

## Tiroglobulina y sus limitaciones en el seguimiento del carcinoma diferenciado del tiroides

Soledad Velasco L<sup>1</sup>, Antonieta Solar G<sup>2</sup>, Francisco Cruz O<sup>3</sup>, Juan Carlos Quintana F<sup>3</sup>, Augusto León R<sup>4</sup>, Lorena Mosso G<sup>1</sup>, Carlos Fardella B<sup>1</sup>.

### *Recurrence of differentiated thyroid carcinoma without concomitant elevation of serum thyroglobulin. Report of two cases*

*Thyroid carcinoma is the most prevalent endocrine tumor, and the papillary carcinoma (PC) is the most common histological type. In the follow-up, after thyroidectomy serum thyroglobulin (s-Tg) is used as a marker to evaluate recurrence of thyroid carcinoma. In most cases, this parameter allows an adequate diagnosis, but occasionally s-Tg may miss the detection of a recurrence. We report a 57 year-old female and a 36 year-old male subjected to a total thyroidectomy for a papillary thyroid carcinoma with intermediate and high-risk of recurrence. Both had a cervical recurrence without a concomitant increase in s-Tg levels. In both, Tg staining was positive in the tumor cells. These cases confirm that in these patients, the follow-up must be done with measurement of s-Tg and complementary diagnostic tests (Rev Méd Chile 2007; 135: 506-11).*

**(Key words:** Carcinoma, papillary; Thyroid neoplasms; Thyroglobulin)

Recibido el 13 de abril, 2006. Aceptado el 7 de agosto, 2006.

<sup>1</sup>Departamento de Endocrinología, <sup>2</sup>Anatomía Patológica, <sup>3</sup>Radiología y <sup>4</sup>División de Cirugía, Sección Cirugía de Cabeza y Cuello, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago de Chile.

El cáncer de tiroides constituye la neoplasia endocrinológica más frecuente, con una incidencia anual de aproximadamente 10 por 100.000 habitantes en Estados Unidos de Norteamérica (EE.UU.)<sup>1</sup>. De éstos, el carcinoma papilar de tiroides (CPT) constituye el tipo histológico más

prevalente. En nuestra experiencia recientemente publicada, los CPT fueron 89%, foliculares 8% y el resto 3%<sup>2</sup>. El tratamiento del carcinoma diferenciado de tiroides (CDT) se basa en la tiroidectomía total y luego la terapia ablativa con radioyodo. En el seguimiento se utiliza el control de imágenes, la exploración sistémica y la medición de tiroglobulina sérica (Tg-s).

La tiroglobulina es una glicoproteína sintetizada exclusivamente por las células foliculares tiroideas, y constituye 75% del contenido proteico de

Correspondencia a: Dr. Carlos Fardella B. Teléfono: 3543095. Fax: 6385675. Santiago, Chile. E mail: cfardella@med.puc.cl

la glándula tiroideas<sup>3</sup>. A su vez, es el precursor para la síntesis de hormonas tiroideas. El gen que codifica para esta proteína se encuentra en el cromosoma 8 y está constituido por más de 300 kb y 48 exones, codificando una proteína de 660 kDa. Su síntesis es estimulada a través de la activación del receptor de hormona tiroestimulante (TSH), al igual que la síntesis de hormonas tiroideas<sup>4</sup>.

La medición de Tg-s ha sido usada como marcador de recidiva tumoral, teniendo mucho valor su determinación estimulada, vale decir, cuando los niveles plasmáticos de TSH son elevados o a través del uso de TSH recombinante humana. La determinación de valores de Tg-s muy bajos o indetectables, indican ausencia de recidiva tumoral<sup>5</sup>. La premisa anterior es válida siempre y cuando no existan anticuerpos anti-tiroglobulina (AcTg) que puedan interferir en su medición. Sin embargo, en el último tiempo, hemos podido apreciar que algunos pacientes con recidiva demostrada histológicamente, pueden presentar niveles indetectables de Tg-s estimulada en ausencia de AcTg.

