



**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES  
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEÚTICAS Y BIOQUÍMICAS**



**LA FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICAS DE LA UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES AUTORIZA EL USO DE LA INFORMACION CONTENIDA EN ESTE DOCUMENTO SI LOS PROPOSITOS SON EstrictAMENTE ACADEMICOS.**

**LICENCIA DE USO**

El usuario está autorizado a:

- a) visualizar el documento mediante el uso de un ordenador o dispositivo móvil.
- b) copiar, almacenar o imprimir si ha de ser de uso exclusivamente personal y privado.
- c) copiar textualmente parte(s) de su contenido mencionando la fuente y/o haciendo la referencia correspondiente respetando normas de redacción e investigación.

El usuario no puede publicar, distribuir o realizar emisión o exhibición alguna de este material, sin la autorización correspondiente.

**TODOS LOS DERECHOS RESERVADOS. EL USO NO AUTORIZADO DE LOS CONTENIDOS PUBLICADOS EN ESTE SITIO DERIVARA EN EL INICIO DE ACCIONES LEGALES CONTEMPLADOS EN LA LEY DE DERECHOS DE AUTOR.**

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y**  
**BIOQUÍMICAS**  
**CARRERA DE BIOQUÍMICA**



**SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE**  
**TIROIDES: ESTUDIO DE ASOCIACIÓN DEL SNP**  
**rs4658973 Y LOS POLIMORFISMOS *GSTM1* *GSTT1* EN**  
**PACIENTES QUE ACUDIERON AL INSTITUTO**  
**NACIONAL DE MEDICINA NUCLEAR 2012 - 2013**

Tesis de pregrado presentada para la obtención del Grado de Licenciatura

**POR: JOSUE EDSON BARRAL CLAVIJO**  
**TUTOR: NOEMI TIRADO BUSTILLOS MSC**

**LA PAZ - BOLIVIA**  
**Junio, 2014**



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y**  
**BIOQUÍMICAS**  
**CARRERA DE BIOQUÍMICA**



**SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE**  
**TIROIDES: ESTUDIO DE ASOCIACIÓN DEL SNP**  
**rs4658973 Y LOS POLIMORFISMOS *GSTM1* *GSTT1* EN**  
**PACIENTES QUE ACUDIERON AL INSTITUTO**  
**NACIONAL DE MEDICINA NUCLEAR 2012 - 2013**

**POR: JOSUE EDSON BARRAL CLAVIJO**

**TUTOR: NOEMI TIRADO BUSTILLOS MSC**

**LA PAZ - BOLIVIA**

**Junio, 2014**



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



*Todo el esfuerzo reflejado en el presente estudio dedico con mucho cariño*

*A Dios*

*Por darme la oportunidad de vivir*

*A mis paddres Fructuoso Barral y  
Marcela Clavijo*

*A mi hermano Cristian Barral Clavijo*

*Por todo el cariño y confianza depositada durante toda mi vida, por impulsar mi superación, a ellos debo mi vida.*



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



## AGRADECIMIENTO

A la **Dra. Noeimi Tirado**, mi asesora, agradecer por la oportunidad de realizar la tesis de pregrado junto con el equipo de Genética Toxicológica del Instituto de Genética y por ser una gran amiga.

Al **Instituto Nacional de Medicina Nuclear** por la contribución y el apoyo para la realización de la investigación ya que sin su apoyo este trabajo no se hubiera realizado.

Al **Dr. Taboada**, director del Instituto de Genética, por la amistad y paciencia para la terminación de la Tesis.

Al **Dr. Sergio Quisbert**, docente de MicroBiología General de la Facultad de Ciencias Farmaceuticas y Bioquimicas, por su paciencia y gran colaboracion en el manejo de las técnicas de Biología Molecular ya que sin él, este trabajo no hubiera sido posible.

A la **Dra. Ximena Aguilar**, Jefa del Laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Genética, por su cobertura en el laboratorio y sus enseñanzas.

Al **Lic. Pablo Almaraz** por su aceptación, ayuda e insentivo en el Laboratorio de Biología Molecular que Dios lo bendiga por la gran sabiduría que me brindo.

Al **Dr. Rolando Paz**, por la colaboracion en la toma de muestra de pacientes caso en el Hospital san gabriel, por su amistad brindada y por el impulso que me dio para lograr mi objetivo.

A la **Tec. Marina Cuti**, por la colaboración en la toma de muestras de los pacientes caso en el Hospital San Gabriel y los pacientes control, por su gran amistad dentro del área de Genética Toxicológica.



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



A la Dra. Yesica Barron, la Dra. Beátriz Luna, al Dr Frank Monzon, al Dr. Olair Miranda, al equipo de la Unidad de Citogenética la Dra. Erica Lafuente y la Dra. Ana Rada, la Dra. Jaqueline Cortez, a doña Roxana, don Sabino y don Claudio, pertenecientes al Intituto de Genética por brindarme el apoyo en todo el tiempo que permaneci en el Instituto.

A todos los docente de la Faculataad de Ciencias Farmaceuticas y Bioquimicas por la formacion recibida durante mi vida universitaria y académica





UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



**TABLA DE CONTENIDO**

|        |  |    |
|--------|--|----|
| I.     | INTRODUCCION Y JUSTIFICACIÓN   | 1  |
| II.    | OBJETIVOS  | 3  |
| 1.     | Objetivo General   | 3  |
| 2.     | Objetivos Específicos  | 3  |
| III.   | HIPOTESIS  | 4  |
| IV.    | MARCO TEORICO  | 5  |
| 1.     | LA GLANDULA TIROIDEA   | 5  |
| 1.1.   | Generalidades  | 5  |
| 2.     | PATOLOGIAS DE LA GLANDULA TIROIDES   | 8  |
| 2.1.   | Cáncer de Tiroides   | 8  |
| 2.1.1. | Carcinoma Papilar  | 9  |
| 2.1.2. | Carcinoma Folicular  | 10 |
| 3.     | FACTORES DE SUSCEPTIBILIDAD AL CÁNCER DE TIROIDES  | 11 |
| 3.1.   | Factores ambientales de susceptibilidad al cáncer de tiroides  | 11 |
| 3.2.   | Factores genéticos de susceptibilidad al cáncer de tiroides  | 13 |
| 3.2.1. | Genes de reparación del DNA  | 13 |
| 3.2.2. | Genes del ciclo celular  | 13 |
| 3.2.3. | Genes del metabolismo  | 14 |
| 4.     | REGIONES DEL GENOMA ASOCIADAS A LA SUSCEPTIBILIDAD AL CÁNCER DE TIROIDES                                       | 14 |
| 4.1.   | LA REGIÓN 1p12   | 14 |
| 4.1.1. | Gen <i>WDR3</i>  | 14 |
| 4.2.   | Regiones 1p13.3 y 22q11  | 15 |
| 4.2.1. | <i>GSTM1</i> ( $\mu$ )   | 15 |
| 4.2.2. | <i>GSTT1</i> ( $\tau$ )  | 15 |
| 5.     | ANALISIS DE VARIABILIDAD GENÉTICA EN LA POBLACIÓN  | 16 |
| 6.     | MARCADORES EMPLEADOS PARA EL ANALISIS DE LA <i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i> Y EL SNP rs4658973 del GEN <i>WDR3</i> | 17 |
| 6.1.   | Análisis del polimorfismo de la glutatión s-transferasa (GST)  | 17 |
| 6.1.1. | Gen que codifica la enzima <i>GSTM1</i>  | 17 |
| 6.1.2. | Gen que codifica la enzima <i>GSTT1</i>  | 17 |
| 6.2.   | Análisis del SNP rs4658973 del gen <i>WDR3</i>   | 19 |
| V.     | MATERIALES Y METODOS   | 20 |
| 1.     | POBLACIÓN EN ESTUDIO   | 20 |
| 2.     | TAMAÑO DE LA MUESTRA   | 21 |
| 3.     | TIPO DE INVESTIGACIÓN  | 21 |
| 4.     | ASPECTOS ÉTICOS  | 21 |
| 5.     | TOMA, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA  | 21 |
| 6.     | EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACION DEL ADN  | 22 |
| 7.     | AMPLIFICACION POR PCR (REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA) DEL GEN <i>GSTM1</i> Y <i>GSTT1</i>                | 22 |



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



|   |    |
|---|----|
| 8. AMPLIFICACION POR PCR-RFLP DEL rs4658973           | 23 |
| 9. ANÁLISIS DE RESULTADOS                             | 24 |
| VI. RESULTADOS  | 26 |
| 1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE RESULTADOS                 | 26 |
| 2. NÁLISIS DESCRIPTIVO DE <i>GSTM1</i> Y <i>GSTT1</i> | 28 |
| 3. ANALISIS DEL SNP rs4658973                         | 30 |
| VII. DISCUSIÓN  | 34 |
| VIII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES                  | 38 |
| IX. BIBLIOGRAFIA                                      | 40 |







UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



## RESUMEN

El Instituto Nacional del Cáncer define al cáncer de tiroides como el cáncer que se forma en la glándula tiroidea. Esta glándula de secreción interna, está situada en la parte anterior e inferior del cuello por delante de los primeros anillos de la tráquea y de las partes laterales de la laringe. El cáncer de tiroides papilar y folicular, es 2 a 4 veces más frecuente en mujeres que en varones, las primeras presentan un mejor pronóstico en comparación a los varones, para quienes se ha encontrado una alta progresión de malignidad.

La población en estudio fueron casos que acudieron al Instituto Nacional de Medicina Nuclear y personas voluntarias que fueron los controles (40 casos con sintomatología de cáncer de tiroides papilar o folicular y 40 controles), se utilizó los polimorfismos presentes de la *GSTM1*, *GSTT1* junto al SNP rs4658973, para analizar la susceptibilidad al cáncer de tiroides, el *GSTM1* dio un valor significativo con un OR 4 y IC (1,483-10,78) el test de U de Mann-Whitney ( $p=0,005$ ). Las frecuencias alélica y genotípica del alelo G fueron del 82% y 68% respectivamente, el equilibrio de Hardy-Weinberg para la población en estudio fue de ( $p= 0, 75$ ).

Los resultados concuerdan con la bibliografía, al tener el alelo presente del *GSTM1* en los casos, el alelo G del SNP rs4658973 se presentó en mayor proporción en controles indicando que el alelo presente de *GSTM1* y el alelo G del SNP rs4658973 actúan como protectores al padecer cáncer de tiroides.

Nuestro estudio brinda evidencia sobre la importancia de los polimorfismos *GSTM1*, y el SNP rs4658973 en la susceptibilidad a padecer cáncer de tiroides. Además se sugiere ampliar los factores de riesgo, que puedan brindar mayor información respecto a la enfermedad entendiendo que el cáncer es una enfermedad multifactorial.



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



**ABSTRACT**

The National Cancer Institute defines thyroid cancer as the cancer which grows in the thyroid gland. This endocrine gland, it's located in the anterior and lower of the neck, just anterior from the first rings of trachea and in the lateral region of the larynx. The papillary and follicular thyroid cancer are 2 to 4 times most frequent among women than men. The first one has a better prognosis compared to men, in who was demonstrated a high increasing to malignity.

The study population were cases that arrived to the National Nuclear Medicine Institute and volunteers were controls (40 cases with symptomatology of thyroid cancer, papillary or follicular and 40 controls), were used null polymorphisms and *GSTM1*, *GSTT1* with SNP rs4658973 to analyze the susceptibility for thyroid cancer, *GSTM1* was significant with an OR equal to 4 and IC (1,483-10,788) U Mann-Whitney ( $p=0,005$ ). The G allele's allelic and genotypic frequencies were respectively 82% and 68%, the Hardy-Weinberg's equilibrium was ( $p= 0, 75$ )

The outcomes coincided with bibliography because of the presence of null allele from *GSTM1* in the cases, the G allele from SNP rs4658973 appeared in high proportion of controls, suggesting that *GSTM1*'s null allele and SNP rs4658973's allele G act as protector against thyroid cancer.

Our study gives evidence about importance of *GSTM1* polymorphism and SNP rs4658973 on the susceptibility to suffer thyroid cancer. In addition it suggests extend risk factors that could give most information about the illness, understanding cancer such as a multifactorial entity



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



## I. INTRODUCCION Y JUSTIFICACIÓN

El NCI (National Cancer Institute) define al Cáncer de Tiroides (CT) como el cáncer que se forma en la glándula tiroidea (un órgano ubicado en la base de la garganta que produce hormonas que ayudan a controlar la frecuencia cardíaca, la presión arterial, la temperatura del cuerpo y el peso). Los cuatro tipos más importantes de cáncer de tiroides son; papilar, folicular, medular y anaplásico.

Ésta, es la neoplasia endocrina más común que representa el 1% del total de las neoplasias (Al-Brahim y Asa., 2006). El CT es 2 a 4 veces más frecuente en mujeres que en varones, las primeras presentan, un mejor pronóstico en comparación a los varones para quienes se ha encontrado una alta progresión de malignidad (Giusti et al., 2010).

Hay que señalar que la incidencia de CT se ha incrementado en los últimos años en todo el mundo. Este incremento puede deberse: un perfeccionamiento en el escrutinio diagnóstico, diversos factores ambientales como; físicos, químicos y biológicos, (Chen et al., 2009). Haciendo que el cáncer de tiroides sea una entidad multifactorial.

El 2012 la WHO (World Health Organization), estimó que existe una incidencia de **0.4** en varones y **1.3** en mujeres por cada 100.000 habitantes, que tienen cáncer de tiroides en todo el mundo. En la actualidad Bolivia no cuenta con registros detallados sobre la incidencia de este tipo de cáncer, los datos más relevantes son del GLOBOCAN 2012 (<http://globocan.iarc.fr/ia/TheAmericas/atlas.html>), indicando **1.3** en varones y **5.3** en mujeres por cada 100.000 habitantes en Bolivia, en la ciudad de La Paz no existen datos actuales sobre la incidencia de este tipo de cáncer los datos más próximos son de 1988 a 1992 por el Doctor Jaime Ríos Dalenz, dando una incidencia de; **1.5** en varones y **3.7** en mujeres por cada 100.000 habitantes. Sin embargo los datos son estimados, ya que no se cuenta con registros acerca del CT en la actualidad, haciéndose evidente la necesidad de realizar investigaciones en el tema.



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



A pesar de que se han identificado muchos factores genéticos y ambientales, la implicación genética en la susceptibilidad al cáncer de tiroides es poco entendida debida a los pocos estudios realizados. La glutatión s-transferasa (GST) es un gen que codifica a una gran familia de enzimas de la fase II de desintoxicación, la cual se ha encontrado en diferentes tipos de cáncer y enfermedades. La asociación de las enzimas de la fase II con el cáncer de tiroides son pocas y muestran resultados contradictorios, incluyendo tres estudios del Brasil con los mismos pacientes (Morari et al., 2002; Canbay et al., 2003; Hernandez et al., 2003; Gaspar et al., 2004; Granja et al., 2004a; Granja et al., 2005; Bufalo et al., 2006; Ho et al., 2006).

