidad de la señalización por *MAPK*, generando un fenotipo de PDTC en modelos de ratones transgénicos (22). Estos datos demuestran que los SCNA y las mutaciones somáticas cooperan para inducir la progresión tumoral.

Otra región génica afectada por SCNA es la ganancia de la región cromosómica 1q que está presente en un 15% de los PTC y se ha asociado a mutaciones *BRAF* y a un mayor riesgo de recurrencias y peor pronóstico en los PDTC. Sin embargo, no se han encontrado genes asociados a esta región.

Por último, las pérdidas de las regiones 8p y 17p junto con las ganancias de la 20q son frecuentes en los ATC y la ganancia en 20q está asociada a peor supervivencia (19). Resumiendo, los SCNA no son predominantes en cáncer de tiroides, en comparación con mutaciones somáticas, pero participan de manera esencial en la iniciación tumoral y progresión de algunos pacientes.

IDENTIFICACIÓN DE NUEVOS GENES MUTADOS EN CÁNCER DE TIROIDES

MUTACIONES EN REGIONES CODIFICANTES

La información obtenida de estudios de genómica indica que en la mayoría de los cánceres solo unos pocos genes están mutados con alta frecuencia y que la mayor parte de ellos se encuentran mutados con baja frecuencia (23). Tras el análisis realizado en el TCGA, sabemos que alrededor del 80% de los eventos mutacionales (mutaciones somáticas puntuales, y eventos

de fusión) se dan en tan solo cuatro genes (*BRAF*, *NRAS*, *KRAS* y *RET*) y el resto están distribuidas en 31 genes. A pesar de esta baja frecuencia, las mutaciones son esenciales, ya que afectan a genes implicados en mecanismos básicos en el desarrollo tumoral. Todas ellas son activadoras de la vía *MAPK* y excluyentes entre sí (Fig. 2).

Otros dos genes con baja frecuencia mutacional, pero significativamente mutados en PTC son *CHEK2* y *PPMI*. Ambos están involucrados en reparación de ADN y se expresan concomitantemente con mutaciones de la ruta *MAPK*. El gen *CHEK2* se localiza en el cromosoma 22q12.1 y codifica por una proteína serina/treonina quinasa regulando los puntos de control del ciclo celular y la apoptosis en respuesta al daño de roturas del ADN de doble cadena (24). Como tal, la quinasa *CHEK2* actúa como un supresor tumoral promoviendo la estabilidad genómica. Como se mencionó anteriormente, el 10% de los PTC muestran SCNA por pérdida aislada de 22q, una región que incluye a *CHEK2*, lo que junto a las mutaciones en *CHEK2* sugiere que las alteraciones en este gen serían frecuentes en PTC. El gen *PPMID* codifica por una fosfatasa que suprime la transcripción y la apoptosis mediadas por p53 a través de la regulación negativa de la p38MAP quinasa (25).

Los tumores con mutaciones en genes de reparación de ADN tienen una densidad mayor de mutaciones asociadas a pacientes con alto riesgo lo que, junto con el hecho de que se expresen a la vez que las mutaciones en la vía *MAPK*, sugiere que las mutaciones en los genes de reparación de ADN son un evento tardío y podrían constituir un mecanismo para la progresión a formas agresivas de PTC.

Muchas de las alteraciones genéticas con baja frecuencia identificadas en el análisis genómico de los PTC no son estadísticamente significativas. Por eso es difícil saber si son eventos cruciales responsable de la tumorigénesis o eventos pasajeros y por tanto circunstanciales que se acumulan en el transcurso del desarrollo y crecimiento del tumor. A pesar de ello, hay que destacar que esas alteraciones se dan en genes implicados en vías de señalización y en importantes funciones celulares. Así, los PTC tienen mutaciones en genes reguladores epigenéticos como son *MLL*, *ARID1B* y *MLL3* y en otros genes implicados en tumorigénesis como *APC*, *ATM*, *NF1*, *p53* y *SPOP*. Además, se han descrito eventos de fusión raros que afectan a genes conocidos por ser importante en otros tipos de cáncer: entre ellos podemos destacar *ALK* y *FGFR2*. En conjunto, todos estos eventos genéticos están involucrados en vías de señalización y funciones celulares importantes como como son *PI3K*, *WNT* y remodelación de cromatina por *SWI/SNF*, entre otras. Además, algunos de estos eventos, que son raros en los pasos iniciales de la tumorigénesis, son más frecuentes en los últimos pasos de la progresión de PDTC a ATC (Fig. 2).

