



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

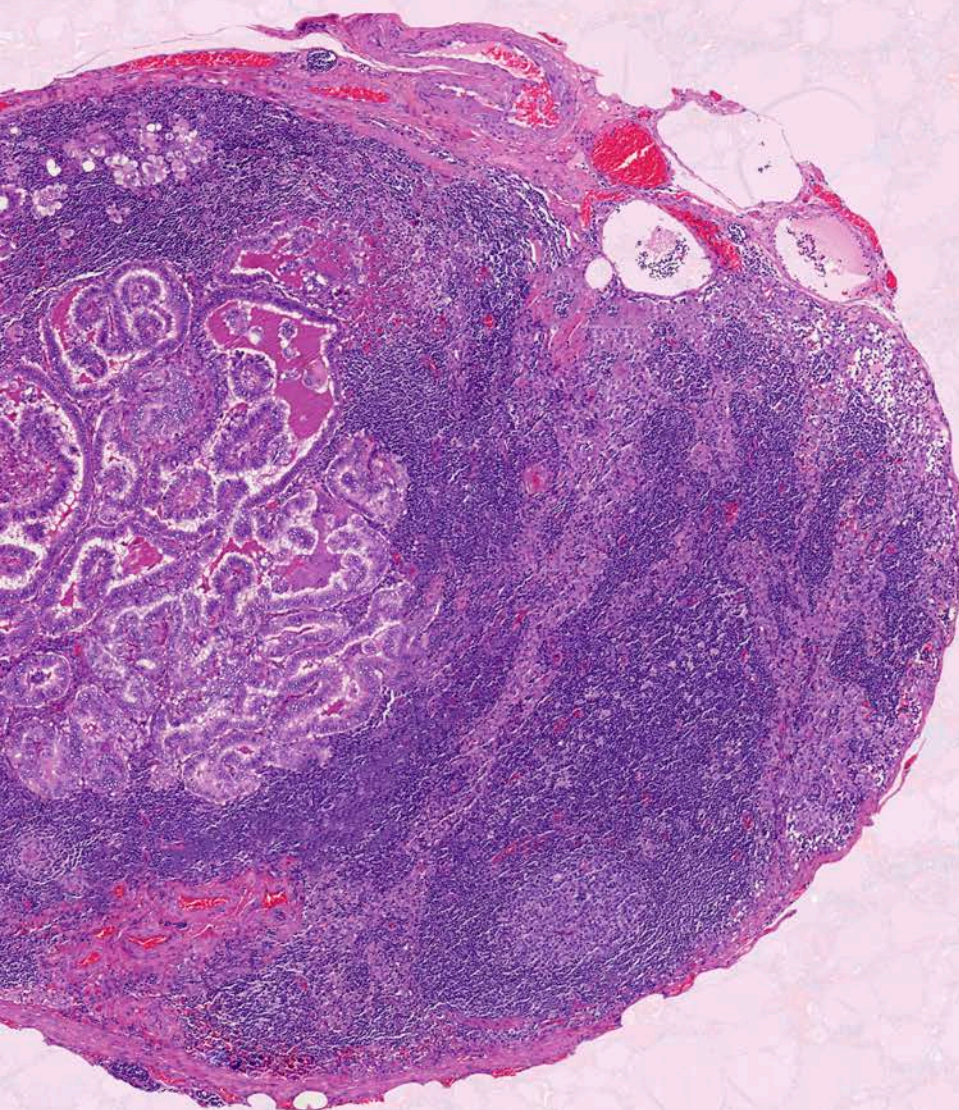
ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

Biòpsia selectiva del gangli sentinella
en el carcinoma papil·lar de tiroide.
Anàlisi morfològica i valor de la càrrega
tumoral ganglionar.

TESI DOCTORAL

Carmela Iglesias i Felip



UAB

Universitat Autònoma
de Barcelona

Any 2020



**Universitat Autònoma
de Barcelona**

TESI DOCTORAL

**BIÒPSIA SELECTIVA DEL GANGLI SENTINELLA
EN EL CARCINOMA PAPIL·LAR DE TIROIDE.
ANÀLISI MORFOLÒGICA I VALOR DE LA CÀRREGA
TUMORAL GANGLIONAR**