En la búsqueda de un marcador para la predicción de susceptibilidad genética a desarrollar cáncer de tiroides, se iniciaron investigaciones con la región THRA1 y el microsatélite BAT-40, las cuales no mostraron tener relevancia como marcadores de susceptibilidad al CT (Baida et al., 2005). Sin embargo a partir de estas regiones se iniciaron trabajos con el SNP rs4658973 (intrón 25 del gen *WDR3* que se encuentra en la región 1p12), la cual mostro estar relacionadas con la susceptibilidad al cáncer de tiroides en una población española (Baida et al., 2008; Akdi., et al 2010).

Por todo lo expresado, el presente estudio tiene como interés analizar el genotipo nulo y presente del polimorfismo *GSTM1*, *GSTT1* y la mutación del SNP rs4658973, en personas con diagnóstico de cáncer de tiroides papilar o folicular y un grupo control, además de estimar las frecuencias génicas del SNP rs4658973 como posible marcador de susceptibilidad al Cáncer de Tiroides en la población de estudio en Bolivia.



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



## II. OBJETIVOS

### 1. Objetivo General

Analizar la susceptibilidad genética al cáncer de tiroides evaluando el SNP rs4658973 del gen *WDR3* y dos polimorfismos de la glutatión- s- transferasa, *GSTM1* y *GSTT1* siguiendo un estudio prospectivo de caso y control.

### 2. Objetivos Específicos:

- ☞ Determinar la implicación de los polimorfismos *GSTM1* y *GSTT1* en la susceptibilidad al cáncer de tiroides, analizando los alelos nulos y presentes, en casos y controles.
- ☞ Comparar la proporción de alelos nulos y presentes de *GSTM1* y *GSTT1* con los factores de riesgo.
- ☞ Determinar la implicación del SNP rs4658973 en casos y controles
- ☞ Analizar el SNP rs4658973 con el fin de identificar un posible marcador de susceptibilidad al cáncer de tiroides
- ☞ Determinar las frecuencias génicas del SNP rs4658973, en la población de estudio.



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



### III. HIPOTESIS

**H1.** La delección de los polimorfismos *GSTM1*, *GSTT1* y la mutación del SNP rs4658973 están relacionados con la susceptibilidad al cáncer de tiroides papilar y folicular.

**H0.** La delección de los polimorfismos *GSTM1*, *GSTT1* y la mutación del SNP rs4658973 no están relacionados con la susceptibilidad al cáncer de tiroides papilar y folicular.



### IV. MARCO TEORICO

#### 1. LA GLANDULA TIROIDEA.

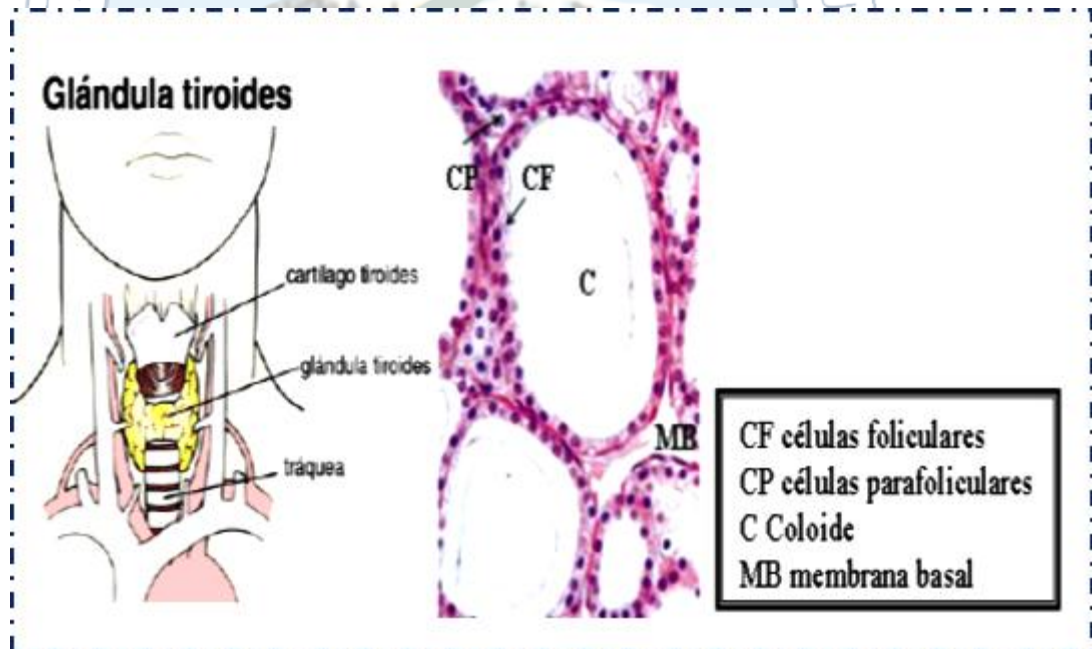


### 1.1.Generalidades.

El cuerpo tiroides es una glándula de secreción interna situada en la parte anterior e inferior del cuello por delante de los primeros anillos de la tráquea y de las partes laterales de la laringe (Figura 1).

A nivel histológico, está formado por los folículos tiroideos, unidades de estructura esférica formadas por células foliculares en su exterior y una sustancia coloide interna. En los folículos se produce la síntesis de las hormonas T3 (triyodotironina), T3 reversa (biológicamente inactiva) y T4 (tiroxina). Entre los folículos encontramos también otro tipo de células, las parafoliculares o células C, en donde se produce la calcitonina.

Figura 1: Ubicación anatómica e histología tiroidea (modificado de <http://www.biosbcc.net/barron/physiology/endo> y [www.med.umich.edu](http://www.med.umich.edu))



El yodo es esencial para la síntesis y secreción de las hormonas tiroideas, lo cual exige los siguientes pasos:



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



**a) Captación de yoduro (Bombas de yoduros):** Las células foliculares captan el yoduro circulante de la sangre y lo transportan al interior a través del co-transporte con dos iones de sodio ( $\text{Na}^+$ ).

**b) Síntesis de la tiroglobulina:** Esta glicoproteína la sintetiza las células foliculares y la vierten al colide mediante exocitosis junto con *peroxidasa tiroidea*.

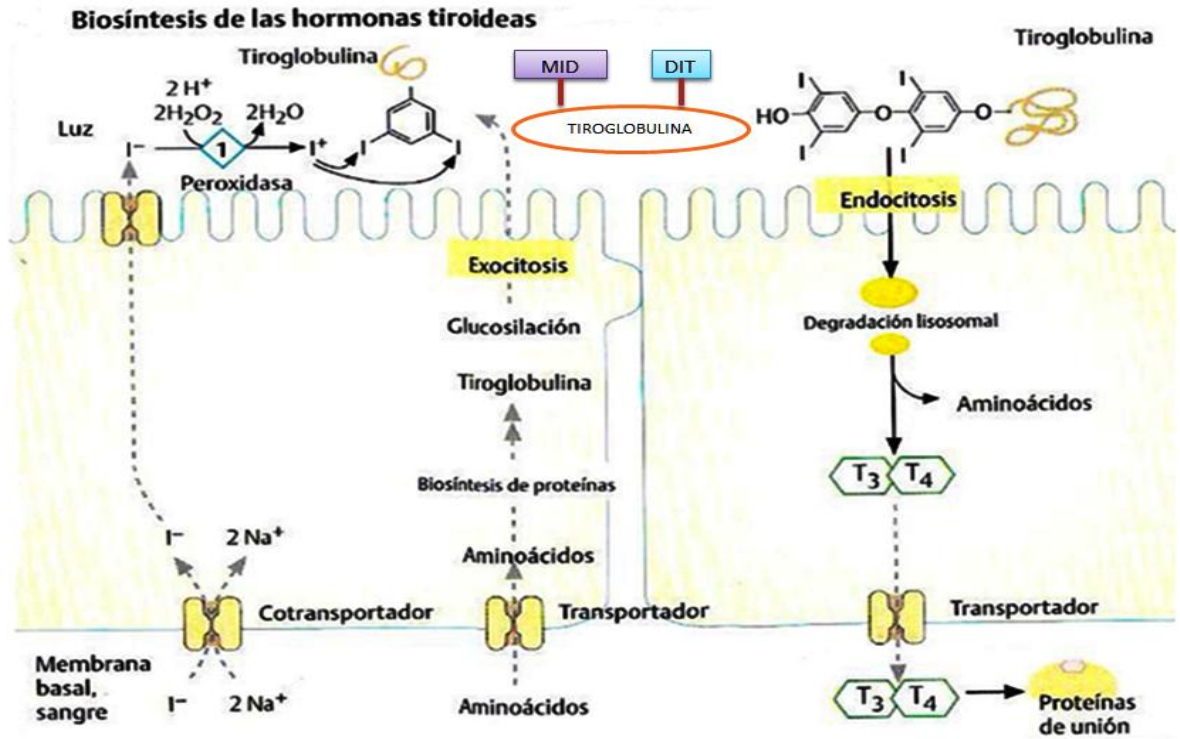
**c) Oxidación de yoduro:** El yoduro captado por la glándula se oxida rápidamente por acción de la *peroxidasa tiroidea* que deja al yodo libre.

**d) Yodación y acoplamiento:** Después de oxidarse de yoduro a yodo, este se une rápidamente a la posición 3 de la molécula de tirosina, que contiene la tiroglobulina formando la monoyodotirosina (MIT). A continuación se produce una nueva yodación de la MIT en la posición 5, dando diyodotirosina (DIT). Después se unen dos moléculas de DIT para formar la tiroxina o T4 el principal producto de acoplamiento, o bien se une, una sola molécula de MIT y otra de DIT para formar la triyodotironina o T3.

**e) Proteólisis, desyodación y secreción:** Para que la T3 y la T4 pasen a la sangre es necesaria la proteólisis de la tiroglobulina. El colide que se encuentra en la luz de los folículos es captado por endocitosis a través de la superficie apical de las células foliculares. Seguidamente, las vesículas de colide migran desde la membrana basal de la célula y se fusionan con los lisosomas. Las proteasas lisosómicas separan a la T3 y la T4, que quedan libres y salen de la célula. La MIT y la DIT liberadas no pasan a la sangre sino que son desyodadas dentro de las células foliculares por la enzima *desyodasa*; el yodo liberado es reutilizado para síntesis hormonal. (Figura 2)

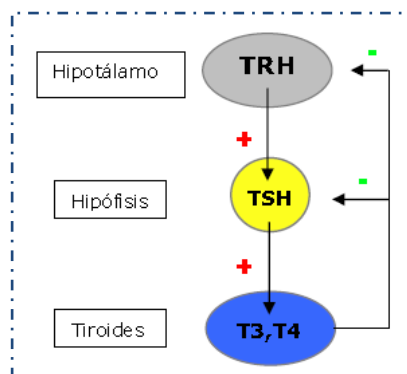
Figura 2. Síntesis y secreción de las hormonas tiroideas





A su vez, la síntesis y secreción de las hormonas tiroideas está controlada por la hormona estimulante del tiroides o tirotrópina (TSH), que se sintetiza en la hipófisis. El control consiste en un mecanismo de retroalimentación negativa (Figura 3), que se lleva a cabo a partir del hipotálamo, mediante la hormona liberadora de tirotrópina o TRH, que estimula la síntesis y secreción de TSH.

Figura 3. Control de la función tiroidea por retroalimentación negativa. (Adaptado de <http://arbl.cvmb.colostate.edu/>)





## **2. PATOLOGÍAS DE LA GLÁNDULA TIROIDES.**

Las patologías de la glándula tiroidea son variadas, tanto en su etiopatogenia, como en su severidad, pronóstico y tratamiento.

Se manifiestan como una alteración (exceso o defecto) de la secreción hormonal y como un aumento del tamaño de la glándula, de forma independiente o conjunta. Así, la secreción disminuida de la hormona origina hipotiroidismo (o mixedema), y la secreción excesiva produce hipertiroidismo (o tirotoxicosis).

El aumento del tamaño de la glándula puede ser generalizado o focal. Si es generalizado será un bocio. Si es focal puede crecer formando un nódulo o varios. Éstos se originan a partir de células foliculares y se pueden detectar en glándulas tiroideas de tamaño normal y en bocios. El 95% de los nódulos tiroideos son benignos, pero algunos derivan hacia la malignidad (carcinoma tiroideo).

El grupo más vulnerable a estas alteraciones son las mujeres, en éstas la presencia de una disfunción tiroidea alcanza cifras que triplican a las observadas en los hombres.

Las patologías tiroideas pueden ser tratadas médica y/o quirúrgicamente. El hipotiroidismo, hipertiroidismo con bocio difuso o nodular pequeño, el bocio uni o multinodular, son ejemplos de patologías de resolución generalmente médica. Por su parte, el bocio de gran tamaño o sintomático, el hipertiroidismo refractario al tratamiento médico y el cáncer de tiroides son de tratamiento quirúrgico (León, 2005).

### **2.1. Cáncer de Tiroides**

El carcinoma tiroideo es un cáncer poco frecuente, ya que representa el 1% de todos los tipos de neoplasias registrados en el mundo (WHO, 1993), excluyendo las cutáneas. Sin embargo, algunas estadísticas indican que su incidencia ha ido aumentando durante la segunda mitad del siglo XX y, en particular en el último decenio. Algunos países han llegado a quintuplicar el número de casos respecto a décadas precedentes (NCI, 2013).



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



El cáncer tiroideo se puede presentar asociado con otros cánceres de origen hereditario y síndromes familiares, aunque se trata de un porcentaje muy pequeño de casos. A pesar de su baja incidencia, tiene gran trascendencia en endocrinología, ya que es la neoplasia maligna más común del sistema endocrino (90 % de ellos) y contribuye en más del 50% de las muertes por cáncer endocrino (Akslen et al., 1993; Nagataki et al., 2002).

El centro internacional de la OMS (Organización Mundial de la Salud) clasificó las neoplasias tiroideas, según lo establecido en el Departamento de Anatomía Patología de la Universidad de Zúrich, bajo la dirección de los doctores E. Uehling y R. Gérard-Marchant, luego de un proceso de consulta a nivel mundial se adoptó en 1972 la siguiente clasificación de los tumores tiroideos Tabla 1 (Perinetti H, 2000).