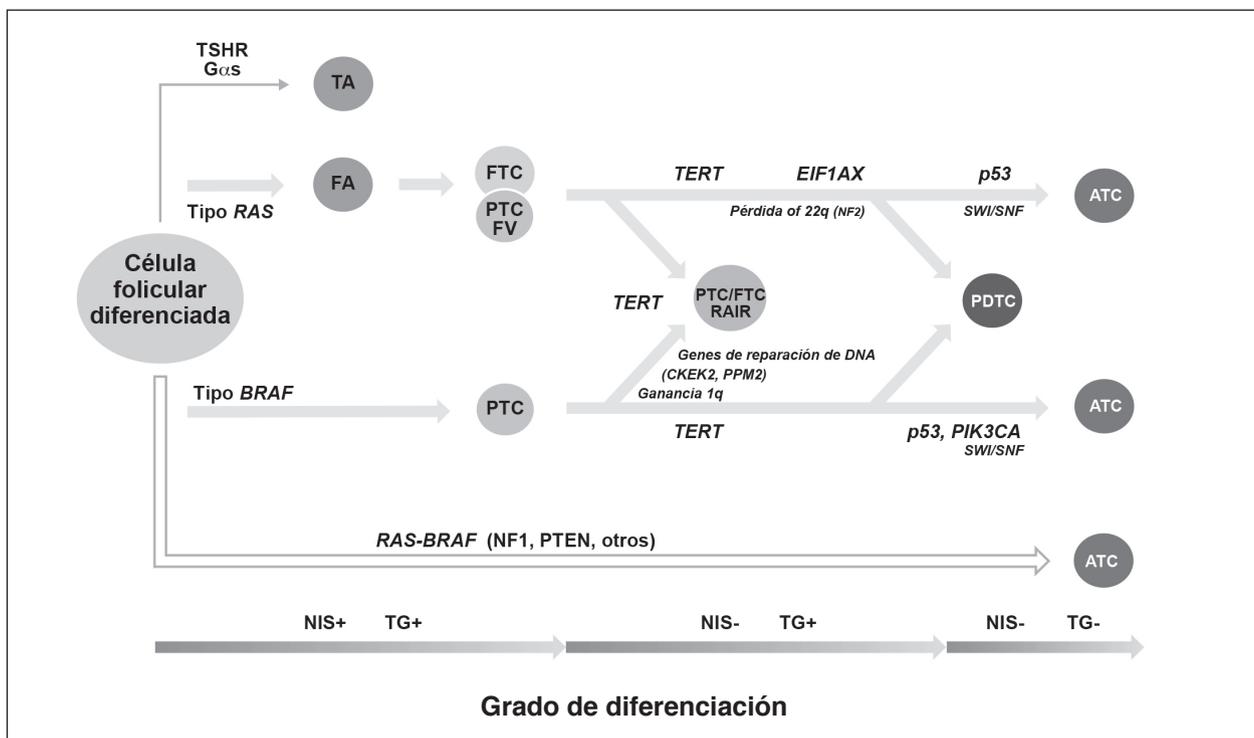


Fig. 2. Modelo de carcinogénesis tiroidea. Este esquema es una modificación del modelo clásico y está adaptado de Riesco-Eizaguirre y Santisteban, 2016 (7), donde se indican los principales genes involucrados en la progresión tumoral. Los tumores tiroideos bien diferenciados adenomas tóxicos (TA), adenomas foliculares (FA), carcinomas foliculares (FTC) y carcinomas papilares (PTC) expresan Tg, así como NIS funcional. Los tumores poco diferenciados (cáncer de tiroides avanzado resistente al radioyodo, RAIR) expresan Tg, pero NIS no se expresa o no es funcional. Finalmente, los tumores indiferenciados ATC no expresan Tg ni NIS. El conocimiento actual basado en el genoma del cáncer de tiroides TCGA (6) propone el modelo que se describe a continuación. Los principales oncogenes asociados con el cáncer de tiroides bien diferenciado (PTC y FTC) se pueden agrupar en dos tipos: tipo BRAF y tipo RAS, según sus consecuencias en la señalización y la diferenciación (sistema de puntuación BRS basado en una firma de 71 genes, véase el texto). La variante folicular del PTC se incluye en el RAS-like, en consecuencia, más cerca de los FTC. Mutaciones adicionales, como las del promotor TERT, los genes de reparación del ADN o la ganancia de 1q se asocian con la progresión a PTC/FTC/RAIR. La progresión a PDTC y ATC está determinada por BRAF y RAS. Los PDTC mutados en RAS se enriquecen con una pérdida de 22q, y tanto el PDTC como el ATC, con mutaciones en RAS, se enriquecen específicamente con mutaciones en EIF1AX y son excluyentes con mutaciones en TERT. Los ATC mutados en BRAF se enriquecen con mutaciones en PI3K. Las mutaciones en p53 son muy prevalentes en todos los ATC, aunque en menor medida en los PDTC. Mutaciones en componentes de los complejos remodeladores de cromatina como SWI/SNF y en las histonas metiltransferasas (HMT) son nuevos genes que se asocian con ATC. Tanto los ATC con mutación en RAS como en BRAF derivan de carcinomas bien diferenciados (ATC secundarios). Sin embargo, hay algunos ATC que no presentan mutaciones en BRAF ni en RAS, lo que sugiere que un subconjunto de estos tumores podría ser considerado como ATC primarios. Las mutaciones de NF1 se dan en estos tumores, en asociación con PTEN.