El objetivo de este trabajo es presentar dos casos de pacientes que presentaron un CPT, cuya recidiva no fue acompañada por un aumento de la Tg-s. Las posibles causas que puedan explicar este hecho son analizadas y discutidas.

### CASO CLÍNICO 1

Paciente de 57 años, sexo femenino, con antecedente de tiroidectomía total 5 años antes, por CPT. La biopsia mostró CPT variedad usual, unifocal, de 5 cm, con permeación vascular, infiltración de cápsula, compromiso focal de borde quirúrgico y compromiso de un ganglio del grupo VI. Recibió 100 mCi I<sup>131</sup> y la exploración sistémica posterior mostró remanente tiroideo. Inició terapia supresiva con levotiroxina y en controles posteriores mantuvo Tg-s indetectable (<0,2 ng/ml) en ausencia de AcTg. Los AcTg fueron medidos por método cuantitativo (inmunoensayo). No había evidencias de recidiva en seguimiento con imágenes. Sin embargo, a los 5 años una ecografía cervical mostró imagen nodular de 12 mm en el lecho tiroideo izquierdo (Figura 1), con Tg-s estimulada (TSH =35 uUI/mL) y exploración sistémica negativa para recidiva. Por tratarse de una lesión sólida de aparición reciente, se realizó biopsia por punción, cuyo resultado fue sugerente de CPT. Se realizó disección cervical selectiva izquierda, la biopsia confirmó metástasis CPT en grupo IV, VI e infiltración de tejido conectivo y muscular de grupo III y VI. Citológicamente este tumor presentaba focos con más atipias, mayor tamaño y pleomorfismo nuclear y un nucléolo más prominente de lo esperado para un CPT bien diferenciado. La tinción

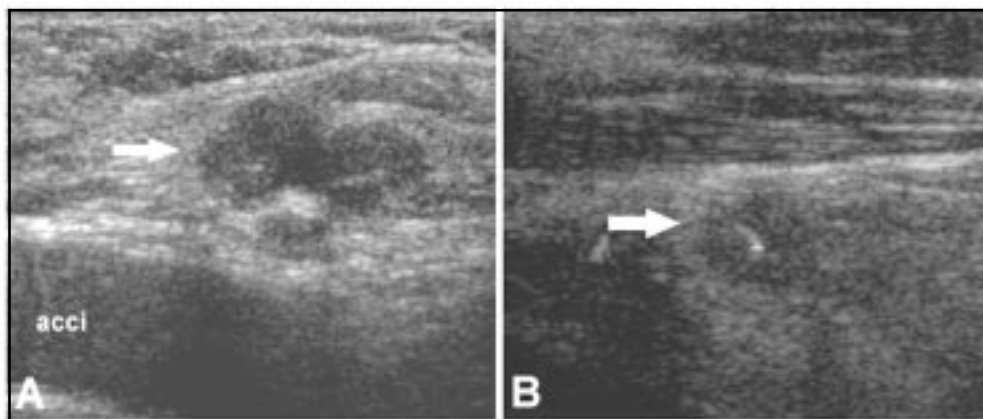


Figura 1. A: Ecografía cervical de caso 1. Corte parasagital izquierdo que muestra un nódulo sólido, hipocogénico, lobulado en el lecho tiroideo (flecha), el que se encuentra anterior y medial a la arteria carótida común izquierda (acci). B: Ecografía cervical de caso 2. Corte parasagital derecho que muestra un nódulo sólido, hipocogénico, con un vaso central (flecha) en el lecho tiroideo, con caracteres de una adenopatía.

para Tg de la biopsia resultó ser positiva en forma focal tanto en citoplasma de células tumorales como en coloide (Figura 2).