**Tabla 1. Clasificación de las neoplasias tiroideas por la OMS**

|      |   |
|------|---|
| I.   | TUMORES EPITELIALES   |
| A.   | <i>BENIGNOS</i> 1) ADENOMA FOLICULAR<br>2) OTROS  |
| B.   | <i>MALIGNOS</i> 1) CARCINOMA PAPILAR<br>2) CARCINOMA FOLICULAR<br>3) CARCINOMA INDIFERENCIADO O ANAPLÁSICO<br>a. Tipo de células fusiformes<br>b. Tipo de células Gigantes<br>c. Tipo de células pequeñas<br>4) CARCINOMA MEDULAR<br>5) OTROS |
| II.  | TUMORES NO EPITELIALES  |
| A.   | <i>BENIGNOS</i>   |
| B.   | <i>MALIGNOS</i>   |
| III. | LINFOMA MALIGNOS  |
| IV.  | TUMORES MISCELÁNEOS   |
| V.   | TUMORES SECUNDARIOS   |
| VI.  | TUMORES NO CLASIFICABLES  |
| VII. | LESIONES SEUDOTUMORALES   |

**2.1.1. Carcinoma Papilar:** Es un tumor epitelial maligno que muestra evidencia de diferenciación folicular y características nucleares distintivas. Inmunohistoquímicamente sus células son positivas para tiroglobulina (Tg) y el factor tiroideo de transcripción (TTF-1) (Leenhardt L., 2004). Es la neoplasia tiroidea más frecuente, con una incidencia mayor en el género



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



femenino (4:1). Se caracteriza por ser una neoplasia de baja malignidad, con una supervivencia superior al 98% a los 5 años de seguimiento (Randolph GW., 2003). Se descubre generalmente por un nódulo palpable o una adenopatía cervical. La punción-aspiración con aguja fina (PAAF) desempeña un papel fundamental en su diagnóstico pre-quirúrgico y de metástasis cervical. La metástasis es usualmente por vía linfática, también hematogena en órganos distantes (Mazzaferri E., 1981), sin afectar la mortalidad en pacientes menores de 45 años, mientras que a partir de los 45 años en adelante la afectación ganglionar se asocia con mayor recurrencia y mortalidad. Las alteraciones genéticas más frecuentes del carcinoma papilar son el reordenamiento RET/PTC y de TRK, mutaciones de RAS y mutaciones de BRAF. Se ha descrito la asociación del RET/PTC con las variantes sólida y de células claras, además el antecedente de radiación (Li Volsi VA, et al., 2004), (Xu GF., 2003).

**2.1.2. Carcinoma Folicular:** Es un tumor epitelial maligno que muestra evidencia de diferenciación celular folicular y carencia de los rasgos nucleares diagnósticos de carcinoma papilar. Inmunohistoquímicamente sus células son Tg y TTF-1 positivas (Sobrinho-Simoes M, et al., 2004). Su incidencia es del 10 al 15% de los tumores malignos clínicamente evidentes. La incidencia es más elevada en áreas geográficas deficitarias de yodo (Harach HR., 2002). Aparece más frecuente en mujeres que en varones y usualmente en personas mayores, en la quinta década y son raros en niños. Clínicamente se presentan como un tumor que por lo general es de mayor tamaño que la de un carcinoma papilar y hace metástasis en su mayoría por vía hematogena. La punción-aspiración con aguja fina (PAAF) no es útil para su diagnóstico y tampoco la biopsia intraoperatoria, dado que no distingue invasión vascular y/o capsular que lo confirme. Se han descrito alteraciones genéticas somáticas (desequilibrio cromosómico, reordenamiento PPAR, mutaciones



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



RAS, TP53, PTEN, alfa-catenina y variantes del mtADN). El pronóstico de los carcinomas foliculares mínimamente invasivos tienen una mortalidad a largo plazo muy baja (3-5%), y las curvas de supervivencia se aproximan a las de la población general. Los carcinomas foliculares extensamente invasivos tienen una morbimortalidad a largo plazo de aproximadamente el 50%, y en algunos de ellos existen antecedentes de cirugía conservadora.

### **3. FACTORES DE SUSCEPTIBILIDAD AL CÁNCER DE TIROIDES.**

El cáncer de tiroides es un proceso modulado por factores tanto genéticos como ambientales. Así, la exposición a la radiación, el consumo de yodo, factores hormonales y los antecedentes familiares son supuestos factores de riesgo del carcinoma de tiroides.

#### **3.1. Factores ambientales de susceptibilidad al cáncer de tiroides.**

La exposición a la radiación se asocia con el carcinoma papilar, como lo demuestran las secuelas de las bombas atómicas de Hiroshima y Nagasaki (1945), los ensayos nucleares en las Islas Marshall (1954) y en Nevada (1951-1962) y el accidente nuclear más reciente de Chernobyl (1986) (Kazakov et al., 1992).

No está claro si esto se debe a que la tiroides es más susceptible a la radiación en la infancia, o si es un reflejo del hecho de que los niños bebieron más leche contaminada, aumentando su exposición a la radiación, o a ambos factores (Williams, 2002). La radiación de la cabeza y el cuello durante la infancia, para el tratamiento de lesiones benignas también aumenta el riesgo de carcinoma papilar (Ron et al., 1995)

El carcinoma folicular es más frecuente en áreas con deficiencia de yodo, por el contrario, el carcinoma papilar es el tipo de cáncer de tiroides más frecuente en regiones con dieta abundante en yodo, Figura 4. (Harach et al., 2002).

La mayoría de los carcinomas de tiroides bien diferenciados se manifiestan en pacientes de 20-50 años de edad, y la enfermedad es 2 a 4 veces más frecuente en



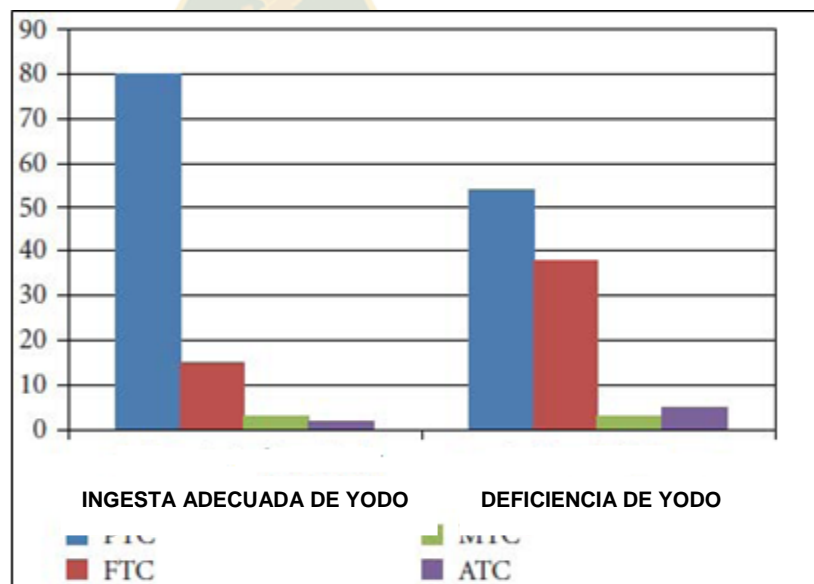
## UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



mujeres que en hombres. Estas distribuciones por género y edad sugieren que la incidencia de hormonas femeninas podría regular la carcinogénesis tiroidea. De hecho, el receptor de estrógeno se expresa en las células foliculares y el estrógeno promueve la proliferación de estas células (Kawabata et al., 2003; Lee et al., 2005). Sin embargo, no existe una relación clara entre el cáncer de tiroides y el embarazo o el uso de hormonas sexuales (Haselkorn et al., 2003).

Aunque el tabaco se considera como el principal factor de riesgo externo del cáncer en general, en el caso del cáncer de tiroides, se ha observado que los fumadores tienen un 40% menos riesgo de desarrollar cáncer de tiroides que los no fumadores (Rossing et al., 2000; Negri et al., 2002; Mack et al., 2003). Se proponen diversos mecanismos para explicar esta relación inversa entre el consumo de tabaco y el riesgo a desarrollar cáncer de tiroides. El primero se relaciona con la secreción de TSH, se considera que los niveles elevados de TSH incrementan el riesgo de cáncer de tiroides, y estos niveles son más bajos en los fumadores. Finalmente, se plantea que los fumadores tienen una mayor capacidad metabólica para inactivar los estrógenos hepáticos, con lo cual disminuye la biodisponibilidad de estas hormonas en los sitios dianas (Mack et al., 2003).

Figura 4. Contribución del yodo de los alimentos en la tumor-génesis del tiroides (Giusti et al. 2010). ATC: cáncer anaplásico; FTC: cáncer folicular; MTC: cáncer medular; PTC: cáncer papilar.





### **3.2. Factores genéticos de susceptibilidad al cáncer de tiroides**

La considerable variación étnica de la prevalencia del cáncer de tiroides (más frecuente en los judíos y población indígena de Hawái) puede ser un indicador de que el riesgo de padecerlo está regulado genéticamente. Se acepta que la historia familiar es un riesgo más para desarrollar esta enfermedad (3-5% de los pacientes que desarrollan el cáncer papilar y 20-25% que desarrollan cáncer medular).

En las familias con cáncer papilar de tiroides, se encuentra en varios miembros del árbol genealógico y se hereda como una enfermedad autosómica dominante con una penetrancia incompleta. Se ha indicado que los miembros de la familia afectados muestran mayor agresividad del tumor que en la población general.

El análisis de la susceptibilidad al cáncer de tiroides se ha basado principalmente en genes candidatos: genes de reparación del DNA y genes que controlan el ciclo celular, genes del metabolismo y genes implicados en la función tiroidea. Asimismo, estudios de asociación con todo el genoma también han permitido la identificación de regiones en el genoma implicados en el riesgo al cáncer de tiroides, involucrando diversos genes.

**3.2.1. Genes de reparación del DNA:** El mayor riesgo de cáncer de tiroides se encontró con el gen CHEK2 (OR 4,9; P = 0,0006), (Cybulski et al., 2004) y XRCC3 (OR 2,1; P = 0,004) (Sturgis et al., 2005). No se ha encontrado asociación con los polimorfismos analizados de los genes XRCC7, RAD51, RAD52, BRCA1 y BRCA2 y el riesgo de desarrollar el cáncer de tiroides (Sturgis et al., 2005).

**3.2.2. Genes del ciclo celular:** Los distintos estudios de polimorfismos en genes que controlan el ciclo celular y su asociación con el cáncer de tiroides incluyen: P53, FAS, CDKN2A y VEGF. El polimorfismo que produce la sustitución Pro72 por Arg72 en el gen P53 incrementa la inducción de la apoptosis, lo que podría afectar el riesgo de desarrollar el cáncer (Dumont et al., 2003).



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



**3.2.3. Genes del metabolismo:** Las enzimas de la fase I del metabolismo (CYP) degradan productos xenobioticos, produciendo intermediarios que serán eliminados por las enzimas de la fase II (GST). Un aumento de riesgo de cáncer de tiroides se observó en variantes alélicas de CYP1A1 y CYP2D6 (Bufalo et al., 2006; Lemos et al., 2007).

#### **4. REGIONES DEL GENOMA ASOCIADAS A LA SUSCEPTIBILIDAD AL CÁNCER DE TIROIDES.**

Recientes estudios de asociación han permitido identificar varias regiones del genoma relacionadas con el cáncer de tiroides 1p12, 1p13.3, 8q24, 9q22.33 y 14q13.3, 22q11 Estos estudios se llevan a cabo analizando todo el genoma o regiones concretas del genoma.

##### **4.1.LA REGIÓN 1p12**

La región 1p12 presenta distintos tipos de aberraciones (Rudolph et al., 1988; Vernole et al., 1989; Bieche et al.1994; Zhang et al., 1999), incluyendo reordenaciones cromosómicas (Mitelman et al., 1997; Jin et al., 1998). Este cromosoma no solamente está implicado en el cáncer de tiroides sino en varios tipos de cáncer (Zhang et al., 1999; Smedley et al., 2000). En estudios previos realizados por Baida y Akdi sugieren una implicación en la etiología al cáncer de tiroides.

**4.1.1. Gen *WDR3*:** El gen *WDR3* (WD repeat domain 3) fue clonado y mapeado en el cromosoma 1p12 (Claudio et al., 1999). Su tamaño es de 30,8 kb, consta de 27 exones y codifica para una proteína de 943 aminoácidos. Esta proteína pertenece a la familia de proteínas WDR, que están muy conservadas, presentan repeticiones WD que son unidades de aproximadamente 40 aminoácidos que comienza por el di péptido Gly-His (extremo amino terminal) y finaliza con un di péptido Trp-Asp (extremo carboxilo terminal). Están implicadas en muchos procesos celulares, como la progresión del ciclo





UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



celular, traducción de señales, apoptosis y regulación génica (van der Voorn y Ploegh, 1992; Neer et al., 1994; Smith et al., 1999). Dentro de este gen está situado el SNP rs4658973 que se encuentra en el intrón 25 él que se sugiere como marcador de susceptibilidad al cáncer de tiroides (Baida et al., 2005; Akdi et al., 2010).

#### **4.2.Regiones 1p13.3 y 22q11.**

La glutation-s-transferasa (GST), es una familia de enzimas solubles, diméricas y multigénicas: incluyen las tipo alfa ( $\alpha$ ), mu ( $\mu$ ), pi ( $\pi$ ), zeta ( $\zeta$ ), sigma ( $\sigma$ ), kappa ( $\kappa$ ), omega ( $\omega$ ) y theta ( $\tau$ ), con amplia distribución sub-celular están involucradas en el metabolismo de xenobióticos, son polimórficas y han sido asociadas a susceptibilidad a cáncer (Raunio H., 1995; Vainio H., 1998).

**4.2.1. *GSTM1* ( $\mu$ ),** fue encontrada en el cromosoma 1p13.3 es una isoenzima que desintoxica metabolitos de HAPs (Hidrocarburos aromáticos policíclicos) (Ketterer B., 1992) Esta enzima tiene una actividad deficiente en aproximadamente 50% de la población caucásica (Harada S., 1987). Se ha demostrado que la pérdida de esta actividad desintoxicante se debe a la herencia de una deleción homocigota del gen (Seidegard J., 1988), la cual varía con la etnia. La expresión de estos alelos parece ser diferencialmente regulada y tiene consecuencias clínicas que explican el riesgo diferencial a varias patologías, incluyendo el cáncer.

**4.2.2. *GSTT1* ( $\tau$ ),** está localizado en el cromosoma 22q11, se ha identificado dos genes *GSTT1* y *GSTT2* (Coggan M., 1998; Rebbeck TR., 1999). Los principales substratos de *GSTT1*son diclorometano, óxido de etileno, 1,3-butadieno y etano, contenidos en el humo del cigarrillo. El genotipo *GSTT1*nulo (ausencia de actividad) se presenta en aproximadamente 38% de la población británica (Pemble S., 1994).



## 5. ANALISIS DE VARIABILIDAD GENÉTICA EN LA POBLACIÓN.

El análisis teórico-matemático de los mecanismos evolutivos es el objeto de estudio de la genética de poblaciones una rama de la ciencia de la herencia biológica que estudia los aspectos genéticos, no desde una perspectiva individual, sino desde el punto de vista de su significado con respecto a la población, se denomina frecuencia génica a la frecuencia o proporción de un gen, en relación con su(s) alelo(s) en una población.