MUTACIONES EN REGIONES PROMOTORAS

En general las mutaciones identificadas en el genoma del cáncer son mutaciones en las zonas codificantes de los genes respectivos, ya que las secuenciaciones se han centrado principalmente en los exomas en lugar de los genomas completos. Con la información obtenida de la secuenciación completa del genoma del cáncer se han identificado mutaciones en regiones con funciones biológicas reguladoras de la transcripción génica.

Entre estas mutaciones, debemos destacar las descritas en el promotor TERT que inducen una mayor transcripción de la telomerasa, enzima cuya activación constituye un paso fundamental en la tumorigénesis (26).

Las mutaciones en el promotor de TERT son abundantes en ciertos tumores entre los que cabe destacar el melanoma y el cáncer de tiroides (27) en donde coexisten con mutaciones en BRAF (28,29). Se acepta que BRAF activaría factores ETS que se unirían a la región promotora mutada de TERT activando su transcripción. Las mutaciones del promotor TERT están presentes en el 9% de los PTC, en un 14% de los FTC, en un 40% de los PDTC y en un 45-73% de los ATC (19,29,30). Las mutaciones en el promotor de TERT confieren un comportamiento marcadamente agresivo y se asocian con características clinicopatológicas agresivas de alto riesgo y con recurrencias, sobre todo cuando coexisten

con mutaciones en *BRAF*. También se han descrito coexistentes con mutaciones en *BRAF* o *RAS*, en pacientes ATC, lo que las relaciona con una disminución de la supervivencia. Igualmente, los PDTC mutados en *TERT* desarrollan metástasis a distancia y hay una tendencia a una mayor mortalidad. Es interesante la observación de que mutaciones en el promotor de *TERT* y mutaciones en *EIF1AX* no son solapantes en pacientes ATC mutantes para *RAS*, lo que sugiere la existencia de vías alternativas hacia la progresión al tipo tumoral ATC. En resumen, las mutaciones somáticas en el promotor de *TERT* representan un importante mecanismo tumorigénico para la progresión a las formas más agresivas de cáncer de tiroides.

NUEVA CLASIFICACIÓN MOLECULAR

El conjunto de mutaciones, en las vías de señalización conocidas proporcionan la base para la clasificación molecular en cáncer. Está bien aceptado que el PTC se caracteriza por la activación de la vía MAPK. Sin embargo, tras el estudio del TCGA se han definido dos tipos genéticos diferentes de PTC:

- Similares a *BRAF* (en inglés *BRAF-like*).
- Similares a *RAS* (en inglés *RAS-like*) (Fig. 2).

Esta división se basa en la intensidad de la señalización por MAPK, que conduce a grandes diferencias en el desarrollo, desdiferenciación y por tanto en la progresión tumoral.

Se ha creado un sistema de puntuación denominado BRS (del inglés *BRAF-RAS Score*) basado en una firma de 71 genes expresados en los dos tipos de PTC, que ha permitido caracterizar los tumores y determinar que vía usan para señalizar y su grado relativo de diferenciación. Además, para evaluar las consecuencias en la diferenciación, se ha desarrollado una puntuación de diferenciación tiroidea TDS (del inglés *Thyroid Differentiation Score*) basado en la expresión de 16 genes

implicados en el metabolismo del yodo y la función tiroidea. La clasificación tumoral basada en BRS y TDS puede tener importantes implicaciones en el tratamiento individualizado del cáncer de tiroides.

Hay importantes diferencias entre los dos tipos genéticos, particularmente en la forma en que *BRAF* y *RAS* señalizan para promover el desarrollo y crecimiento tumoral. Los tumores con mutaciones en *BRAF* y *RAS* se sitúan en los extremos opuestos de la escala BRS. Los tumores *BRAF* tienen una alta intensidad en la señalización de MEK-ERK mientras que en los *RAS* esa intensidad es menor y además tienen activada a la vez la vía PI3K. Los tumores *BRAF-like* son tumores menos diferenciados, con alto número de recurrencias y más agresivos que los *RAS-like*. Otras mutaciones menos comunes en PTC se sitúan a lo largo la escala BRS en función de la intensidad de la señalización (Tabla I).