#### CASO CLÍNICO 2

Paciente de 36 años, sexo masculino, con antecedente de tiroidectomía total 2 años antes, por CPT. La biopsia quirúrgica informó un CPT bifocal, variedad usual, con foco de 20 mm en lóbulo derecho y 15 mm en lóbulo izquierdo, sin permeación vascular, infiltración de cápsula ni compromiso de borde quirúrgico. Recibió 150 mCi  $I^{131}$  y la exploración sistémica posdosis mostró remanente tiroideo con compromiso ganglionar derecho. Inició terapia supresiva con levotiroxina y en controles posteriores presentó niveles de Tg indetectables ( $<0,2$  ng/ml) en ausencia de AcTg y las ecografías cervicales no mostraron evidencias de recidiva tu-

moral. En control de los 18 meses poscirugía la ecografía cervical mostró imagen nodular de 10 mm en región cervical derecha, sugerente de linfonodo (Figura 1). En forma simultánea, la Tg-s estimulada (TSH =105 uUI/mL) fue  $<0,2$  ng/ml, en ausencia de AcTg. La exploración sistémica mostró captación aumentada en compartimento central a ambos lados de línea media, mayor a derecha. La biopsia por punción de la lesión fue compatible con CPT. Se realizó disección cervical, cuya biopsia confirmó metástasis de CPT en ganglio del grupo VI, intranodal, sin extensión al tejido adiposo. La tinción para Tg fue positiva en forma difusa tanto en coloide como en citoplasma de células tumorales (Figura 2).

#### DISCUSIÓN

Este trabajo presenta dos casos de CPT que presentaron una recidiva tumoral cervical, en los

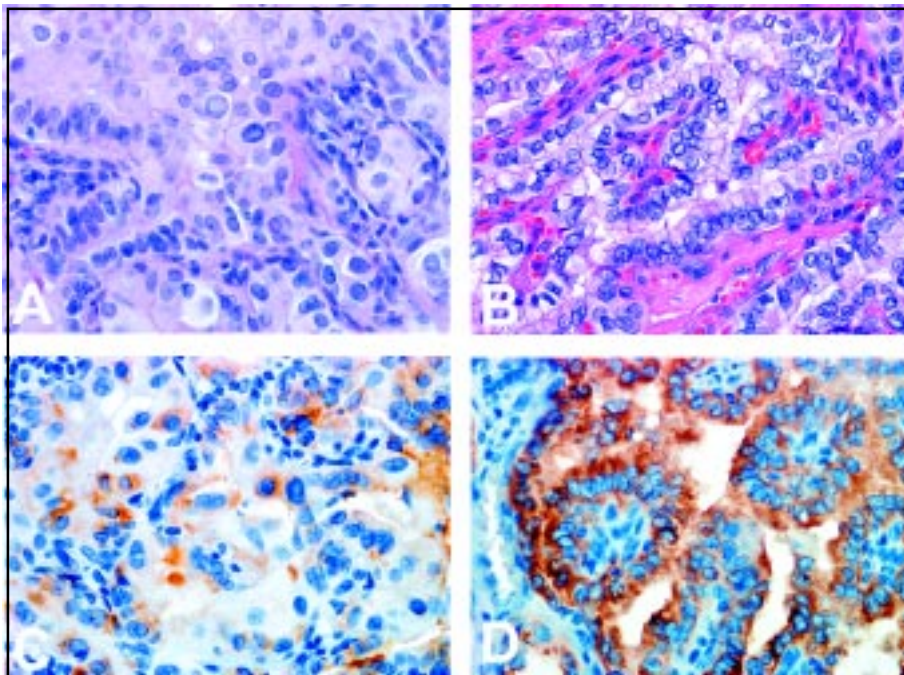


Figura 2. A y B: microfotografías del caso 1 y 2, respectivamente. Con la tinción de hematoxilina eosina, se observan estructuras papilares colapsadas, revestidas por células cilíndricas, con núcleos grandes, ovalados, sobrepuestos, con algunas pseudoinclusiones y hendiduras. En el caso 1 (A) los núcleos muestran mayor tamaño y pleomorfismo que en el caso 2 (B). (100 x). C y D: microfotografías del caso 1 y 2, respectivamente. Se muestra la tinción inmunohistoquímica contra Tg, que resultó positiva en el citoplasma de algunas células del caso 1 (C) y positiva citoplasmática difusa en el caso 2 (D). (100 x).

cuales la determinación de Tg-s estimulada en ausencia de AcTg resultó negativa. En estos casos la recidiva fue diagnosticada por exámenes complementarios, como la ecotomografía cervical y la exploración sistémica. Este hecho ha sido descrito previamente y podría llevar a errores sobre el real estado de la enfermedad como ha sido comunicado por otros autores<sup>6-8</sup>.