La denominación ley de Hardy-Weinberg fue formulada en 1908 independientemente por el matemático G.H. Hardy en Inglaterra y por el médico Wilhelm Weinberg en Alemania. Esta ley indica que, por sí mismo, el proceso de la herencia no cambia ni las frecuencias alélicas (en poblaciones con apareamiento al azar) ni las frecuencias genotípicas de un locus dado. Además las frecuencias genotípicas de equilibrio en cualquier locus dado se logran en una sola generación de apareamiento al azar siempre que las frecuencias alélicas sean las mismas en los dos sexos.

Dicho teorema establece que, si el apareamiento entre los individuos es aleatorio, en ausencia de factores evolutivos (selección, mutación, etc.) las frecuencias génicas se mantienen estables de generación en generación. De este modo, dado un gen  $A_1$  y  $A_2$ , las frecuencias génicas,  $p$  y  $q$ , pueden expresarse en función de las de los genotipos (frecuencias genotípicas), en un equilibrio que se alcanza después de una sola generación de apareamiento aleatorio

Efectivamente si denominamos respectivamente,  $P$ ,  $H$  y  $Q$  a las frecuencias de los tres genotipos  $A_1A_1$ ,  $A_1A_2$  y  $A_2A_2$ , es fácilmente demostrable que  $p = P + 1/2H$ , y  $q = Q + 1/2H$ . La ley de Hardy-Weinberg es la piedra angular sobre lo que se asienta el edificio de la genética de poblaciones que estudia cómo los distintos fenómenos evolutivos alteran las frecuencias génicas.



## **6. MARCADORES EMPLEADOS PARA EL ANALISIS DE LA *GSTM1*, *GSTT1* Y EL SNP rs4658973 del GEN *WDR3*.**

### **6.1. Análisis del polimorfismo de la glutatión s-transferasa (GST).**

Los genes que codifican los enzimas GSTs son polimórficos; estas variantes han sido asociadas con aumento de la susceptibilidad a enfermedades inflamatorias como el asma, alergias y artritis reumatoide, además con el riesgo de padecer diversos tipos de cáncer como: tiroides, mama, pulmón o próstata, así como en enfermedades cardiovasculares.

**6.1.1. Gen que codifica la enzima *GSTM1*:** Este gen presenta diversos tipos de polimorfismos que han sido caracterizados, los cuales incluyen cambios en una sola base nitrogenada los alelos *GSTM1*<sup>A</sup> y *GSTM1*<sup>B</sup>, duplicaciones del gen *GSTM1*<sup>\*</sup> 1x2 y una delección que origina al genotipo identificado como *GSTM1*<sup>\*</sup> 0 o alelo nulo. Los alelos *GSTM1*<sup>A</sup> y *GSTM1*<sup>B</sup> codifican para la proteína *GSTM1A* y *GSTM1B* las cuales difieren de un solo aminoácido. La *GSTM1*<sup>A</sup> contiene lisina en posición 172 y *GSTM1*<sup>B</sup> arginina en la misma posición, el *GSTM1*<sup>\*</sup> 1x2 ocurre por un mal alineamiento de las cromátides hermanas seguido por un evento de recombinación desigual entre ellas y su resultado es un gran segmento de DNA que contienen dos *GSTM1* en tándem. La delección del gen *GSTM1* que ocurre por una recombinación desigual entre dos regiones altamente conservadas de 4.2 kb que se ubican en los extremos 5' y 3' llevando la pérdida de un segmento de 18 kb. La recombinación se produce por la unión de los dos segmentos repetidos que flanquean al gen, en una región "hotspot" de aproximadamente 23 kb que no codifica para la proteína *GSTM1*. (Chávez., 2011). (Figura 5 A)

**6.1.2. Gen que codifica la enzima *GSTT1*:** Este gen está formado por 5 exones y tiene una longitud de 8 kb; se encuentra separado del gen *GSTT2* por un segmento aproximado de 49,741 pb. Al igual que ocurre con *GSTM1*, el gen

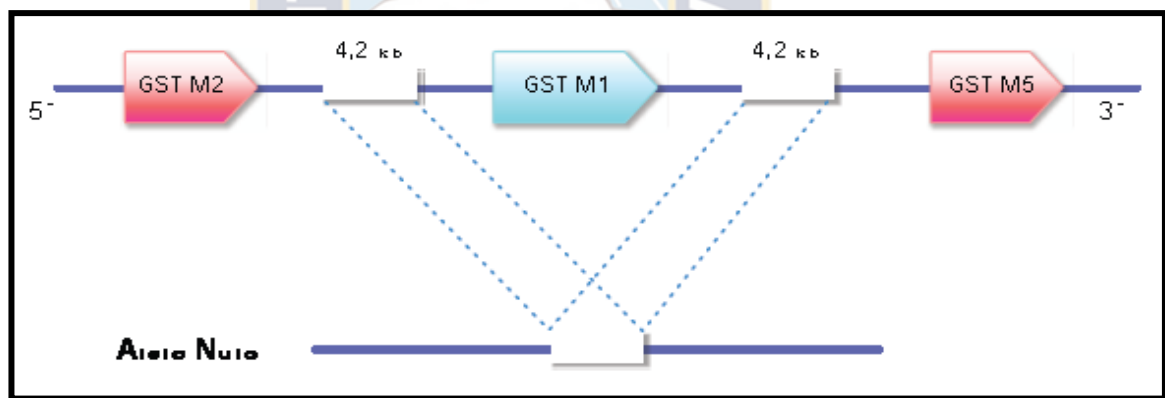


UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES

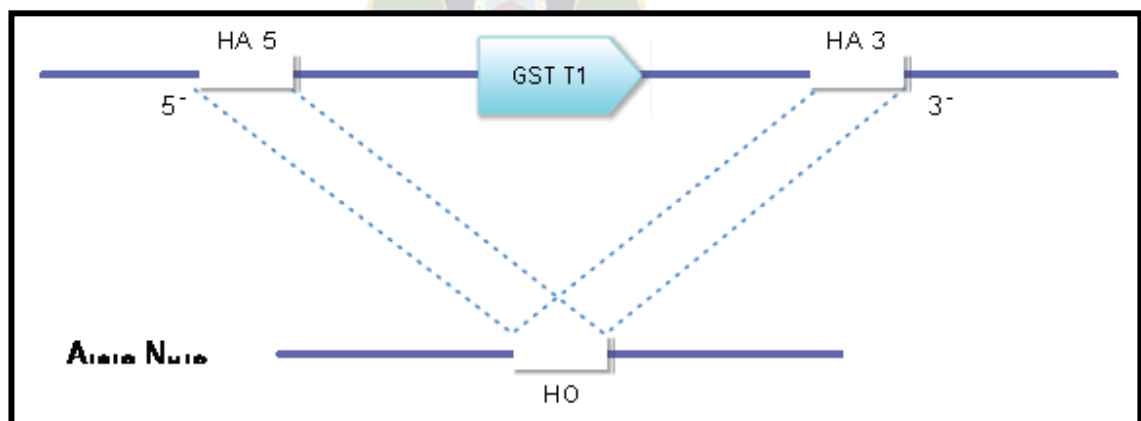


sufre una deleción debido a un proceso de recombinación homóloga entre dos segmentos de aproximadamente 18 kb los cuales flanquean a GSTt, estos segmentos tienen una homología del 90 %. Los puntos de recombinación se encuentran ubicados, uno entre los genes GSTt2 y *GSTT1* y el otro corriente abajo del gen *GSTT1*. Cuando se produce la deleción se forma el segmento conocido como H0 que difiere en algunos nucleótidos de las dos secuencias homólogas que se fusionan. Este polimorfismo en estado homocigoto (genotipo nulo) lleva a la pérdida total de la actividad enzimática y es detectado por la ausencia del fragmento que corresponde al gen una vez amplificado mediante PCR. (Chávez., 2011). (Figura 6)

**Figura 5.** Mecanismo de la deleción del gen *GSTM1*. (Modificado de Timofeeva y cols)



**Figura. 6.** Mecanismo de la deleción del gen *GSTT1*. (Modificado de Sprenger y cols.)

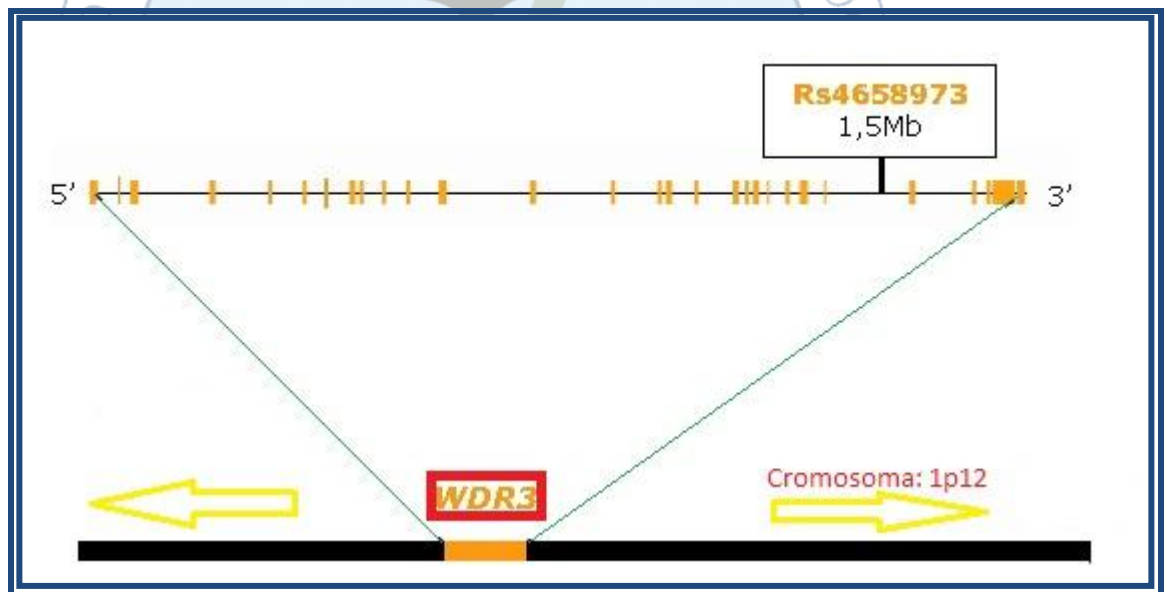




## 6.2. Análisis del SNP rs4658973 del gen *WDR3*.

Estudios realizados con el microsatélite BAT-40, (Baida et al., 2008) muestran asociación de la región 1p13 con la susceptibilidad al cáncer de tiroides, otros estudios delimitaron con más detalle la región de susceptibilidad, analizando 6 polimorfismos (SNPs) situados alrededor del marcador BAT-40, y 10 SNPs en estudios para determinar si el gen *WDR3* es predisponente al cáncer de tiroides (Akdi et al., 2010), el SNP rs4658973 (intrón 25 del gen *WDR3*, n° de acceso GenBank 10885) fue identificada como un posible marcador de susceptibilidad, sugiriendo su implicación en la etiología del cáncer de tiroides. Figura 7.

Figura 7. Posición del SNP rs4658973 en el gen *WDR3*



Los resultados encontrados en bibliografía indican que los alelos nulos del polimorfismo GST; M1 y T1 tienden a estar involucrados en el cáncer de tiroides junto al SNP rs4658973. Es posible que estos marcadores sean útiles en el diagnóstico de personas con sintomatología tiroidea papilar o folicular. Es por esta razón que se pretende evaluar a estos marcadores en un estudio prospectivo caso control.



## V. MATERIALES Y METODOS

### 1. POBLACIÓN EN ESTUDIO.

En el presente estudio se trabajó con dos grupos, uno de casos y otro de controles, los cuales ingresaron al estudio de forma voluntaria con previa firma de un consentimiento informado.

Los casos fueron pacientes con edades comprendidas entre los 20 y 70 años con diagnóstico de Cáncer de Tiroides Papilar o Folicular, que fueron sometidos a tiroidectomía y que recibieron tratamiento con I<sup>131</sup> en el Hospital San Gabriel. Se tomaron en cuenta los criterios de Exclusión en los pacientes con diagnóstico de Cáncer de Tiroides y criterios de Inclusión y Exclusión en los pacientes control.

#### A. *CRITERIOS DE INCLUSION DE CASOS*

- ☞ Pacientes con diagnóstico de cáncer de tiroides diferenciado.
- ☞ Pacientes que aceptaron firmar el consentimiento informado.
- ☞ Pacientes con edades comprendidas entre 20 a 70 años.

#### B. *CRITERIO DE EXCLUSIÓN DE CASOS*

- ☞ Pacientes sin diagnóstico de cáncer de tiroides diferenciado.

#### C. *CRITERIOS DE INCLUSION DE CONTROL*

- ☞ Personas que no padecen ningún tipo de cáncer.
- ☞ Personas sin sintomatología tiroidea.
- ☞ Personas con edades comprendidas entre 20 y 70 años.

#### D. *CRITERIOS DE EXCLUSION DE CONTROLES*

- ☞ Personas con diagnóstico de cualquier tipo de cáncer y familiares en primer grado



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



## **2. TAMAÑO DE LA MUESTRA**

En el presente trabajo participaron 40 pacientes con diagnóstico de cáncer de tiroides folicular o papilar y 40 individuos controles sin diagnóstico de patología tiroidea. Los pacientes con cáncer de tiroides se reclutaron en colaboración con el Instituto Nacional de Medicina Nuclear (INAMEN) y el Hospital San Gabriel, ambos de la Ciudad de La Paz; los controles fueron voluntarios de la Ciudad de La Paz teniendo en cuenta que el grupo fuera lo más similar posible a los casos, en cuanto al género y la edad

## **3. TIPO DE INVESTIGACIÓN**

El tipo de investigación es de un estudio prospectivo caso control

## **4. ASPECTOS ÉTICOS**

La presente investigación contó con la aprobación del Comité Nacional de Bioética de Investigación de la Universidad Mayor de San Andrés. Aprobando el proyecto de investigación como los documentos de consentimiento informado y la hoja informativa del proyecto.

## **5. TOMA, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA.**

En el presente estudio, se tomó 5 ml de sangre venosa al vacío en tubos de ensayo con EDTA, después que los sujetos aceptaran entrar en el estudio y firmar el consentimiento informado. Los pacientes con diagnóstico de cáncer de tiroides folicular o papilar, fueron reclutados cada lunes durante 11 meses en el Hospital San Gabriel de la ciudad de La Paz, las muestras se trasladaron a la Unidad de Genética Toxicológica del Instituto de Genética perteneciente a la Facultad de Medicina de la Universidad Mayor de San Andrés (UMSA), las mismas fueron refrigeradas a 4 °C hasta su respectiva extracción de DNA genómico de sangre total. Los control fueron personas voluntarias según los criterios de inclusión y se reclutaron durante 2 meses en la Unidad de Genética Toxicológica y las muestras se refrigeradas a 4 °C hasta su respectiva



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



extracción de DNA genómico de sangre total, los grupos de casos y controles no tenían una relación familiar

## 6. EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACION DEL ADN

La extracción de ADN total se realizó con el Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, USA), para la extracción del DNA genómico a partir de sangre total.