Más allá de esta clasificación molecular basada en dos tipos genéticos, los tumores *BRAF* tienen una mayor complejidad genética que los *RAS*, siendo muy heterogéneos en términos de expresión génica, perfiles de micro-ARN y alteraciones epigenéticas. Esta diversidad es acorde con la variación clínica observada en los pacientes con mutaciones en *BRAF*.

MICRO-ARN

Los *micro-ARN* (miRNA) son una clase de pequeñas moléculas de ARN endógenas con una longitud entre 19 y 22 nucleótidos, de cadena sencilla y no codificantes que actúan como reguladores postranscripcionales, fundamentalmente inhibiendo la expresión génica. El avance en su caracterización y el incremento de su asociación con distintas patologías están convirtiendo el estudio de los miRNA en todo un *trending topic* de la Biología Molecular. Cada día se conocen nuevos miRNA que regulan coordinadamente vías de señalización en cáncer.

TABLA I
CLASIFICACIÓN MOLECULAR DE PTC

<i>Tumores PTC</i>	<i>Tipo BRAF</i>	<i>Tipo RAS</i>
Señalización	↑ MAPK	↓ MAPK (+ PI3K)
Alteración genética	<i>BRAF</i> v600e, <i>RET</i> fusiones, <i>BRAF</i> fusiones	<i>NRAS</i> , <i>HRAS</i> , <i>KRAS</i> , <i>EIF1AX</i> , <i>PAX8/PPARγ</i> , <i>NTRK22q-del</i>
Variantes histológicas	Clásica, células altas	Variante folicular
Diferenciación	↓/heterogénea	↑
Riesgo de recurrencia	↑	↓
Perfiles de miR	miR-21, miR-146b, miR-204, miR-221/222 (5 miR grupos)	miR-183-5p, miR-182-5p

El análisis del TCGA sugiere patrones de expresión de miRNA que definen una relevancia clínica para estas pequeñas moléculas, ya que contribuyen a la pérdida de diferenciación y a la progresión tumoral. Se ha descrito que hay un enriquecimiento en miRNA implicados en la respuesta inmune, ya que muchos de esos miRNA tienen como diana genes del sistema inmune (31). El análisis más completo describe seis grupos de miRNA que definen a los PTC. En la tabla II se describen los miRNA (miR) de cada uno de los seis grupos. El grupo 1 está enriquecido en el miR-181 y miR-182 y está asociado con *RAS* y con la variante folicular del PTC. Dentro de los tumores BRAF se han definido cinco grupos. Los grupos 5 y 6 se asociaron con tumores menos diferenciados y de mayor riesgo de recurrencia y el grupo 5 está enriquecido en miR-146b y miR-375 con niveles bajos de miR-204. El grupo 6 se caracterizó por altos niveles de miR-21 y bajos niveles de miR-204. Histológicamente, este grupo comprende la mayoría de la variante de células altas y también el PTC clásico. Los otros tres grupos estaban asociados con PTC altamente diferenciados y menos agresivos. Esta información es muy importante clínicamente y el papel de esos miRNA se está estableciendo experimentalmente.

El miR-146b es actualmente uno de los más estudiados en PTC, ya que puede ser un factor pronóstico al estar asociado con características clínicas y patológicas agresivas (32). Este miR regula genes de diferenciación implicados en el metabolismo del yodo como el factor de transcripción PAX8, el gen responsable del transporte de yodo NIS, de la deshalogenasa DEHAL y de la desyodasa 2 (DIO2). El hecho de que NIS, DEHAL y DIO2 sean dianas de PAX8 (33), significa que el miR-146b reprime simultáneamente al factor de transcripción y sus principales genes dianas. A su vez, el factor de transcripción PAX8 regula la expresión de miR146b existiendo por tanto un circuito de autorregulación (33). Además del anterior circuito, existen otros que pueden ejercer un importante papel tanto en células normales

como tumorales. Así, el miR-182, predominante en tumores con mutación *RAS*, potencialmente reprime a PAX8 y a DEHAL y el miR-375, más prominente en los tumores BRAF, reprime también a DEHAL y al factor de transcripción NKX2.1 (Fig. 3). Por tanto, en el caso del cáncer de tiroides, bloquear los miRNA que alteran estos circuitos reguladores que contribuyen a un estado menos diferenciado en las células tumorales puede representar una nueva estrategia para rediferenciar las células tumorales y aumentar la captación de yodo.