Las razones por las cuales la medición de Tg podría ser indetectable en pacientes con recidiva son múltiples. La más conocida por los clínicos es la interferencia con AcTg, la cual se descartó en ambos pacientes. La presencia de AcTg tiende a subestimar los niveles de Tg-s al unirse el autoanticuerpo a la molécula de Tg cuando se usan estudios inmunométricos para su determinación<sup>9</sup>. Los AcTg se encuentran en alrededor de 20% de los pacientes con CPT<sup>10</sup>, por lo que siempre debe descartarse su presencia al realizar la determinación de Tg-s.

La desdiferenciación tumoral del cáncer de tiroides es otra causa de negativización de la Tg-s. En nuestros casos, el análisis histológico mostró que se trataba de CPT que no habían variado con respecto al carcinoma original, por lo que esta alternativa parece poco probable. Sin embargo, el caso 1, desde el punto de vista citológico, presenta zonas con más atipias y la tinción para Tg resultó ser focal y de menor intensidad que el caso 2, lo que podría estar reflejando defectos en su síntesis. Actualmente se sabe que la presencia de la mutación del oncogen N-ras tiene relación inversa con el grado de diferenciación histológica, estando presente en 14% de CDT, 18,2% en cáncer poco diferenciado y 37,5% en cáncer indiferenciado. Los pacientes que presentan la mutación tienen expresión de Tg débil o negativa en el tejido tumoral, lo que podría explicar bajos niveles de Tg en plasma en este caso<sup>11</sup>.

La baja masa tumoral también es otro factor que podría explicar la negatividad de la Tg-s. Sin embargo, en al menos uno de nuestros pacientes nos parece poco probable, ya que presentaba infiltración ganglionar y de tejidos vecinos. Al respecto, en un estudio de 65 pacientes con recidiva cervical de CPT se observó una relación directa entre niveles plasmáticos de Tg-s estimulada y volumen de células tumorales<sup>12</sup>. En otro estudio de recurrencia de CDT, los valores promedio de Tg-s fueron de 26,71 ng/ml con volumen

tumoral <3 cm<sup>3</sup> y 57,85 ng/ml con volumen 3-6 cm<sup>3</sup><sup>13</sup>.

Los trastornos de la secreción de Tg podrían explicar que ésta no sea liberada a la circulación. Esta alternativa podría explicar la tinción positiva para Tg en coloide y en citoplasma de células tumorales en el caso 2, sin detección de ésta en plasma. Las causas de alteración en la secreción podrían ser secundarias a la síntesis de Tg defectuosa, que impide que sea liberada del retículo endoplásmico<sup>14</sup> o alteración en la internalización de la Tg desde el coloide<sup>15</sup>. Esto se ve indirectamente en un estudio de 51 pacientes con recidiva cervical de CDT, en quienes la Tg estimulada en sangre se encontró indetectable en 43% de los casos, y en ellos la medición de Tg en la punción era positiva en 90%<sup>16</sup>. A su vez, otros estudios muestran que en pacientes con metástasis cervicales de un carcinoma papilar de tiroides, la medición de Tg en muestra obtenida por punción se encuentra elevada aunque la citología sea no diagnóstica, y no se afecta por la presencia de AcTg en sangre<sup>17,18</sup>.

