



53 - DESARROLLO DE UN ENSAYO MOLECULAR CLÍNICAMENTE APLICABLE BASADO EN LAS PROTEASAS KALIKREÍNAS COMO NUEVOS CLASIFICADORES BRAF-LIKE Y RAS-LIKE EN CÁNCER DE TIROIDES

M. Jordà¹, M. Giner², N. Villalmanzo¹, J. Gil¹, L. González¹, M. Puig-Domingo³, J.L. Reverter³, T. Moliné², C. Zafon⁴ y C. Iglesias²

¹Grupo Tumores Endocrinos. Institut de Recerca Germans Trias i Pujol (IGTP). Badalona. ²Anatomía Patológica. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. ³Endocrinología y Nutrición. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona. ⁴Endocrinología y Nutrición. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona.

Resumen

Introducción: Las kalikreínas (KLKs) forman una familia de 15 miembros de serina-proteasas involucradas en múltiples procesos fisiológicos y patológicos. Recientemente nuestro grupo demostró la desregulación de las KLKs en cáncer papilar de tiroides (PTC) y generó un algoritmo de árbol de decisión basado en tres KLKs (algoritmo KLK) que clasifica los PTC en tumores BRAF-like, RAS-like y un nuevo subgrupo de buen pronóstico llamado BRAF/RAS-Unlike (BRU).

Objetivos: Desarrollar una herramienta molecular simple y cuantitativa basada en el algoritmo KLK.

Métodos: La metilación del DNA de *KLK10* se analizó mediante bisulfito-pirosecuenciación (BSP). La expresión génica de *KLK4*, *KLK7* y *KLK10* se cuantificó mediante RT-qPCR (TaqMan). Se utilizaron 70 muestras FFPE y 24 congeladas de tejido normal (NT) y tumoral. La expresión proteica de *KLK7* y *KLK10* se valoró mediante inmunohistoquímica (IHQ) en 152 parejas NT/PTC a partir de 12 *tissue microarrays* (TMAs). Se analizó la mutación de *BRAF* y *RAS* mediante secuenciación Sanger.

Resultados: El análisis de metilación de *KLK10* presentó una excelente linealidad ($R^2 = 0,979$) y una fuerte correlación con la metilación cuantificada mediante el MethylationEPIC Array, usado como *gold standard* (Pearson $r = 0,954$, $p < 0,00001$). El análisis de expresión génica confirmó que *KLK4* se expresa mayoritariamente en los NT mientras que *KLK7* y *KLK10* se expresan principalmente en los tumores *BRAF* mutados. La IHQ también mostró que *KLK7* y *KLK10* están sobreexpresadas en los PTC en comparación con los NT ($p = 0,003$ y $p < 0,0001$, respectivamente). Aunque los resultados son preliminares, la combinación del análisis de metilación de *KLK10* y la expresión génica de *KLK4* y *KLK7* en NT y tumores *BRAF* y *RAS* mutados validan el algoritmo KLK y clasifican las muestras con una tasa de acierto del 100%.

Conclusiones: El algoritmo KLK podría conducir a una nueva estrategia clínicamente aplicable con implicaciones importantes para la estratificación de riesgo de PTC.