Brevemente el método consistió en: tomar 300µl de sangre periférica y se mezcló con 900µl de solución de lisis celular e incubó por 10 minutos a temperatura ambiente; se centrifugó y desechó el sobrenadante, luego se añadió 300 µl de solución de lisis de núcleos se mezcló vigorosamente por 20 segundos en vortex y se agregó 100 µl de solución desproteinizante, se centrifugó y trasvasó el sobrenadante a otro tubo; se añadió 300 µl de alcohol isopropílico frío para precipitar el ADN, luego se realizó un lavado con 300 µl de etanol y se dejó secar a temperatura ambiente. Finalmente se suspendió el sedimento con 100 µl de solución de rehidratación de DNA y se almacenó hasta su posterior análisis a una temperatura de -20°C.

Para saber el rendimiento de la extracción de DNA, se cuantificó las muestras en una corrida electroforética horizontal con gel de agarosa al 1% y bromuro de etidio, las bandas de DNA se observaron en un trans-iluminador, revelando la presencia de DNA según la intensidad de la banda

## 7. AMPLIFICACION POR PCR (REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA) DEL *GEN GSTM1* Y *GSTT1*.

Para la amplificación del gen *GSTM1* y *GSTT1* se emplearon los iniciadores indicados en la tabla 2 y un control interno que fue el exón 7 del gen CYP1A1.

Las reacciones fueron llevadas a cabo en un volumen final de 25 uL, que se preparó añadiendo: 3uL de DNA, Buffer de PCR 1X, 1mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM de cada cebador,





UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



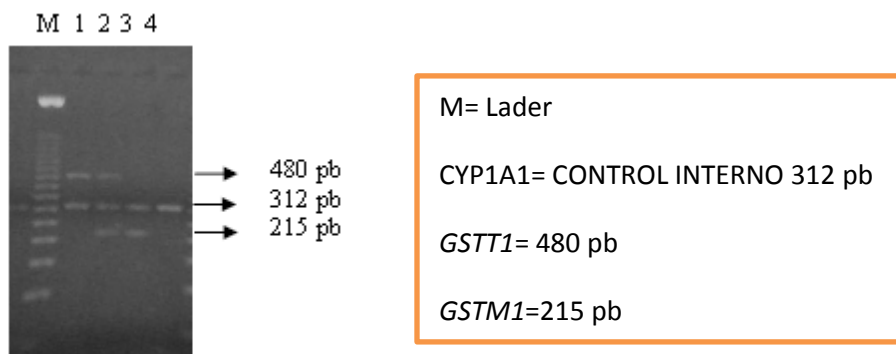
0,2mM de dNTP y 0,25 unidad de Taq polimerasa. La amplificación fue realizada en un termociclador Mastercycler® *Personal* de la marca Eppendorf ®.

Se inició la PCR por una etapa de desnaturalización a 95°C durante 5 minutos, seguido de 30 ciclos que se comprendían de tres pasos: el primero de desnaturalización del ADN 2 minutos a 94°C, el segundo de hibridación de las cadenas desnaturalizadas con los iniciadores a 67,2°C durante 1 minuto, el tercero de síntesis de las cadenas de ADN complementarias a 72°C durante 1 minuto, temperatura a la cual la polimerasa actúa. Al finalizar los 30 ciclos, para completar la extensión de las cadenas amplificadas se programó a 72°C durante 4 minutos. Finalmente el producto de PCR se visualizó en geles de agarosa al 2% con bromuro de etidio y un ladder de 50 pb (pares de bases) para confirmar el tamaño de las bandas. Para evaluar la reacción de la PCR, se amplificaron 3 veces cada muestra, mostrando una repetibilidad en el procedimiento. Figura 8

**Tabla 2.** Primers y tamaño de amplificación

| Marcador      | Secuencia primers                          | Tamaño amplicón |
|---------------|--|-----------------|
| <i>GSTM1</i>  | <i>GSTM1F</i> 5'-GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC-3  | 219pb           |
|               | <i>GSTM1R</i> 5'-GTTGGGCTCAAATATACGGTGG-3  |                 |
| <i>GSTT1</i>  | <i>GSTT1F</i> 5'-TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC-3 | 459pb           |
|               | <i>GSTT1R</i> 5'-TCACCGGATCATGGCCAGCA- 3   |                 |
| <i>CYP1A1</i> | <i>CYP1A1F</i> 5'-GAACTGCCACTTCAGCTGTCT-3  | 312pb           |
|               | <i>CYP1A1R</i> 5'-CAGCTGCATTTGGAAGTGCTC-3  |                 |

Figura 8. Gel representativo de la amplificación de los polimorfismos *GSTM1* y *GSTT1*. (Fuente, Tirado, et al, 2012,)





## **8. AMPLIFICACION POR PCR-RFLP DEL rs4658973.**

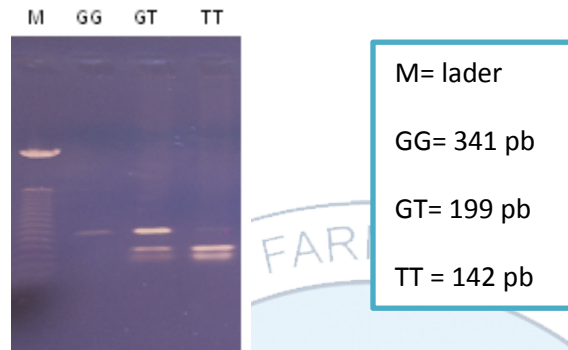
Para la amplificación del SNPs rs4658973 se empleó los iniciadores propuesto por Baida et al ,2008; rs4658973 F5-GGGACACTTGAGACCAAAG-3 y rs4658973, R5-TCAAATGGGATTACAAACCT-3, que amplifican un fragmento de 341pb. Las reacciones se dieron en un volumen final de 25 uL, se prepararon añadiendo: 3uL de DNA, Buffer de PCR 5 X, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM de cada cebador, 0,2 mM de dNTP y 0,25 unidades de Taq polimerasa. La amplificación fue realizada en un termociclador Mastercycler® *Personal* de la marca Eppendorf ®.

Se inició la PCR por una etapa de desnaturalización a 94°C durante 4 minutos, seguido de 30 ciclos que se comprendían de tres pasos: el primero de desnaturalización del ADN 30 segundos a 94°C, el segundo de hibridación de las cadenas desnaturalizadas con los iniciadores a 53,1°C durante 1 minuto, el tercero de síntesis de las cadenas de ADN complementarias a 72°C durante 1 minuto, temperatura a la cual la polimerasa actúa. Al finalizar los 30 ciclos, para completar la extensión de las cadenas amplificadas se programó a 72°C durante 4 minutos. Finalmente el producto de PCR se visualizó en geles de agarosa al 2% con bromuro de etidio y un lader de 50 pb para confirmar el tamaño de las bandas. Para evaluar la reacción de la PCR, se amplificaron 3 veces cada muestra, mostrando una repetibilidad en el procedimiento.

Una vez verificada la presencia de amplicon se procedió a realizar la digestión de los mismos, añadiendo a cada tubo 1 unidad de la enzima BsrI, la cual reconoce la sustitución de una timina (T) por una guanina (G), produciendo un corte del amplicón en dos fragmentos cuyos tamaños son: 142pb y 199pb, y son visualizados en geles de agarosa al 2% con bromuro de etidio y un lader de 50 pb. Figura 9



Figura 9. Gel representativo del rs4658973 (**Fuente propia**)



## 9. ANÁLISIS DE RESULTADOS.

Todos los datos recolectados con la encuesta y los análisis experimentales de estas muestras fueron llenados en un fichero Excel.

Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS para Windows, versión 11.5. Se utilizó la prueba U de Mann Whitney para la comparación de medias de dos grupos independientes. La determinación del factor de riesgo (OR) y el intervalo de confianza (IC) del 95%, fue comparado en caso - control y con polimorfismos en relación a padecer susceptibilidad al cáncer de tiroides.

Para la estimación de las frecuencias génicas se empleó los programas Arlequin 3.5 y el SNPStats (Solé et al., 2006), donde se introdujo los datos en su fichero para equilibrio de Hardy-Weinberg.



**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS**  
**SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES**



## VI. RESULTADOS.

### 1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE RESULTADOS.

El estudio de asociación caso-control se inició con una población de 40 casos y 40 controles. En la tabla 3 se resumen las características de la población estudiada correspondiente a la muestra ampliada.

**Tabla 3.** Características de la población estudiada

| FACTORES DE RIESGO | CASOS N %<br>N=40 | CONTROL N %<br>N=40 |
|--------------------|-------------------|---------------------|
| <b>GÉNERO</b>      |                   |                     |
| • HOMBRES          | 8 (20)            | 8 (20)              |
| • MUJERES          | 32 (80)           | 32 (80)             |
| <b>TABAQUISMO</b>  |                   |                     |
| • FUMADORES        | 28 (75,7)         | 31 (77,5)           |
| • NO FUMADORES     | 9 (24,3)          | 9 (22,5)            |
| <b>ALCOHOL</b>     |                   |                     |
| • SI TOMA          | 20 (54,1)         | 18 (45)             |
| • NO TOMA          | 17 (45,9)         | 22 (55)             |
| <b>DIAGNOSTICO</b> |                   |                     |
| • FOLICULAR        | 9 (22,5)          | -----               |
| • PALILAR          | 22 (55)           | -----               |
| • SD               | 9 (22,5)          | -----               |
| • NT               | -----             | 40 (100)            |

En el estudio los factores de riesgo que predisponen a que los individuos tengan cáncer de tiroides papilar o folicular son el género, tabaquismo, consumo de alcohol y su diagnóstico clínico.

El género hombre mujer, son similares en casos y controles, indicando una mayor proporción en mujeres que hombres con una relación 4:1, descrito en literatura sobre el predominio del género femenino sobre el masculino (Laxman y Crawford, 2002; Preston-Martín et al., 2003; Blanco et al., 2005).

En el factor de riesgo sobre el consumo de tabaco se dividieron en 2 grupos los fumadores y los no fumadores esta división se toma para casos y controles; en los casos



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES

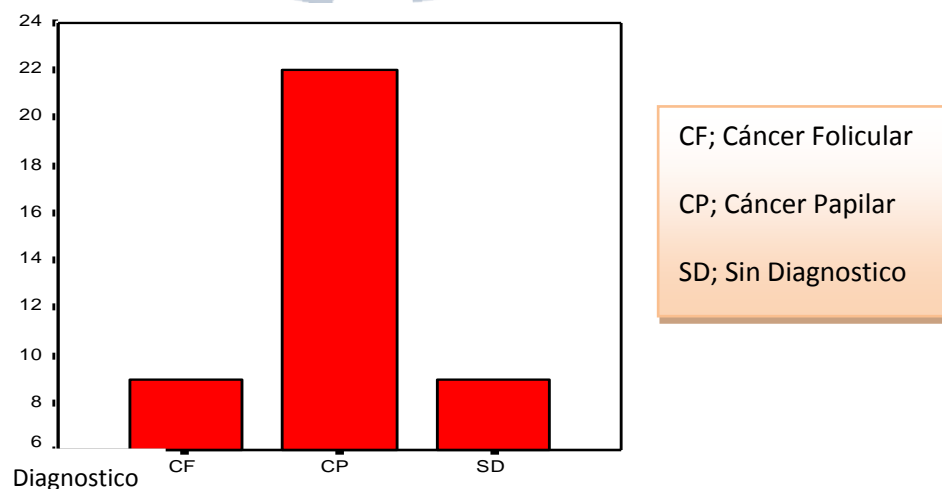


el 75,5% fumaba y el 24,3 no fumaban; en los controles el 77,5% fumaba y el 22,5% no fumaba, los fumadores presentaron mayor predominio tanto en casos y controles. En ambos grupos los individuos no indicaban la cantidad de cigarrillos diarios consumidos y durante cuánto tiempo llevaban fumando, los resultados no son significativos.

Para analizar el consumo de alcohol, los grupos de casos y controles se dividieron en los que toman y los que no toman en casos el 54,1% si toma y el 45,9% no toma y en los controle el 45% si toma y el 55% no toma en comparación con ambos grupos de casos y control los controles tienen mayor porcentaje de persona que no toman frente a los casos. No se indica la cantidad de alcohol que consumían y durante cuánto tiempo los datos tampoco dan un valor significativo.

La categorización de los casos según la variante histológica del carcinoma se realizó considerando 40 pacientes de los cuales 9 fueron con diagnóstico folicular (22,5%), 22 presentaron cáncer papilar (55%) y un grupos sin diagnóstico (SD) que se lo tomo en cuenta (su diagnóstico no estaba bien diferenciado en el historial clínico no indica el tipo de cáncer papilar o folicular por tener el tratamiento con yodo 131 según el Instituto Nacional de Cáncer (INC) estos corresponden a un 22,5% Hay que señalar que esta incidencia se considera con los valores publicados en estudios epidemiológicos recientes (Preston-Martin et al., 2003; Blanco et al., 2005). Figura 10. Y el grupo control que no tiene cáncer de tiroides (NT) que era el 100%.

Figura 10. Frecuencia y diagnóstico de pacientes





## 2. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE *GSTM1* Y *GSTT1*.

Tomando toda la población para el análisis de los GSTs, el 35% tenía alelo nulos y el 65% el alelo presente para el *GSTM1* para el *GSTT1* el 40% presentaba el alelo nulo y el 60% el alelo presente. Tabla 4.

**Tabla 4.** Frecuencia de los genotipos para *GSTM1* y *GSTT1* en la población Estudiada

| GENOTIPO     | ALELO    | FRECUENCIA | %  |
|--------------|----------|------------|----|
| <i>GSTM1</i> | PRESENTE | 52         | 65 |
|              | NULO     | 28         | 35 |
| <i>GSTT1</i> | PRESENTE | 48         | 60 |
|              | NULO     | 32         | 40 |

El análisis de los polimorfismos de GSTs se amplificaron 80 muestras; 40 casos y 40 controles, en la tabla 5 se muestran un 50% de alelos nulos y presentes tanto para el *GSTM1* y *GSTT1* en casos, los controles tienen una diferencia entre los alelos nulos y presentes en el *GSTM1* 20% y 80% respectivamente, el *GSTT1* el alelo nulo es de 30% y el alelo presente de 70%. El *GSTM1* nulo, tiende a estar relacionada con la susceptibilidad a cáncer de tiroides ( $p=0,005$ ). El *GSTT1* no tiene una relación significativa ( $p=0,07$ ). Observando el genotipo nulo de *GSTM1* y *GSTT1* en controles existe un aumento para *GSTT1* en comparación con *GSTM1* (30% y 20% respectivamente), en los alelos presente existe un aumento en el genotipo *GSTM1* en comparación con el *GSTT1* (80% y 70% respectivamente). Figura 11.