GENES DE PREDISPOSICIÓN O SUCEPTIBILIDAD

Aunque muchos de los factores genéticos que inducen el cáncer se adquieren por mutaciones somáticas, algunos son hereditarios. Estudios epidemiológicos han descrito un mayor riesgo de cáncer en familiares de individuos con PTC y gracias a la genómica se han identificado genes de predisposición (Tabla III). Mediante análisis de ligamiento se han identificado más de 100 genes de susceptibilidad en cáncer y los datos sobre *BRCA1* y *BRCA2* en cáncer de mama o *APC* y *MUTYH* en cáncer de colon han sido muy informativos sobre la biología del cáncer. Este mismo tipo de estudios en PTC ha dado como resultado *loci* candidatos que se han estudiado mediante estrategias de clonación posicional pero que no se han definido como genes de alta penetrancia. En este tipo tumoral es excepcional encontrar familias con más de cinco individuos afectados.

Se ha identificado una mutación sin sentido en el gen *HABP2* responsable de la segregación familiar y que se da en el 4,7% de los 423 pacientes con carcinoma de tiroides estudiados en el TCGA. Sin embargo, el número de estudios existentes aún cuestiona la importancia de esta mutación en PTC. Mas recientemente el estudio de asociación del genoma completo GWAS (en inglés *Genome-Wide Association Study*), que puede genotipar millones de variantes, ha identificado dos SNP

TABLA II
GRUPOS DE MIR EN PTC Y SU RELEVANCIA CLÍNICA

Grupo	miR	Oncogén	Histotipo	Riesgo
1	miR-182, miR-183, miR-204 ↑	RAS	Variante folicular (VF)	↓
2	miR-142, miR-143	BRAF	Clásica	↓
3	miR-148a, miR-142	BRAF	Clásica y VF	↓
4	Lel7a, Let7f, Let7e, Let7b.	BRAF	Clásica y VF	↓
5	miR-146b-5p, miR-146b-3p, miR-375, miR-221, miR-222, miR-204 ↓	BRAF	Clásica	↑
6	miR-21, miR-221, miR-222, miR-204 ↓	BRAF	Clásicas altas y clásica	↑

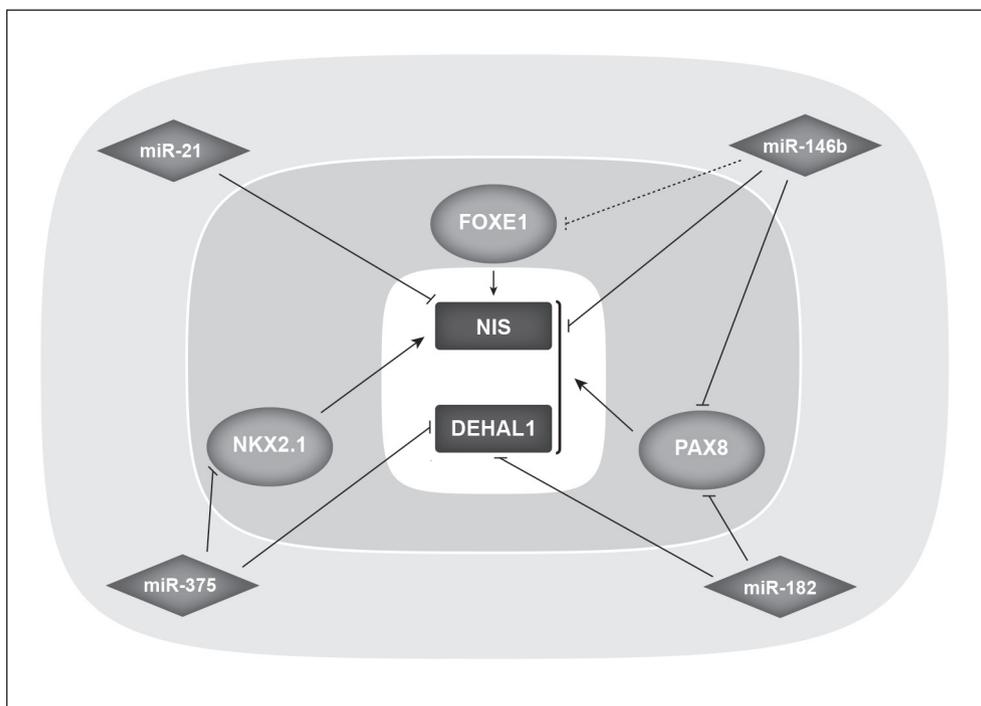


Fig. 3. Circuito de conexión entre micro-ARN, factores de transcripción, y genes diferenciación. Estos circuitos, que participan en bucles de retroalimentación y que están altamente conectados entre sí, representan un eficiente mecanismo de regulación de la expresión génica, ya que pueden funcionar suprimiendo la transcripción. En el esquema se representa uno de los principales circuitos reguladores que afecta a los genes de diferenciación tiroidea implicados en el metabolismo del yodo (NIS y DEHAL), que están bajo el control de los factores de transcripción (NKX2.1, PAX8 y FOXE1) y los miR (-146b, -21, -375 y -182).