Carmela Iglesias i Felip

DIRECTORS: Dr. Santiago Ramon y Cajal Agüeras i Dr. Oscar González López

TUTOR: Dr. Santiago Ramon y Cajal Agüeras

DOCTORAT EN CIRURGIA I CIÈNCIES MORFOLÒGIQUES

DEPARTAMENT DE CIÈNCIES MORFOLÒGIQUES

FACULTAT DE MEDICINA

ANY 2020

Els Drs. Santiago Ramón y Cajal, catedràtic del Departament d'Anatomia Patològica de la Facultat de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona i Cap del Servei d'Anatomia Patològica de l'Hospital Universitari Vall Hebron i Óscar González, metge adjunt del Servei de Cirurgia General de l'Hospital Universitari Vall Hebron,

CERTIFIQUEN:

Que la tesi doctoral titulada «*Biòpsia selectiva del gangli sentinella en el carcinoma papil·lar de tiroide. Anàlisi morfològica i valor de la càrrega tumoral ganglionar*» i dirigida pels sotasignants compleix la normativa vigent respecte a la presentació mitjançant compendi de publicacions i és apta per a la seva defensa per part de Carmela Iglesias i Felip amb la finalitat d'optar al Títol de Doctora.

I, perquè així consti, signen aquest certificat.

Dr. Santiago Ramón y Cajal
Barcelona, 26 de juny de 2020

Dr. Óscar González

Directors de la tesi:

Dr. Santiago Ramón y Cajal Agüeras
Departament d'Anatomia Patològica
Hospital Universitari Vall d'Hebron

Dr. Óscar González López
Departament de Cirurgia General
Hospital Univertari Vall d'Hebron

A mons pares, Maria Cinta i Octavi
A la memòria de la meua iaia Cinta
A mon fill Martí
A Carles

AGRAÏMENTS

En primer lloc, voldria fer palès que el present projecte de tesi doctoral no ha estat en cap cas un treball exclusiu de la meva persona. Ans al contrari, arribar fins aquí no m'hauria estat possible sense el treball intens, rigorós i coordinat de tot el grup de professionals que integren l'Equip Multidisciplinari de Càncer de Tiroide de l'Hospital Vall d'Hebron. Treballar amb ells ha estat un veritable plaer, tant pel seu saber fer i professionalitat com per la seva riquesa humana. Les qualitats de tots ells han aconseguit motivar-me cada dia i alhora alleugerir els inevitables moments d'entrebancs i dificultats. Agraïment especial als meus directors de tesi. Al Dr. Óscar González, per haver plantat la primera llavor del projecte i haver sabut, amb el seu entusiasme i perseverança, encoratjar-nos a tots. Pel seu suport absolut, sempre. I al Dr. Santiago Ramón y Cajal, per la confiança en el meu esforç i dedicació per tal de tirar-ho endavant. Al Carles Zafon, ànima paral·lela innegable de tot el treball, dia rere dia al meu costat ajudant-me sempre abans que li demanés i aportant a cada moment una lucidesa, rigor metodològic i competència professional indiscutibles. Gràcies per tot això i per dedicar-me generosament tantes hores d'estimulant feina compartida. Al Jordi Temprana, company patòleg, que mai m'ha dit no quan li he demanat ajut, tant en l'estudi de les mostres histològiques com en el disseny immillorable de gràfics o imatges i en l'edició definitiva del document. A la Mercedes Martínez, tècnica d'Anatomia Patològica i responsable efectiva de dur a terme de forma impecable l'assaig molecular. A tot l'equip de Sysmex, i especialment a la Yuko Saruta, pel seu suport constant i sense l'ajut del qual tot hauria estat més difícil. Gràcies als pacients que han participat en els estudis, per la seva confiança en la nostra tasca assistencial però també en la recerca clínica i translacional que ens permet avançar junts en el coneixement de la malaltia.

Finalment, gràcies als meus pares. Per haver-me educat amb insistència en l'esforç, el rigor i la disciplina. Pel seu amor i entrega incondicionals i per haver-los sentit sempre a prop en els moments més difícils. I gràcies al meu fill Martí. Perquè, potser sense ser-ne conscient, ha estat i és la força inesgotable que m'inspira en tot allò que faig.