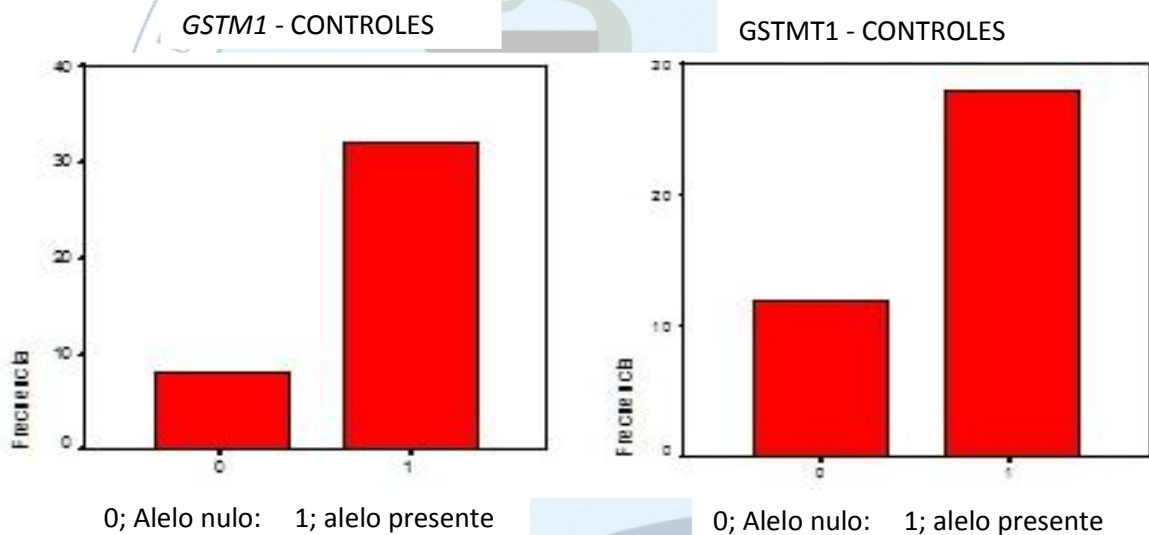
**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS**  
**SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES**



**Tabla 5.** Comparación de casos y control con *GSTM1*, *GSTT1* (p= Chi cuadrado)

| GENOTIPO     | CASOS N %<br>N=40 | CONTROL N %<br>N=40 | p            | OR       | IC (95%)            |
|--------------|-------------------|---------------------|--------------|----------|---------------------|
| <i>GSTM1</i> |                   |                     |              |          |                     |
| • NULO       | 20 (50)           | 8 (20)              | <u>0,005</u> | <u>4</u> | <u>1,483-10,788</u> |
| • PRESENTE   | 20 (50)           | 32 (80)             |              |          |                     |
| <i>GSTT1</i> |                   |                     |              |          |                     |
| • NULO       | 20 (50)           | 12 (30)             | 0,07         | 2        | 0,932-5,839         |
| • PRESENTE   | 20 (50)           | 28 (70)             |              |          |                     |

**Figura 11.** Controles de los polimorfismos *GSTM1* y *GSTT1*



La asociación de *GSTM1*, *GSTT1* con toda la población se observó con la prueba de U de Mann-Whitney donde la presencia del genotipo *GSTM1* presentó una diferencia estadísticamente significativo (P=0,005). Para el alelo presente. Tabla 6.

**Tabla 6.** *GSTM1*, *GSTT1* con casos y controles. (p= U de Mann-Whitney)

| POLIMORFISMO | n  | MEDIA | p     |
|--------------|----|-------|-------|
| <i>GSTM1</i> |    |       |       |
| • NULO       | 28 | 31,93 | 0,005 |
| • PRESENTE   | 52 | 45,12 |       |
| <i>GSTT1</i> |    |       |       |
| • NULO       | 32 | 35,5  | 0,070 |
| • PRESENTE   | 48 | 43,83 |       |



**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS**  
**SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES**



La comparación de los factores predisponentes; como el género, tabaquismo y alcohol con el *GSTM1*. (Tabla 7), no tienen una relación significativa, y tampoco una relación con el *GSTT1*: (Tabla 8).

**Tabla 7.** Asociación del polimorfismo *GSTM1* con los factores de riesgo (p= Chi cuadrado)

| FACTORES DE RIESGO | POLIMORFISMO DE <i>GSTM1</i> |          | p     | OR    | IC (95)     |
|--------------------|------------------------------|----------|-------|-------|-------------|
|                    | NULO                         | PRESENTE |       |       |             |
| <b>GÉNERO</b>      |                              |          |       |       |             |
| • HOMBRES          | 4                            | 12       | 0,348 | 0,556 | 0,161-1,919 |
| • MUJERES          | 24                           | 40       |       |       |             |
| <b>TABAQUISMO</b>  |                              |          |       |       |             |
| • FUMADORES        | 23                           | 36       | 0,387 | 0,602 | 0,189-1,914 |
| • NO FUMADORES     | 5                            | 13       |       |       |             |
| <b>ALCOHOL</b>     |                              |          |       |       |             |
| • SI TOMA          | 11                           | 17       | 0,132 | 0,485 | 0,188-1,250 |
| • NO TOMA          | 28                           | 21       |       |       |             |

**Tabla 8.** Asociación del polimorfismo *GSTT1* con factores de riesgo (p= Chi cuadrado)

| FACTORES DE RIESGO | POLIMORFISMO DE <i>GSTT1</i> |          | p     | OR    | IC (95)     |
|--------------------|------------------------------|----------|-------|-------|-------------|
|                    | NULO                         | PRESENTE |       |       |             |
| <b>GÉNERO</b>      |                              |          |       |       |             |
| • HOMBRES          | 4                            | 7        | 0,138 | 2,292 | 0,754-6,968 |
| • MUJERES          | 23                           | 41       |       |       |             |
| <b>TABAQUISMO</b>  |                              |          |       |       |             |
| • FUMADORES        | 26                           | 33       | 0,419 | 0,635 | 0,210-1,919 |
| • NO FUMADORES     | 6                            | 12       |       |       |             |
| <b>ALCOHOL</b>     |                              |          |       |       |             |
| • SI TOMA          | 17                           | 38       | 0,576 | 0,772 | 0,311-1,917 |
| • NO TOMA          | 15                           | 24       |       |       |             |

### 3. ANALISIS DEL SNP rs4658973

Para el estudio del SNP rs4658973 se tomó a toda la población del cual el 60% tenían el alelo G y el 40% era para el alelo T y el heterocigoto G/T esta asociación se toma ya que el alelo frecuente generalmente es el de riesgo. Tabla 9





**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS**  
**SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES**



**Tabla 9.** Frecuencia de toda la población en estudio

| GENOTIPO  | ALELO | FRECUENCIA | %  |
|-----------|-------|------------|----|
| rs4658973 | GG    | 48         | 60 |
|           | GT/TT | 32         | 40 |

Al amplificar el polimorfismo rs4658973 de las 80 muestras y luego digerirlas con enzima de restricción se obtuvieron 3 alelos (tabla 10) donde el alelo G presenta un 67% en controles.

**Tabla 10** alelos del polimorfismo rs4658973 en casos y controles

| rs4658973 | CASOS N % (N=40) | CONTROL N % (N=40) |
|-----------|------------------|--------------------|
| • GG      | 21 (52,5)        | 27 (67,5)          |
| • GT/TT   | 19 (47,5)        | 13 (32,5)          |

La comparación de los factores de riesgo y la pruebas de U de Mann-Whitney con el SNP rs4658973 no dieron un valor significativo. Tabla 11.

**Tabla 11.** Asociación del rs4658973 con los factores de riesgo

( $p^a$  = Chi cuadrado) ( $p^b$  = U de Mann-Whitney)

|                   | POLIMORFISMO<br>rs4658973 |       | $p^a$ | OR    | IC (95)     | $p^b$ |
|-------------------|---------------------------|-------|-------|-------|-------------|-------|
|                   | GG                        | GT/TT |       |       |             |       |
| • CASOS           | 21                        | 19    | 0,171 | 0,532 | 0,218-1,318 | 0,174 |
| • CONTROL         | 27                        | 13    |       |       |             |       |
| <b>GÉNERO</b>     |                           |       |       |       |             |       |
| • HOMBRES         | 10                        | 6     | 0,819 | 1,140 | 0,369-3,524 | 0,821 |
| • MUJERES         | 38                        | 25    |       |       |             |       |
| <b>TABAQUISMO</b> |                           |       |       |       |             |       |
| • FUMADORES       | 36                        | 8     | 0,679 | 0,799 | 0,275-2,321 | 0,681 |
| • NO FUMADORES    | 16                        | 23    |       |       |             |       |
| <b>ALCOHOL</b>    |                           |       |       |       |             |       |
| • SI TOMA         | 23                        | 16    | 0,890 | 0,938 | 0,377-2,332 | 0,890 |
| • NO TOMA         | 23                        | 15    |       |       |             |       |



**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS**  
**SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES**



Para la frecuencia alélica del rs4658973 se tuvo mayor porcentaje en controles con un 82%. Tabla 12. En la frecuencia genotípica el G/G es el más frecuente con un 68 en controles %. Tabla 13

**Tabla 12.** Frecuencia alélica del rs4658973

| FRECUENCIA DE ALELOS rs46589 (n=80) |       |       |         |
|-------------------------------------|-------|-------|---------|
|                                     | TODOS | CASOS | CONTROL |
| Alelos                              | p %   | p %   | p %     |
| G                                   | 78    | 74    | 82      |
| T                                   | 22    | 26    | 18      |

**Tabla 13.** Frecuencias genotípicas del rs46589

| FRECUENCIA GENOTÍPICA rs46589 (n=80) |       |       |         |
|--------------------------------------|-------|-------|---------|
|                                      | TODOS | CASOS | CONTROL |
| Genotipo                             | p %   | p %   | p %     |
| G/G                                  | 6     | 52    | 68      |
| G/T                                  | 36    | 42    | 3       |
| T/T                                  | 4     | 5     | 2       |

En el test del equilibrio de Hardy-Weinberg se observó una diferencia entre toda la población y los casos frente a los controles mostrado en la tabla 14. Seguidamente, se analizó la posible asociación del polimorfismo con la susceptibilidad al cáncer de tiroides siguiendo un modelo de herencia codominante. Así, se utilizó como referencia el genotipo homocigoto para el alelo más frecuente ya que, biológicamente, se supone que, en caso de asociación, el alelo menos frecuente sería el de riesgo. En la tabla 15 se muestran las frecuencias genotípicas y los valores de OR para cada polimorfismo en la población de controles y pacientes con cáncer de tiroides. Hay que indicar que los valores de odds ratio son ajustados al género, alcohol, tabaco y tipo de cáncer. No se encontró un valor significativo para el modelo de codominancia.

**Tabla 14.** Equilibrio de Hardy-Weinberg del rs46589

| Test de equilibrio de Hardy-Weinberg rs46589 (n=80) |          |
|---|----------|
|   | <i>p</i> |
| TODOS   | 0.75     |
| CASOS   | 0.7      |
| CONTROL   | 1        |



**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS**  
**SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES**



**Tabla 15.** Asociación del rs46589 con caso y controles ajustados a los factores de riesgo, con modelo, codominantes, dominantes y recesivos

| RS46589 asociación con la respuesta CASOS Y CONTROLES |          |            |            |                    |          |
|---|----------|------------|------------|--------------------|----------|
| Modelo  | Genotipo | CASOS      | CONTROL    | OR (95% CI)        | <i>p</i> |
| Codominante   | G/G      | 19 (51.4%) | 27 (67.5%) | 1.00               | 0.77     |
|   | G/T      | 17 (46%)   | 12 (30%)   | 0.53 (0.10-2.98)   |          |
|   | T/T      | 1 (2.7%)   | 1 (2.5%)   | 0.64 (0.00-167.94) |          |
| Dominante   | G/G      | 19 (51.4%) | 27 (67.5%) | 1.00               | 0.47     |
|   | G/T-T/T  | 18 (48.6%) | 13 (32.5%) | 0.54 (0.10-2.92)   |          |
| Recesivo  | G/G-G/T  | 36 (97.3%) | 39 (97.5%) | 1.00               | 0.95     |
|   | T/T      | 1 (2.7%)   | 1 (2.5%)   | 0.83 (0.00-230.66) |          |





## VII. DISCUSIÓN.

En este estudio se analizaron, 80 individuos entre mujeres y varones, los cuales se dividieron en dos grupos, casos y controles. Para este trabajo se tomaron en cuenta los factores de riesgo de susceptibilidad al padecer cáncer de tiroides papilar o folicular estos factores fueron: el género, consumo de tabaco, consumo de alcohol y el diagnóstico de los pacientes con sintomatología carcinogénica papilar o folicular. Los estudios de Baida y Akdi, sugieren que estos factores pueden ser predisponentes para tener cáncer de tiroides, aunque otros estudios indican que la radiación es el factor más estudiado y mejor establecido para determinar el cáncer de tiroides (Kazakov et al., 1992; Inskip, 2001); teniendo en cuenta los factores de riesgo, se analizó a todos los individuos que firmaron el consentimiento informado con dos polimorfismos de la *GSTM1* y *GSTT1*, también el SNP rs4658973 para poder encontrar un marcador de susceptibilidad al cáncer de tiroides papilar o folicular.

El cáncer de tiroides representa el 2% en toda la población mundial (WHO, 1993) pero en la actualidad algunos países han llegado a quintuplicar el número de casos (NCI, 2013). Siendo tres veces más frecuente en mujeres que en hombres (Grebe y Hay, 1995). Los resultados encontrados en el estudio, presenta un 80% de predisposición al cáncer de tiroides en mujeres y un 20% en hombre teniendo una relación 4:1, descrito en literatura sobre el predominio del género femenino sobre el masculino (Laxman y Crawford, 2002; Preston-Martín et al., 2003; Blanco et al., 2005), en Bolivia el cáncer de tiroides se ubica en el treceavo lugar siendo más frecuente en mujeres según los datos del Globocan 2012 y teniendo en cuenta que los valores del Globocan son estimados para la población boliviana.