TABLA III
PRINCIPALES GENES DE SUSCEPTIBILIDAD IMPLICADOS EN LA PREDISPOSICIÓN AL CÁNCER DE TIROIDES

Gen	Tipo	SNPs	Posible mecanismo
FOXE1	Gen de baja penetrancia	9q22 rs965513, 9q22 rs1867277	Diferenciación y migración
TSHR	Gen de baja penetrancia	9q22 rs965513 14q13.3 rs2284734	Diferenciación
PAX8 & SKTB1	Interacción gen-gen	SNP par rs4848323- rs1378624	Diferenciación y proliferación
miR146a	Gen no codificante	5q33.3 rs2910164	Proliferación
PTCSC1	Gen no codificante	8q24	Supresor tumoral
PTCSC2	Gen no codificante	9q22 rs965513	Supresor tumoral
PTCSC3	Gen no codificante	14q13.3 rs944289	Supresor tumoral
HABP2	Gen de susceptibilidad autosómico	10q25.3 rs7080536	Supresor tumoral

(del inglés *single nucleotide polymorphism*) localizados en 9q22 rs965513 y 14q13 y que están fuertemente asociados con un mayor riesgo de PTC y FTC (34). En este estudio, realizado en la población islandesa, el gen más cercano es el que codifica por el factor de transcripción FOXE1. En un estudio independiente, con población española, se ha identificado el mismo gen y se ha descrito que el SNP recluta diferencialmente los factores de transcripción USF1/ USF2 modificando la expresión de FOXE1 (35). FOXE1 ha sido confirmado como gen de susceptibilidad en otras poblaciones. Su papel en cáncer de tiroides se ha determinado en estudios funcionales, donde se ha demostrado que FOXE1 interactúa con otros factores transactivando genes claves en cáncer como *TERT* (36) y genes implicados en transición epitelio mesénquima como *SNAIL* (36) y *ZEB* (37).

Otra variante que afecta además al gen *TSHR* se asocia específicamente con la predisposición al subtipo clásico de PTC (38) y se ha descrito que esta predisposición además de a los genes *FOXE1* y *TSHR* afecta a un nuevo *long non coding RNA* (LncRNA) denominado PTCSC2 (39). Respecto a LncRNA, debemos decir que se han descrito otros dos como genes de susceptibilidad: PTCSC1 y PTCSC3 (40,41). La expresión de estos tres LncRNA está disminuida en PTC, lo que sugiere que actuarían como genes supresores tumorales. Además, es lógico suponer que la expresión disminuida de *FOXE1* y *TSHR* predispone a las células tiroideas a desdiferenciarse, que es un paso esencial hacia la transformación maligna.

Otro *non coding RNA* descrito como gen de susceptibilidad es el miR-146a. En este miR se ha descrito un SNP en cáncer de tiroides (42), y se ha demostrado por primera vez un papel para un polimorfismo en un miRNA en la predisposición al cáncer. Aunque el número de genes identificados de baja penetrancia para el cáncer de tiroides ha aumentado en los últimos años, muchos de los componentes genéticos siguen sin explicación en comparación con otras patologías complejas. Una forma de identificar nuevos genes es a través de la evaluación de la interacción gen-gen. Así, en una de las series más grandes de casos de cáncer de tiroides se ha descrito la interacción entre variantes en *PAX8* y la quinasa *STK17B* (38). Sin embargo, el mecanismo a través del cual estas dos variantes genéticas interactúan aún es desconocido. Sin embargo, es importante resaltar que FOXE1 y PAX8 están en el centro de una red reguladora de factores de transcripción y cofactores que es esencial para la formación de la glándula tiroidea y el mantenimiento del estado diferenciado de tiroides en adultos.

