



15 - MICROSCOPIA 3D EN NEOPLASIA BENIGNA Y CARCINOMA PAPILAR DE TIROIDES. ESTANDARIZACIÓN DE LOS MARCADORES CK19 Y EL TRANSPORTADOR DE YODURO NIS (SLC5A5)

J.A. Graça Fonseca¹, M.Á. Chenlo Miranda², M.C. Suárez-Fariña³, S. Pérez-Romero³, M.N. Blanco Freire⁴, J.M. Cameselle Teijeiro⁵, M.C. Villamarín Álvarez⁶, A. Vieites⁷ y L. Muñiz⁸

¹Centro de Investigación en Medicina Molecular y Enfermedades Crónicas. ²Centro de Investigación en Medicina Molecular y Enfermedades Crónicas, Universidade de Santiago de Compostela. Grupo de Neoplasia y Diferenciación Endocrina. Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago. ³Centro de Investigación en Medicina Molecular y Enfermedades Crónicas, Universidade de Santiago de Compostela. Grupo de Neoplasia y Diferenciación Endocrina. Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago. ⁴Servicios de Cirugía y Patología, Hospital Universitario de Santiago de Compostela. ⁵Patología, Hospital Universitario de Santiago de Compostela. Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago. ⁶Centro de Investigación en Medicina Molecular y Enfermedades Crónicas, Universidade de Santiago de Compostela. Grupo de Neoplasia y Diferenciación Endocrina. Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago. ⁷Centro de Investigación en Medicina Molecular y Enfermedades Crónicas, Universidade de Santiago de Compostela. Grupo de Neoplasia y Diferenciación Endocrina. ⁸Aplicaciones de Image, Miltenyi Biotec.

Resumen

Introducción: El carcinoma papilar de tiroides (PTC) se trata con cirugía, y Yoduro radioactivo (RAI). El yoduro entra en el epitelio folicular a través del transportador basal NIS (SLC5A5). La resistencia a RAI es debida bien a depleción, bien a deslocalización de NIS. Varios ensayos clínicos intentan la recuperación de la respuesta a RAI, genéricamente llamado rediferenciación. La microscopía 3D conserva la estructura morfológica del tejido, inalterada por manipulación al seccionar. La clarificación de los órganos hasta completa transparencia es fundamental para el paso de los láseres a través del órgano sin distorsiones. Sin embargo, presenta grandes dificultades en la tiroides debido a su gran vascularización y la organización del epitelio en folículos que contienen coloide, una densa matriz extracelular con tiroglobulina. Muchos epítomos de anticuerpos validados para parafina, no se conservan en microscopía 3D.

Objetivos: Estudiar PTC y neoplasia folicular nodular (TFND) mediante microscopía 3D, estandarizando marcadores claves: citoqueratina total (CK), CD31, citoqueratina 19 (CK19) y NIS.

Métodos: Las muestras se obtienen de la colección TIROCHUS, de excedentes de cirugía. Primero se estandarizó el protocolo general en tiroides de ratón. Después se adaptó cada etapa a la muestra más densa y compleja de tiroides humano. El proceso completo estandarizado precisa de 45 días. Se validaron tres anticuerpos REA Affinity (Miltenyi) y un anticuerpo para NIS. El proceso culmina en tecnología Lightsheet (Miltenyi), seguido de Imaris, y Confocal (Leica).

Resultados: La CK es homogénea en tiroides. CK19 se concentra en el área de invasión del PTC, y es negativa en TFND. Por el contrario, NIS es abundante en TFND y presenta marcaje reducido en PTC, con una distribución irregular.

Conclusiones: La microscopía 3D de tejido tiroideo puede contribuir a la investigación en los ensayos de rediferenciación.

Financiado por Agencia Estatal de Investigación AEI-PID2022-140149OB-I00.