SUMARI

1. LLISTAT D'ABREVIACIONS.....	11
2. INTRODUCCIÓ	15
2.1. Característiques generals del càncer de tiroide.....	17
2.2. Via de disseminació del carcinoma papil·lar de tiroide.....	21
2.3. Característiques histològiques dels ganglis metastàtics	23
2.4. Estadificació limfàtica.....	27
2.5. Informe anatomopatològic.....	31
2.6. Incidència de metàstasis ganglionars.....	35
2.7. Tractament de les metàstasis ganglionars.....	37
2.8. Valor pronòstic de les metàstasis ganglionars.....	39
2.9. Biòpsia selectiva del gangli sentinella.....	43
2.10. <i>One Step Nucleic Acid Amplification</i> (OSNA)	49
2.11. OSNA en càncer de tiroide.....	53
3. HIPÒTESI.....	55
4. OBJECTIUS.....	61
5. MATERIAL I MÈTODE I RESULTATS.....	65
5.1. Estudi 1.....	71
5.2. Estudi 2.....	77
5.3. Estudi 3.....	87
5.4. Estudi 4.....	97
6. DISCUSSIÓ.....	123
7. CONCLUSIONS.....	135
8. ADDENDA.....	139
9. BIBLIOGRAFIA.....	143
10. DOCUMENTACIÓ ANNEXA.....	159
10.1. Document annex A.....	161
10.2. Document annex B.....	173
10.3. Document annex C.....	185
10.4. Document annex D.....	187
10.5. Document annex E.....	213

1. LLISTAT D'ABREVIACIONS

ADN: àcid desoxiribonucleic
AJCC: *American Joint Committee on Cancer*
ARN: àcid ribonucleic
ARNm: àcid ribonucleic missatger
ATA: *American Thyroid Association*
AUC: *Area Under Curve* (àrea sota la corba)
BGP: buidament ganglionar profilàctic
BGT: buidament ganglionar terapèutic
BRAF: *B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase*
BSGS: biòpsia selectiva del gangli sentinella
BTA: *British Thyroid Association*
CAP: *College of American Pathologists*
CAT: carcinoma anaplàstic de tiroide
CC: compartiment ganglionar cervical central
CDT: carcinoma diferenciat de tiroide
CFT: carcinoma fol·licular de tiroide
CL: compartiment ganglionar cervical lateral
CMT: carcinoma medul·lar de tiroide
COT: carcinoma oncocític de tiroide
CPDT: carcinoma poc diferenciat de tiroide
CPT: carcinoma papil·lar de tiroide
CQ19: citoqueratina 19
CT: càncer de tiroide
CTA: cèl·lules tumorals aïllades
E: especificitat
ECO-PAAF: punció-aspiració amb agulla fina guiada per ecografia
EEG: extensió extraganglionar
ESES: *European Society of Endocrine Surgeons*
FN: fals negatiu
FP: fals positiu
GL: gangli limfàtic
GLOBOCAN: *Global Cancer Observatory*
GS: gangli limfàtic sentinella
IACR: *International Association of Cancer Registries*