CONCLUSIONES

El cáncer de tiroides es la neoplasia endocrina más común. Sus tasas de incidencia y mortalidad han aumentado en pacientes con cáncer de tiroides papi-

lar avanzado. La identificación y caracterización de las vías moleculares esenciales en la iniciación y progresión del cáncer de tiroides han constituido un gran progreso en el conocimiento de esta patología. Conocer en detalle la señalización intracelular para promover la evolución clonal, la desdiferenciación y la metástasis es crucial para un mejor conocimiento de esta patología. El descubrimiento de alteraciones genéticas que incluyen mutaciones (*BRAF*, *RAS*, *hTERT*, etc.), translocaciones, deleciones y ganancia de número de copias ha proporcionado nuevos conocimientos biológicos con aplicaciones clínicas. Comprender cómo interactúan las vías moleculares es una de las estrategias clave para desarrollar nuevos tratamientos terapéuticos y mejorar el pronóstico de los pacientes.

AGRADECIMIENTOS

PS está financiada con los siguientes proyectos, SAF2016-75531-R del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (MICIU), España, Fondo Europeo de Desarrollo Regional FEDER, B2017/BMD-3724 de la Comunidad de Madrid y GCB14142311CRES de la Asociación Española Contra el Cáncer (AECC).

CORRESPONDENCIA:

Pilar Santisteban
Instituto de Investigaciones Biomédicas Alberto Sols
CSIC-UAM
Calle Arturo Duperier, 4
28029 Madrid
e-mail: psantisteban@iib.uam.es

BIBLIOGRAFÍA

1. Lim H, Devesa SS, Sosa JA, et al. Trends in Thyroid Cancer Incidence and Mortality in the United States, 1974-2013. *JAMA*. 2017;317:1338-48.
2. Siegel R, Ma J, Zou Z, et al. Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin*. 2014;64:9-29.
3. Schlumberger MJ. Papillary and follicular thyroid carcinoma. *N Engl J Med*. 1998;338:297-306.
4. Volante M, Collini P, Nikiforov YE, et al. Poorly differentiated thyroid carcinoma: the Turin proposal for the use of uniform diagnostic criteria and an algorithmic diagnostic approach. *Am J Surg Pathol*. 2007;31:1256-64.
5. Smallridge RC, Marlow LA, Copland JA. Anaplastic thyroid cancer: molecular pathogenesis and emerging therapies. *Endocr Relat Cancer*. 2009;16:17-44.
6. Cancer Genome Atlas Research N. Integrated genomic characterization of papillary thyroid carcinoma. *Cell*. 2014;159:676-90.
7. Riesco-Eizaguirre G, Santisteban P. Endocrine tumours: Advances in the molecular pathogenesis of thyroid cancer: lessons from the cancer genome. *Eur J Endocrinol*. 2016;175:R203-17.
8. Zaballos MA, Santisteban P. Key signaling pathways in thyroid cancer. *J Endocrinol*. 2017;235:R43-R61.
9. Zaballos MA, Acuna-Ruiz A, Morante M, et al. Regulators of the RAS-ERK pathway as therapeutic targets in thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2019;26:R319-R44.