La yodación de la Tg es otro factor que podría interferir en su determinación. La yodación cambia su conformación, de tal forma que se pierden epítopes naturales y se generan nuevos epítopes que pueden no ser reconocidos por los anticuerpos usados para su detección<sup>19</sup>. La Tg de pacientes con CPT presenta menor yodación, lo que puede explicar la menor inmunorreactividad de la Tg en estos casos (63%) con respecto a la Tg de individuos sanos (95%)<sup>20</sup>. La Tg también puede ser inmunológicamente inactiva por cambios en su estructura aminoacídica secundaria a alteraciones en su *splicing* normal. Se han demostrado sitios de *splicing* alternativo en diversos exones, tanto en tejido tiroideo normal como en cáncer de tiroides. La delección de estos exones podría significar la pérdida del epítipo reconocido por el método para medir Tg, constituyendo un falso negativo<sup>21</sup>.

Para la medición de Tg se utilizó IRMA TG-plus BRAHMS, un método inmunométrico validado para su medición, con una sensibilidad de 0,2 ng/ml. Entre los diferentes métodos existe una variabilidad interensayo para la medición de Tg de 37% a pesar de la estandarización CRM-457, lo que excede la variabilidad biológica de cada persona, de 14%<sup>6</sup>. A su vez, los métodos immuno-

métricos son susceptibles de efecto Hook, donde la excesiva concentración de antígeno (Tg) en una enfermedad metastásica excede la capacidad de unión del anticuerpo de captura y de señal, y se produce un resultado inapropiadamente bajo<sup>22</sup>. Esto se puede superar al realizar diluciones de la muestra en pacientes con sospecha de enfermedad metastásica<sup>23</sup>.

En suma, este trabajo presenta dos casos de recidivas de CPT en pacientes con riesgo intermedio y alto para recidiva, que no fueron detectados por la medición de Tg estimulada en ausencia de AcTg. Esto confirma la necesidad de seguir a este subgrupo de pacientes con métodos complementarios a la medición de Tg sérica estimulada, como la exploración sistémica y ecografía cervical.

#### REFERENCIAS

1. LANDIS SH, MURRAY T, BOLDEN S, WINGO PA. Cancer statistics, CA Cancer. *J Clin* 1998; 48: 6-29.
2. FARDELLA C, JIMÉNEZ M, GONZÁLEZ H, LEÓN A, GOÑI I, CRUZ F ET AL. Características de presentación del microcarcinoma papilar del tiroides. Experiencia retrospectiva de los últimos 12 años de la Pontificia Universidad Católica de Chile. *Rev Méd Chile* 2005; 133: 1305-10.
3. SPENCER C. Thyroglobulin. En: Werner and Ingbar's. *The Thyroid: a fundamental and clinical text*. 9<sup>th</sup> ed, 2005; 345-53.
4. VAN DE GRAAF SAR, RIS-STALPERS C, PAUWS E, MENDIVE FM, TARGOVNIK HM, DE VILDER JJM. Up to date with human thyroglobulin. *J Endocrinol* 2001; 170: 307-21.
5. MAZZAFERRI E, ROBBINS R, SPENCER C, BRAVERMAN L, PACINI F, WARTOFSKY L ET AL. A Consensus Report of the Role of Serum Thyroglobulin as a Monitoring Method for Low-Risk Patients with Papillary Thyroid Carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 1433-41.
6. BACHELOT A, LEBOLLEUX S, BAUDIN E, HARTL D, CAILLOU B, TRAVAGLI J ET AL. Neck recurrence from thyroid carcinoma: serum thyroglobulin and high-dose total body scan are not reliable criteria for cure after radioiodine treatment. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005; 62: 376-9.
7. ROBBINS R, CHON J, FLEISHER M, LARSON S, TUTTLE M. Is the Serum Thyroglobulin Response to Recombinant Human Thyrotropin Sufficient, by Itself, to Monitor for Residual Thyroid Carcinoma? *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 87: 3242-7.
8. COOPER DS, DOHERTY G, HAUGEN B, KLOOS R, LEE S, MANDEL S ET AL. Management Guidelines for Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer. *Thyroid* 2006; 16: 1-34.
9. SPENCER CA, BERGOGLIO LM, KAZAROSYAN M, FATEMI S, LOPRESTI JS. Clinical Impact of Thyroglobulin (Tg) and Tg Autoantibody Method Differences on the Management of Patients with Differentiated Thyroid Carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 5566-75.
10. SPENCER CA, TAKEUCHI M, KAZAROSYAN M, WANG CC, GUTTLER RB, SINGER PA ET AL. Serum Thyroglobulin Autoantibodies: Prevalence, Influence on Serum Thyroglobulin Measurement, and Prognostic Significance in Patients with Differentiated Thyroid Carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 1121-7.
11. BASOLO F, PISATURO F, POLLINA LE, FONTANINI G, ELISEI R, MOLINARO E ET AL. N-ras Mutation in Poorly Differentiated Thyroid Carcinomas: Correlation with Bone Metastases and Inverse Correlation to Thyroglobulin Expression. *Thyroid* 2000; 10: 19-23.
12. BACHELOT A, CAILLEUX AF, KLAIN M, BAUDIN E, RICARD M, BELLON N ET AL. Relationship Between Tumor Burden and Serum Thyroglobulin Level in Patients with Papillary and Follicular Thyroid Carcinoma. *Thyroid* 2002; 12: 707-11.
13. DRALLE H, SCHWARZROCK R, LANG W, BOCKER W, ZIEGLER H, SCHRODER S ET AL. Comparison of histology and immunohistochemistry with thyroglobulin serum levels and radioiodine uptake in recurrences and metastases of differentiated thyroid carcinomas. *Acta Endocrinol* 1985; 108: 504-10.
14. MURESAN Z, ARVAN P. Enhanced Binding to the Molecular Chaperone BiP Slows Thyroglobulin Export from the Endoplasmic Reticulum. *Mol Endocrinol* 1998; 12: 458-67.