HiE: hematoxilina i eosina

LCC: limfadenectomia del compartiment ganglionar cervical central

LCL: limfadenectomia del compartiment ganglionar cervical lateral

µL: microlitre

mM: micrometàstasi

MM: macrometàstasi

M1G: metàstasi ganglionar

OMS: Organització Mundial de la Salut

OR: *Odds Ratio*

OSNA: *One Step Nucleic Acid Amplification*

qPCR: reacció en cadena de la polimerasa quantitativa

RAS: *Rat Sarcoma*

RET: *Rearranged During Transfection*

ROC: *Receive-operator curve*

RT-LAMP: transcripció reversa amb amplificació isotèrmica mitjançant bucles

RT-PCR: reacció en cadena de la polimerasa amb transcripció inversa

S: sensibilitat

SEAP: *Sociedad Española de Anatomía Patológica*

SEER: *Surveillance, Epidemiology, and End Results*

SPECT/TC: *Single Photon Emission Computed Tomography*

TERT: *Telomerase Reverse Transcriptase*

TNM: *Tumor Node Metastasis*

TT: tiroïdectomia total

UICC: *Union for International Cancer Control*

VPP: valor predictiu positiu

VPN: valor predictiu negatiu

2. INTRODUCCIÓ

2.1. Característiques generals del càncer de tiroide

El càncer de tiroide (CT) és la neoplàsia maligna endocrina més freqüent (1,2). Es pot originar en cadascun dels dos tipus de cèl·lules epitelials pròpies de la glàndula. L'originat en la cèl·lula parafol·licular dona lloc al carcinoma medul·lar de tiroide (CMT) i representa el 5% del total. L'originat en la cèl·lula fol·licular pot donar lloc al carcinoma diferenciat (CDT), al carcinoma pobrament diferenciat (CPDT) i al carcinoma anaplàstic (CAT). Aquests tres tipus histològics suposen més del 85-90% dels CT. En el moment actual el CDT aplega tres tipus histològics diferents: el carcinoma papil·lar (CPT), el carcinoma fol·licular (CFT) i el carcinoma oncocític o de cèl·lules de Hürtle (COT). Finalment, altres neoplàsies malignes primàries (com el limfoma, per exemple) o les metàstasis tiroïdals de tumors d'altres localitzacions representen al voltant del 5% restant. La figura 1 recull la distribució dels diferents tipus de CT registrats a la nostra institució en els darrers 20 anys:

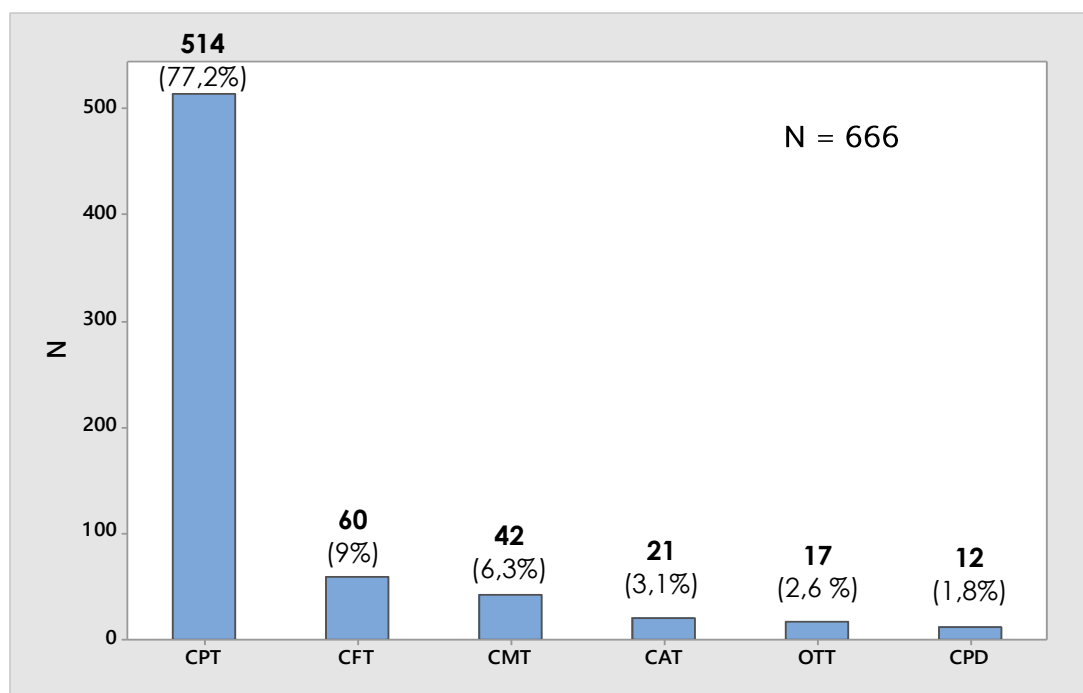


Figura 1: Valor absolut i percentatge relatiu dels tipus histològics de neoplàsies malignes tiroïdals diagnosticades a l'Hospital Vall d'Hebron en l'interval 2000-2019 (CPT: carcinoma papil·lar; CFT: carcinoma fol·licular i oncocític; CMT: carcinoma medul·lar; CAT: carcinoma anaplàstic; OTT: altres neoplàsies malignes; CPD: carcinoma pobrament diferenciat). (Cortesia del Dr. Zafon).

Segons el registre del *Global Cancer Observatory* (GLOBOCAN) de l'*International Association of Cancer Registries* (IACR) (3) amb dades de 2018 a nivell mundial la incidència de CT és de 6.7 casos per cada 100 000 habitants. En el sexe femení aquesta xifra assoleix els 10.2 casos. Tot i que hi ha una evident variabilitat segons els diferents països, fins i tot entre regions geogràfiques dins d'un mateix país, actualment el CT es considera la cinquena neoplàsia maligna més freqüent en el sexe femení. El mateix registre GLOBOCAN recull per a l'estat espanyol una incidència de CT de 7.1 casos per cada 100 000 habitants, que en el cas de les dones arriba a 11.2 casos / 100 000 (3).