10. Kopp P. The TSH receptor and its role in thyroid disease. *Cell Mol Life Sci.* 2001;58:1301-22.
11. Vassart G, Dumont JE. The thyrotropin receptor and the regulation of thyrocyte function and growth. *Endocr Rev.* 1992;13:596-611.
12. De la Vieja A, Santisteban P. Role of iodide metabolism in physiology and cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2018;25:R225-R45.
13. Yoshida A, Taniguchi S, Hisatome I, Royaux IE, Green ED, Kohn LD, et al. Pendrin is an iodide-specific apical porter responsible for iodide efflux from thyroid cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:3356-61.
14. De Deken X, Wang D, Dumont JE, Miot F. Characterization of ThOX proteins as components of the thyroid H(2)O(2)-generating system. *Exp Cell Res.* 2002;273:187-96.
15. Moreno JC, Klootwijk W, van Toor H, et al. Mutations in the iodotyrosine deiodinase gene and hypothyroidism. *N Engl J Med.* 2008;358:1811-8.
16. Di Cosmo C, Liao XH, Dumitrescu AM, et al. Mice deficient in MCT8 reveal a mechanism regulating thyroid hormone secretion. *J Clin Invest.* 2010;120:3377-88.
17. Fernández LP, López-Márquez A, Santisteban P. Thyroid transcription factors in development, differentiation and disease. *Nat Rev Endocrinol.* 2015;11:29-42.
18. Kunstman JW, Juhlin CC, Goh G, et al. Characterization of the mutational landscape of anaplastic thyroid cancer via whole-exome sequencing. *Hum Mol Genet.* 2015;24:2318-29.
19. Landa I, Ibrahimipasic T, Boucai L, et al. Genomic and transcriptomic hallmarks of poorly differentiated and anaplastic thyroid cancers. *J Clin Invest.* 2016;126:1052-66.
20. Lawrence MS, Stojanov P, Polak P, et al. Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer-associated genes. *Nature.* 2013;499:214-8.
21. Ciriello G, Miller ML, Aksoy BA, et al. Emerging landscape of oncogenic signatures across human cancers. *Nat Genet.* 2013;45:1127-33.
22. Garcia-Rendueles ME, Ricarte-Filho JC, Untch BR, et al. NF2 Loss Promotes Oncogenic RAS-Induced Thyroid Cancers via YAP-Dependent Transactivation of RAS Proteins and Sensitizes Them to MEK Inhibition. *Cancer Discov.* 2015;5:1178-93.
23. Garraway LA, Lander ES. Lessons from the cancer genome. *Cell.* 2013;153:17-37.
24. Oliva-Trastoy M, Berthouaud V, Chevalier A, et al. The Wip1 phosphatase (PPM1D) antagonizes activation of the Chk2 tumour suppressor kinase. *Oncogene.* 2007;26:1449-58.
25. Kleiblova P, Shaltiel IA, Benada J, et al. Gain-of-function mutations of PPM1D/Wip1 impair the p53-dependent G1 checkpoint. *J Cell Biol.* 2013;201:511-21.
26. Bell RJ, Rube HT, Xavier-Magalhaes A, Costa BM, Mancini A, Song JS, et al. Understanding TERT Promoter Mutations: A Common Path to Immortality. *Mol Cancer Res.* 2016;14:315-23.
27. Fredriksson NJ, Ny L, Nilsson JA, et al. Systematic analysis of noncoding somatic mutations and gene expression alterations across 14 tumor types. *Nat Genet.* 2014;46:1258-63.
28. Vinagre J, Almeida A, Populo H, Batista R, Lyra J, Pinto V, et al. Frequency of TERT promoter mutations in human cancers. *Nat Commun.* 2013;4:2185.
29. Liu X, Bishop J, Shan Y, et al. Highly prevalent TERT promoter mutations in aggressive thyroid cancers. *Endocr Relat Cancer.* 2013;20:603-10.
30. Landa I, Ganly I, Chan TA, et al. Frequent somatic TERT promoter mutations in thyroid cancer: higher prevalence in advanced forms of the disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98:E1562-6.
31. Huang CT, Oyang YJ, Huang HC, et al. MicroRNA-mediated networks underlie immune response regulation in papillary thyroid carcinoma. *Sci Rep.* 2014;4:6495.
32. Chou CK, Yang KD, Chou FF, et al. Prognostic implications of miR-146b expression and its functional role in papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98:E196-205.
33. Ruiz-Llorente S, Carrillo Santa de Pau E, Sastre-Perona A, et al. Genome-wide analysis of Pax8 binding provides new insights into thyroid functions. *BMC Genomics.* 2012;13:147.
34. Gudmundsson J, Sulem P, Gudbjartsson DF, et al. Common variants on 9q22.33 and 14q13.3 predispose to thyroid cancer in European populations. *Nat Genet.* 2009;41:460-4.
35. Landa I, Ruiz-Llorente S, Montero-Conde C, et al. The variant rs1867277 in FOXE1 gene confers thyroid cancer susceptibility through the recruitment of USF1/USF2 transcription factors. *PLoS Genet.* 2009;5:e1000637.
36. Bullock M, Lim G, Zhu Y, et al. ETS Factor ETV5 Activates the Mutant Telomerase Reverse Transcriptase Promoter in Thyroid Cancer. *Thyroid.* 2019;29:1623-33.
37. Morillo-Bernal J, Fernández LP, Santisteban P. FOXE1 regulates migration and invasion in thyroid cancer cells and targets ZEB1. *Endocr Relat Cancer.* 2020;27:137-51.
38. Landa I, Boullosa C, Inglada-Pérez L, et al. An epistatic interaction between the PAX8 and STK17B genes in papillary thyroid cancer susceptibility. *PLoS One.* 2013;8:e74765.
39. He H, Li W, Liyanarachchi S, et al. Genetic predisposition to papillary thyroid carcinoma: involvement of FOXE1, TSHR, and a novel lincRNA gene, PTCSC2. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100:E164-72.
40. He H, Nagy R, Liyanarachchi S, et al. A susceptibility locus for papillary thyroid carcinoma on chromosome 8q24. *Cancer Res.* 2009;69:625-31.
41. Jendrzewski J, He H, Radomska HS, et al. The polymorphism rs944289 predisposes to papillary thyroid carcinoma through a large intergenic noncoding RNA gene of tumor suppressor type. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109:8646-51.
42. Jazdzewski K, Murray EL, Franssila K, et al. Common SNP in pre-miR-146a decreases mature miR expression and predisposes to papillary thyroid carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105:7269-74.