El tabaco se considera como el principal factor de riesgo al cáncer en general, en el caso del cáncer de tiroides los fumadores tiene un 40% menos riesgo de padecer cáncer, frente a los que no fuman (Rossing et al., 2000; Negri et al., 2002; Mack et al., 2003). En los resultados de la tabla 3 no existe una diferencia significativa entre los fumadores y



## UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



no fumadores tanto en casos y controles. En el consumo de alcohol no se han encontrado relación con el cáncer de tiroides (Baida et al., 2008), en el estudio tampoco se encontró una diferencia significativa indicando que los factores de riesgo de tabaco y alcohol no influyen en la población en estudio.

El diagnóstico de cáncer presento 22,5% con cáncer folicular y 55% en cáncer papilar, indicando una mayor prevalencia de cáncer papilar, en bibliografía indica que la mayor prevalencia de cáncer de tiroides papilar se da en paciente que han sido expuestos a radiación en la niñez (Williams, 2002), el cáncer folicular se da por déficit del consumo de yodo (Harach et al., 2002), los estudios del Brasil por Morari indican una mayor cantidad de pacientes con cáncer papilar que folicular, 50 y 17 respectivamente.

La glutatión s-transferasa humana, detoxifica compuestos contaminantes, como los carcinógenos y los mutágenos por conjugación con glutatión. También, juegan un papel en la protección de tejidos contra especies reactivas de oxígeno (ROS) (Hayes JD., 1995) e hidroperóxidos lipídicos durante el estrés oxidativo (Hurst R., 1998). Los estudios del Brasil (Morari, 2002) indican que los *GSTM1* y *GSTT1* están involucrados en el cáncer de tiroides, sin indicar la prevalencia de alelo nulo o presente. También se encontraron estudios en Bolivia (Tirado, et al, 2012), sobre el riesgo mutagénico en agricultores bolivianos expuestos a pesticidas; utilizando los polimorfismos *GSTM1* y *GSTT1*, dando a conocer que la desintoxicación de tales compuestos dañinos ocurre generalmente por la vía dos, donde están involucrados la enzimas GSTs. Por esta razón se toma a las enzimas de la fase II como potenciales enzimas de desintoxicación ya que estas están involucradas en la reparación celular y pueden producir una mutación para la susceptibilidad a cáncer.

Al no encontrar estudios recientes de las enzimas *GSTM1* y *GSTT1* con el cáncer de tiroides, se analizó las frecuencia del polimorfismo nulo y presente del *GSTM1* y *GSTT1* en la población de estudio, indican un 65% de alelo presente y un 35% de alelo nulo para el *GSTM1*, el *GSTT1* presento el 60% de alelo presente y un 40% del alelo



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



nulo, estos resultados indican mayor predominio del alelo presente de *GSTM1* en la población de estudio.

Los grupos de casos y controles fueron comparados con los *GSTM1* y *GSTT1*, dándonos los valores estadísticos de  $\chi^2$  y OR con un IC del 95% (1,483-10,788), el alelo presente del *GSTM1* dio un valor estadísticamente significativo de un (p=0,005), indicando que entre los sujetos con predisposición a la susceptibilidad al cáncer de tiroides la probabilidad de encontrar el alelo nulo o ausente es 4 veces mayor que la de encontrar el alelo presente. La prueba de U de Mann-whitney dio un valor (p=0,005) rechazando la hipótesis nula, para el polimorfismo de la *GSTM1*, mostrando mayor probabilidad de ser predisponente al cáncer de tiroides.

Los factores de riesgo que se compararon con los polimorfismos de la glutatión s-transferasa, no tuvieron valor significativo dándonos a entender no están relacionados con la inactivación de las enzimas y con la susceptibilidad a padecer cáncer de tiroides.

Para el estudio del SNP rs4658973 la frecuencia del alelo G dio un valor del 60% y se toma al alelo mutado como el menos frecuente (T) junto con el heterocigoto (G/T) dando un valor de 40%.

En la comparación con los casos y controles el alelo G se presentó con mayor frecuencia en los controles (67,5%) y una menor en la unión del alelo T y el heterocigoto G/T con un 32,5% mostrando mayor predisposición a que el alelo G esté involucrado en la protección al cáncer de tiroides. Los factores de riesgo no mostraron un valor significativo con los estadísticos de  $\chi^2$ , OR y la prueba de U de Mann-Whitney.

Las frecuencias alélicas y genotípicas dieron un aumento del alelo G en los controles y una frecuencia muy baja para el alelo mutado T, estos datos no concuerdan con estudios realizados en la población española, dando una frecuencia de (G=0,48 y T=0,52), dándoles que la asignación del alelo variante es prácticamente arbitraria y, por lo tanto la asignación del alelo G o T como variante, dará lugar a un efecto protector o



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



de riesgo respectivamente (Baida et al., 2008; Akdi., et al 2010). Para el análisis del equilibrio de Hardy-Weinberg en los controles no existe una alteración génica y se mantienen estables, esto es diferente en los casos ya que en ellos no se mantienen las frecuencias génicas y que después de alcanzar una generación estas frecuencias se alteraron. Cuando se relacionó el SNP con casos y controles asociados a los factores de riesgo con un modelo dominante G/T-T/T tenía un  $OR = 0.54$  (0.10-2.92) y en el modelo recesivo T/T con un  $OR 0.83$  (0.00-230.66) lo que indicaría que el cambio del alelo G al T daría una mayor probabilidad de ser susceptible a padecer cáncer de tiroides papilar o folicular.

Como una explicación favorable para la asociación entre el polimorfismo del gen *WDR3* con la susceptibilidad se ha informado de la regulación del gen en diferentes líneas celulares de cáncer de tiroides lo que sugiere su posible implicación en desarrollar tumores en la tiroides (Akdi., et al 2010). Esto estaría de acuerdo con los estudios llevados en líneas celulares de cáncer de mama MCF-7 donde muestra la supresión del gen *WDR3* reduciendo la proliferación y el tamaño celular lo que indica que *WDR3* confiere una ventaja proliferativa en las células cancerosas. (McMahon M, 2010).



### VIII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

A partir de los resultados presentados y de la discusión de los mismos, se derivan las siguientes conclusiones:

- ☞ Existe mayor frecuencia en mujer que en hombres que sufren cáncer de tiroides según los datos de WHO y el NCI
- ☞ La mayoría de los pacientes estudiados presentan cáncer de tiroides papilar siendo la minoría con cáncer de tiroides folicular, lo que concuerda con bibliografía.
- ☞ El polimorfismo *GSTM1* con el alelo nulo es más frecuente en casos, lo que implica su relación con la susceptibilidad al cáncer de tiroides.
- ☞ No se encontró valor significativo para los factores de riesgo con los polimorfismos de *GSTM1* y *GSTT1*
- ☞ La variante G del marcador rs4658973 muestra mayor frecuencias alélicas y genotípicas en controles, lo que indicaría una protección al cáncer de tiroides además de que podría estar implicado en procesos de regulación génica y en la susceptibilidad al cáncer de tiroides
- ☞ No existe un equilibrio de Hardy-Weinberg en los casos ya que las frecuencias no son constantes
- ☞ La asociación del rs4658973 con caso y controles ajustada a los factores de riesgo no mostró significancia pero un aumento en el modelo dominante y recesivo (G/T-T/T; OR= 0.54; IC95% 0.10-2.92 y T/T con un OR= 0.83 ;IC95%0.00-230.66 respectivamente).

Nuestro estudio brinda evidencia sobre la importancia del polimorfismo *GSTM1* en la susceptibilidad al cáncer de tiroides. El alelo G del rs4658973 pudo actuar como protector debido a las frecuencias alélicas y genotípicas que se encontraron, pero aún no se pudo determinar si es un marcador de susceptibilidad al cáncer de tiroides haciéndose evidente la realización de más estudios en el gen *WDR3* y el SNP rs4658973 con un





UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



análisis de metilación y observar si existe una sobre expresión de este gen en la etiología al cáncer de tiroides, según indican estudios recientes (Giménez EM., et al 2012).

Por todo lo expuesto y presentado en el estudio se sugiere aumentar el tamaño de muestra y poder hacer estudios de metilación en el gen *WDR3* con un PCR en Tiempo Real para poder evaluar la susceptibilidad al cáncer de tiroides.



**IX. BIBLIOGRAFIA.**



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



- Abdelmounaim A, Giménez EM, Wilser GQ, Susana P, Juan C, Josefina B, Ricard M and Velázquez A. 2010. *WDR3* gene haplotype is associated with thyroid cancer risk in a Spanish population. *Thyroid*. Volume 20, Number 7, Doi: 10.1089/Thy.2010.0072
- Adeniran, A.J., Zhu, Z., Gandhi, M., Steward, D.L., Fidler, J.P., Giordano, T.J., Biddinger, P.W., Nikiforov, Y.E., 2006. Correlation between genetic alterations and microscopic features, clinical manifestations, and prognostic characteristics of thyroid papillary carcinomas. *A M J Surg Pathol* 30, 216-222.
- Akslen L., Haldorsen T, Thoresen S., Glatre E. 1993. Incidence pattern of thyroid cancer in Norway: Influence of birth cohort and time period. *Int. J. Cáncer*. 53: 183-187.
- Akdi A, Giménez E M, García-Q W, Pastor S, Castell J, Biarnés J, Marcos R, and Velázquez A. 2010. *WDR3* Gene haplotype is associated with thyroid cancer risk in a Spanish Population. *THYROID*. Volume 20, Volume 20, Number 7.
- Al-Brahim, N., Asa, S.L., 2006. Papillary thyroid carcinoma: an overview. *Arch Pathol Lab Med* 130, 1057-1062.
- Baida A, Akdi M, Gonzalez-Flores E, Galofre P, Marcos R, Velazquez a 2008. Strong association of chromosome 1p12 loci with thyroid cancer susceptibility. *Cancer Epidemiol Biomarkers prev* 17: 1499-1504.
- Baida, A., Farrington, S.M., Galofré, P., Marcos, R., Velázquez, A., 2005. Thyroid cancer susceptibility and *THRA1* and *BAT-40* repeat polymorphisms. *Cáncer Epidemiol Biomarkers Prev* 14, 638-642.
- Bieche, I., Champeme, M.H., Matifas, F., Cropp, C., Callahan, R., Lidereau, R., 1994. Demonstration of two regions involved in chromosome 1p deletion in breast tumors. *Bull Cáncer* 81, 108-113.
- Blanco CC., Pelaez TN., García DJ, Maqueda VE., Sanz J., Álvarez HJ. 2005. Epidemiological and clinicopathological study of thyroid cancer in east. Madrid *Rev. Clin. Esp.* 205: 307-310.



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



- Bufalo, N.E., Leite, J.L., Guilhen, A.C., Morari, E.C., Granja, F., Assumpcao, L.V., Ward, L.S., 2006. Smoking and susceptibility to thyroid cancer: an inverse association with cyp1a1 allelic variants. *Endocr Relat Cáncer* 13, 1185-1193.
- Tirado NB, Ascarrunz ME, Aguilar X, Rada A, et al (2012). Genetic polymorphism of GSTM1y GSTT1 as mutagenic risk modifiers in Bolivian farmers exposed to pesticides. *Biofarbo*,20;30-40
- Canbay, E., Dokmetas, S., Canbay, E.I., Sen, M., Bardakci, F., 2003. Higher glutathione transferase GSTM1 0/0 genotype frequency in young thyroid carcinoma patients. *Curr Med Res Opin* 19, 102-106.
- Chen Y, Liou Cp, Tseng Hh, Jan Yj, Li Cf, Tzeng Cc 2009. Deletions of chromosome 1p and 15q are associated with aggressiveness of gastrointestinal stromal tumors. *J Formos Med Assoc* 108:28–37.
- Claudio, J.O., Liew, C.C., Ma, J., Heng, H.H., Stewart, A.K., Hawley, R.G., 1999. Cloning and expression analysis of a novel wd repeat gene, WDR3, mapping to 1p12-p13. *Genomics* 59, 85-89.
- Coggan M, Whitbread L, Whittington A, Board P. Structure and organization of the human theta-class glutathione s-transferase and dopachrome tautomerase gene complex. *Biochem J* 1998; 334 (Pt 3): 617-23.
- Cybulski, C., Gorski, B., Huzarski, T., Masojc, B., Mierzejewski, M., Et Al., 2004. CHEK2 is a multiorgan cancer susceptibility gene. *am J Hum Genet* 75, 1131- 1135.
- De Lellis Ra, Lloyd Rv, Heitz Pu, Eng Ch, Editors. Thyroid and parathyroid tumours en: Tumours of endocrine organs. WHO classification of tumours. Pathology and genetics. Lyon: Iarc Press; 2004.P. 50
- Dumont, P., Leu, J.I., Della Pietra, A.C., 3rd, George, D.L., Murphy, M., 2003. The codon 72 polymorphic variants of p53 have markedly different apoptotic potential. *Nat Genet* 33, 357-365.



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



- Gaspar PA, Hutz Mh, Salzano Fm, Hill K, Hurtado M, Petzl-Erler MI, Y Col. 2002. Polymorphisms of *cyp1a1*, *cyp2e1*, *GSTM1*, *GSTT1*, and *tp53* genes in amerindians. *Am J Phys Anthropol*; 119:249-56.
- Gaspar, J., Rodrigues, S., Gil, O.M., Manita, I., Ferreira, T.C., Limbert, E., Goncalves, L., Pina, J.E., Rueff, J., 2004. Combined effects of glutathione s-transferase polymorphisms and thyroid cancer risk. *Cancer gene cytogene* 151, 60-67.
- Giménez EM., et al 2012. Expresión y regulación de los genes *WDR3* y *TBX15* en cáncer. Universidad Autónoma de Barcelona
- Giusti, F., Falchetti, A., Franceschelli, F., Marini, F., Tanini, A., Brandi, M.L., 2010. Thyroid cáncer: Current molecular perspectives. *J Oncol* 351679.
- Granja, F., Morari, E.C., Assumpcao, L.V., Ward, L.S., 2005. *Gsto* polymorphism analysis in thyroid nodules suggests that *gst01* variants do not influence the risk for malignancy. *Eur J Cáncer Prev* 14, 277-280.
- Granja, F., Morari, J., Morari, E.C., Correa, L.A., Assumpcao, L.V., Ward, L.S., 2004a. Proline homozygosity in codon 72 of *p53* is a factor of susceptibility for thyroid cáncer. *Cáncer Lett* 210, 151-157.
- Grebe, S.K., Hay, I.D., 1995. Follicular thyroid cancer. *Endocrinol Metab Clin North Am* 24, 761-801.
- Harach, H.R., Escalante, D.A., Day, E.S., 2002. Thyroid cancer and thyroiditis in salta, argentina: a 40-yr study in relation to iodine prophylaxis. *Endocr Pathol* 13, 175-181.
- Harada S, Abei M, Tanaka N, Agarwal DP, Goedde HW. Liver glutathione s-transferase polymorphism in japonese and its pharmacogenetic Importance. *Hum Genet* 1987; 75: 322-5.
- Haselkorn, T., Stewart, S.L., Horn-Ross, P.L., 2003. Why are thyroid cancer rates so high in southeast Asian women living in the united states the bay area



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



- Hayes JD, Strange RC. Potential contribution of the glutathione s-transferase supergene family to resistance to oxidative stress. *Free Radic Res* 1995; 22: 193-207.
- He, H., Nagy, R., Liyanarachchi, S., Jiao, H., Li, W., Suster, S., Kere, J., De La Chapelle, A., 2009. A susceptibility locus for papillary thyroid carcinoma on chromosome 8q24. *Cancer Res* 69, 625-631.
- Hernández, A., Céspedes, W., Xamena, N., Surrallés, J., Creus, A., Galofré, P., Marcos, R., 2003. Glutathione s-transferase polymorphisms in thyroid cancer patients. *Cancer lett* 190, 37-44.
- Ho, T., Zhao, C., Zheng, R., Liu, Z., Wei, Q., Sturgis, E.M., 2006. Glutathione transferase polymorphisms and risk of differentiated thyroid carcinomas: A case-control analysis. *arch otolaryngol Head Neck Surg* 132, 756-761.
- Hurst R, Bao Y, Jemth P, Mannervik B, Williamson G. Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase activity of human glutathione transferases. *Biochem J* 1998; 332 (Pt 1): 97-100.
- Inskip, P.D., 2001. Thyroid cancer after radiotherapy for childhood cancer. *Med Pediatr Oncol* 36, 568-573.
- Jazdzewski, K., Murray, E.L., Franssila, K., Jarzab, B., Schoenberg, D.R., De la Chapelle, A., 2008. Common snp in pre-mir-146a decreases mature mir expression and predisposes to papillary thyroid carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105, 7269-7274.
- Jin F, Dai J, Ji C, Gu S, Wu M, Et Al. (2004). A novel human gene (wdr25) encoding a 7-wd40-containing protein maps on 14q32. *Biochem Genet* 42: 419–427.
- Jin, Y., Jin, C., Wennerberg, J., Mertens, F., Hoglund, M., 1998. Cytogenetic and fluorescence in situ hybridization characterization of chromosome 1 rearrangements in head and neck carcinomas delineate a target region for deletions within 1p11-1p13. *Cancer Res* 58, 5859-5865.