15. MARINÓ M, PINCHERA A, McCLUSKEY R, CHIOVATO L. Megalin in Thyroid Physiology and Pathology. *Thyroid* 2001; 11: 47-56.
16. FRASOLDATI A, PESENTI M, GALLO M, CAROGGIO A, SALVO D, VALCAVI R. Diagnosis of Neck Recurrences in Patients with Differentiated Thyroid Carcinoma. *Cancer* 2003; 97: 90-6.
17. BASKIN HJ. Detection of recurrent papillary thyroid carcinoma by thyroglobulin assessment in the needle washout after fine-needle aspiration of suspicious lymph nodes. *Thyroid* 2004; 14: 959-63.
18. CIGNARELLI M, AMBROSI A, MARINO A, LAMACCHIA O, CAMPO M, PICCA G ET AL. Diagnostic utility of thyroglobulin detection in fine-needle aspiration of cervical cystic metastatic lymph nodes from papillary thyroid cancer with negative cytology. *Thyroid* 2003; 13: 1163-7.
19. SABOORI AM, ROSE NR, BRESLER HS, VLADUT-TALOR M, BUREK CL. Iodination of human thyroglobulin (Tg) alters its immunoreactivity. *Clin Exp Immunol* 1998; 113: 297-302.
20. KIM PS, DUNN AD, DUNN JT. Altered Immunoreactivity of Thyroglobulin in Thyroid Disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67: 161-8.
21. BERTAUX F, NOEL M, LASMOLES F, FRAGU P. Identification of the exon structure and four alternative transcripts of the thyroglobulin-encoding gene. *Gene* 1995; 156: 297-301.
22. SPENCER CA, TAKEUCHI M, KAZAROSYAN M. Current status and performance goals for serum thyroglobulin assays. *Clin Chem* 1996; 42: 164-73.
23. BALOCH Z, CARAYON P, CONTE-DEVOLX B, DEMERS L, FELDT-RASMUSSEN U, HENRY JF ET AL. Laboratory medicine practice guidelines: laboratory support for the diagnosis and monitoring of thyroid disease. *Thyroid* 2003; 13: 3-126.