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



- Kanaoka Y, Fujimori K, Kikuno R, Sakaguchi Y, Urade Y, Hayaishi O. Structure and chromosomal localization of human and mouse genes for hematopoietic prostaglandin d synthase, conservation of the ancestral genomic structure of sigma-class glutathione s-transferase. *Eur J Biochem* 2000; 267: 3315-22.
- Kawabata, W., Suzuki, T., Moriya, T., Fujimori, K., Naganuma, H., Inoue, S., Kinouchi, Y., Kameyama, K., Takami, H., Shimosegawa, T., Sasano, H., 2003. Estrogen receptors (alpha and beta) and 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and 2 in thyroid disorders: possible in situ estrogen synthesis and actions. *Mod Pathol* 16, 437-444.
- Kazakov, V.S., Demidchik, E.P., Astakhova, L.N., 1992. Thyroid cancer after chernobyl. *Nature* 359, 21.
- Ketterer B, Harris Jm, Talaska G, Meyer Dj, Pemble Se, Taylor Jb Et Al. the human glutathione stransferase supergene family, its polymorphism, and its effects on susceptibility to lung cáncer. *Environ Health Perspect* 1992; 98: 87-94.
- Laxman K., Crawford E. 2002. Treatment of thyroid carcinoma: emphasis on high-dose I131 outpatient therapy. *J. Nucl. Med. Technol.* 30: 165-171.
- Lee, M.L., Chen, G.G., Vlantis, A.C., Tse, G.M., Leung, B.C., Van Hasselt, C.A., 2005. Induction of thyroid papillary carcinoma cell proliferation by estrogen is associated with an altered expression. Of bcl-Xl. *Cáncer J* 11, 113-121.
- Leenhardt L, Berniaer Mo, Boin-Peneau Mh, Conte Db, Marechaud R, Niccoli-Sire P, Et Al. Advances in diagnostic practices affect thyroid incidence in france. *Eur J Endocrinol.* 2004; 150: 133-9.
- León A. 2005. Patología quirúrgica de la glándula tiroides. manual de cabeza y cuello. [Http://Escuela.Med.Puc.Cl/Publ/Manualcabezacuello/Patologiaquirurgicatiroide.Html](http://Escuela.Med.Puc.Cl/Publ/Manualcabezacuello/Patologiaquirurgicatiroide.Html)
- Li Volsi Va, Albores Saavedra J, Asa Sl, Baloch Zw, Sobrinho-Simoes M, Wenig B, et al. Papillary Carcinoma, en: De Lellis Ra, Lloyd Rv, Heitz Pu, Eng



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



Ch, Editors. Thyroid and parathyroid, tumours of endocrine organs, WHO classification of tumours. Pathology and genetics. Lyon: Iarcpress; 2004. P. 57-66.

- Mack, W.J., Preston-Martin, S., Dal Maso, L., Galanti, R., Xiang, M., Et Al., 2003. A pooled analysis of case-control studies of thyroid cancer: cigarette smoking and consumption of alcohol, coffee, and tea. *Cancer Causes Control* 14, 773-785.
- Mazzaferri E, Young R. Papillary thyroid carcinoma. a ten year follow-up report of the impact of therapy in 576 patients. *Am J Med.* 1981;70: 511.
- McMahon M, Ayllo'N V, Panov Ki, O'connor R (2010). Ribosomal 18 s rna processing by the igf-i-responsive WDR3 protein is integrated with p53 function in cancer cell proliferation. *J Biol Chem* 285: 18309–18318.
- Mitelman, F., Mertens, F., Johansson, B., 1997. A breakpoint map of recurrent chromosomal rearrangements in human neoplasia. *Nature Genet* 15 Spec No, 417-474
- Mo Z, Gao Y, Cao Y, Gao F, Jian L. An updating metaanalysis of the GSTM1, GSTT1, and gstp1 polymorphisms and prostate cancer: A Huge Review. *Prostate* 2009; 69:662-88.
- Morari E.C., Leite J.L., Granja F., Asumpção L. Y Ward L.S. (2002). The null genotype of glutathione s-transferase M1 and T1 locus increases the risk for thyroid cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 11: 1485–1488.
- Nagataki S., Nystrom E. 2002. Epidemiology and primary prevention of thyroid cancer. *Thyroid* 12: 889-896.
- Neer, E.J., Schmidt, C.J., Nambudripad, R., Smith, T.F., 1994. The ancient regulatory protein family of wd-repeat proteins. *Nature* 371, 297-300.
- Negri, E., Ron, E., Franceschi, S., La Vecchia, C., Preston-Martin, S., Kolonel, L., Kleinerman, R.A., Mabuchi, K., Jin, F., Wingren, G., Hallquist, A., Levi, F., Linos, A., Fraumeni, J.F., Jr., 2002. Risk factors for medullary thyroid carcinoma: a pooled analysis. *Cancer Causes Control* 13, 365-372.



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



- Nei M. (1977). F-statistics an analysis of gene diversity in subdivided population. *Annals Human Genetics*. Vol. 41. Pag. 225-233
- Nix, P., Nicolaides, A., Coatesworth, A.P., 2005. Thyroid cancer review 1: Presentation and investigation of thyroid cancer. *Int J Clin Pract* 59, 1340-1344.
- Patocs, A., Valkusz, Z., Igaz, P., Balogh, K., Toth, M., Varga, I., Racz, K., 2003. Segregation of the v804l mutation and s836s polymorphism of exon 14 of the ret gene in an extended kindred with familial medullary thyroid cancer. *Clin Genet* 63, 219-223
- Pemble S, Schroeder Kr, Spencer Sr, Meyer Dj, Hallier E, Bolt Hm Et Al. Human glutathione s transferase theta (GSTT1): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *Biochem J* 1994; 300 (Pt 1): 271-6.
- Pemble Se, Wardle Af, Taylor Jb. Glutathione stransferase class kappa: Characterization by the cloning of rat mitochondrial GST and identification of a human homologue. *Biochem J* 1996; 319 (Pt 3): 749-54.
- Pemble, S., Schroeder, K. R., Spencer. S. R., Meyer, D. J., Hallier, E., Bolt, H. M., Ketterer, B., And Taylor, J. B. Human glutathione s- transferase O (Gstti): cDNA Cloning and the characterization of genetic polymorphism. *Biochem. J.*, 300: 271-276, 1994.
- Perinetti H. (2000). Patología tiroidea compendio. Facultad De Ciencias Médicas. Ed. Electronica. Laboratorio De Multimedia. Pag 75-82
- Piñero, D., Et Al. 2008. La variabilidad genética de las especies: aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México, en capital natural de México, Vol. I: Conocimiento actual de la Biodiversidad. Conabio, México, Pp. 415-435.
- Preston-Martin S., Franceschi S., Ron E., Negri E. 2003. Thyroid cancer pooled analysis from 14 case-control studies: what have we lea rned. *Cancer Causes Control*. 14: 787-789.
- Randolph Gw. Follicular carcinoma of the thyroid. Philadelphia: Saunders;2003





UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



- Raunio H, Pursiainen KH, Antilla S, Hietanen E, Hirvonen A, Pelkonen O. Diagnosis of polymorphisms in carcinogen-activating and inactivating enzymes and cancer susceptibility - A Review. *Gene* 1995; 159:113-21.
- Rebbeck Tr, Walker Ah, Jaffe Jm, White Dl, Wein Aj, Malkowicz Sb. Glutathione s- transferase mu (GSTM1) and theta (GSTT1) genotypes in the etiology of prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8(4 Pt 1): 283-7.
- Robledo, M., Gil, L., Pollan, M., Cebrian, A., Ruiz, S., Azanedo, M., Benitez, J., Menarguez, J., Rojas, J.M., 2003. Polymorphisms g691s/s904s of ret as genetic modifiers of men 2a. *Cancer Res* 63, 1814-1817.
- Ron, E., Lubin, J.H., Shore, R.E., Mabuchi, K., Modan, B., Pottern, L.M., Schneider, A.B., Tucker, M.A., Boice, J.D., Jr., 1995. Thyroid cancer after exposure to external radiation: A pooled analysis of seven studies. *Radiat Res* 141, 259-277.
- Rossing, M.A., Cushing, K.L., Voigt, L.F., Wicklund, K.G., Daling, J.R., 2000. Risk of papillary thyroid cancer in women in relation to smoking and alcohol consumption. *Epidemiology* 11, 49-54.4.
- Rudolph, B., Harbott, J., Lampert, F., 1988. Fragile sites and neuroblastoma: Fragile site at 1p13.1 and other points on lymphocyte chromosomes from patients and family members. *Cancer Genet Cytogenet* 31, 83-94.
- Solé, X., Guino, E., Valls, J., Iniesta, R., Moreno, V., 2006. Snpstats: A web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics* 22, 1928-1929.
- Schmid, K.W., Farid, N.R., 2006. How to define follicular thyroid carcinoma virchows. *Arch* 448, 385-393.
- Seidegard J, Pero Rw. The genetic variation and the expression of human glutathione s- transferase mu. *Klin Wochenschr* 1988; 66 Suppl 11: 125-6.
- Seidegard. J., Vorachek, W. R., Pero, R. W., And Pearson, W. R. Hereditary difference in the expression of the human glutathione transferase active on trans,



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



ts-stilbene oxide are due to a gene deletion. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85: 7203-7207. 1988.

- Smedley, D., Sidhar, S., Birdsall, S., Bennett, D., Herlyn, M., Cooper, C., Shipley, J., 2000. Characterization of chromosome 1 abnormalities in malignant melanomas. *Genes Chromosomes Cancer* 28, 121-125
- Smith Tf (2008). Diversity of wd-repeat proteins. *Subcell Biochem* 48: 20–30.
- Smith, T.F., Gaitatzes, C., Saxena, K., Neer, E.J., 1999. The Wd Repeat: A common architecture for diverse functions. *Trends Biochem Sci* 24, 181-185.
- Sobrinho-Simoes M, Asa SI, Krol Tg, Nikiforov Y, De Lellis R, Farid P, et al. Follicular Carcinoma: tumours of endocrine organs. WHO classification of tumours. Pathology and genetics. Lyon: Iarcpress; 2004. P. 67-72
- Sturgis, E.M., Li, G., 2009. Molecular epidemiology of papillary thyroid cancer: In search of common genetic associations. *Thyroid* 19, 1031-1034.
- Sturgis, E.M., Zhao, C., Zheng, R., Wei, Q., 2005. Radiation response genotype and risk of differentiated thyroid cancer: A case-control analysis. *Laryngoscope* 115, 938-945.
- Vainio H. Use of biomarkers new frontiers in occupational toxicology and epidemiology. *Toxicol Lett* 1998; 102-103: 581-9.
- Van Der Voorn, L., Ploegh, H.L., 1992. The Wd-40 Repeat. *Febs Lett* 307, 131-134.
- Vasko, V., Bauer, A.J., Tuttle, R.M., Francis, G.L., 2007. Papillary and follicular thyroid cancers in children. *Endocr Dev* 10, 140-172.
- Vassallo J., Barrios E. 2003. Actualización ponderada de los factores de riesgo del cáncer. Montevideo: Comisión Honoraria De Lucha Contra El Cáncer.
- Vernole, P., Tedeschi, B., Caporossi, D., Nicoletti, B., 1989. Fragile site 1p13.1 In Neuroblastoma patients. *Cancer Gene Cytogenet* 40, 135-136.
- Williams, D., 2002. Cancer after nuclear fallout: lessons from the chernobyl accident. *Nature Rev Cancer* 2, 543-549.



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE TIROIDES



- Wright S. (1951). The Genetical structure of population. Analisis of eugenics. Vol 15 Pag 323-353
- Wright S. (1965). The interpretation of population structure by f-statistics whit special regard to systems of mating. Evolution. Vol. 19 Pag. 395-420
- Xu Gf, Quiros Rm, Gattuso P, Ain Kb, Prinz Ra. High prevalence of BRAF gene mutation in papillary carcinoma and thyroid cell lines. Cancer Res. 2003; 63:4561-7.
- Yang Y, Sharma R, Zimniak P, Awasthi Yc. Role of alpha class glutathione s-transferases as antioxidant enzymes in rodent tissues. Toxicol appl pharmacol 2002; 182: 105-15.
- Yosed Anaya Chávez, Biol, Beatriz Martínez, Ms., 2011. Diversidad e implicaciones de los polimorfismos de las enzimas glutatión s transferasa en la patogénesis del asma. Med, Unab., Vol. 14(1):48-57.
- Zhang, J., Glatfelter, A.A., Taetle, R., Trent, J.M., 1999. Frequent alterations of evolutionarily conserved regions of chromosome 1 in human malignant melanoma. Cancer Genet Cytogenet 111, 119-123.