El CPT és el tipus histològic més freqüent de CDT, suposant fins el 80–85% del total. Habitualment és un tumor invasiu, definit pel seu patró arquitectònic i, sobretot, pels canvis nuclears que poden agrupar-se en tres tipus: 1. alteracions en la forma i mida (allargament, elongació i superposició); 2. irregularitats de membrana (contorn irregular, fenedures i pseudoinclusions); i 3.

alteracions cromatíniques (aclariment, marginació cap a la membrana i aspecte esmerilat) (4). La figura 2 recull una imatge histològica prototípica de CPT convencional. El debut clínic sol ser en forma de nòdul cervical indolor, amb o sense augment dels ganglis limfàtics (GL) cervicals (5).

Ocasionalment, els pacients poden presentar ronquera o disfàgia com a

signes secundaris d'invasió del nervi laringi recurrent i paràlisi de corda/es vocal/s (4). No sol acompanyar-se d'alteracions en la funció tiroïdal. Un 33% aproximadament poden ser tumors multifocals, tot i que aquest percentatge varia –com sembla lògic– en funció de l'exhaustiu que hagi estat el mostreig de la peça quirúrgica (6). Se'n reconeixen diferents variants histològiques, algunes de les quals poden condicionar la macroscòpia del tumor. Poden identificar-se cossos de psammoma en aproximadament el 50% dels casos. Altres característiques

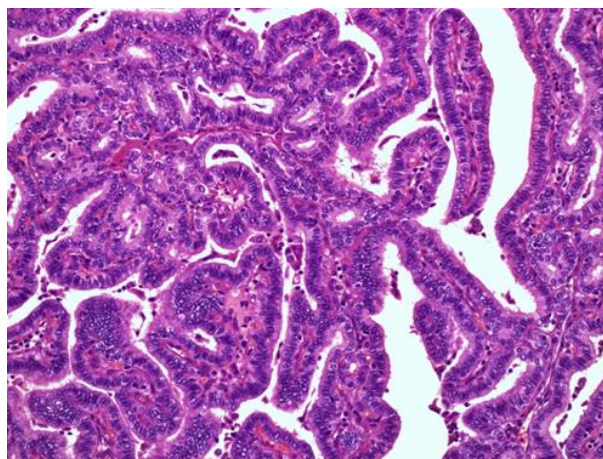


Figura 2: Secció histològica tenyida amb hematoxilina i eosina d'un CPT de patró papil·lar usual, amb presència de papil·les ben conformades i alteracions nuclears característiques (C. Iglesias, HiE x200).

histològiques pròpies del CPT són la metaplàsia escamosa, la fibrosi estromal, la presència de cèl·lules gegants multinucleades o el canvi quíctic. La darrera classificació de l'OMS en reconeix 13 variants histològiques, algunes de les quals (esclerosant difusa, cèl·lules altes, cèl·lules en tatxa, sòlid-trabecular i oncocítica) presenten un potencial d'agressivitat discretament superior (4). Les alteracions genètiques conegudes més rellevants en el CPT involucren els gens BRAF, RET, RAS o el promotor del gen TERT, amb percentatges lleugerament diferents segons la variant histològica (7). Globalment, el CPT sol presentar un curs relativament indolent, amb unes taxes de supervivència als 5 anys del 96% aproximadament (1).

Diferents estudis publicats en els darrers vint anys han posat de manifest un increment en la incidència del CT, a expenses específicament del CPT (8). El motiu concret d'aquest augment no està del tot definit. D'una banda, s'ha postulat un increment real de casos associat a diversos carcinògens com podrien ser les radiacions ionitzants degut a un major ús de proves d'imatge de diagnòstic mèdic (9) o tòxics ambientals (10). En segon lloc, existeix la hipòtesi d'un fals increment ocasionat per un augment en la detecció de casos silencis i que mai no haurien donat manifestacions clíniques (11). Aquesta segona proposta es sustenta en l'augment en les tècniques d'imatge realitzades sobre la zona cervical, especialment ecografies (12). En qualsevol cas el CPT, que és el tipus histològic de CT objectiu de la present tesi doctoral, ha esdevingut com hem vist un dels càncers amb major incidència, especialment en el sexe femení.

2.2. Via de disseminació del carcinoma papil·lar de tiroide

Característicament, els tres tipus histològics de CDT presenten vies de disseminació diferents. El CFT i el COT ho fan preferentment per via hematògena mentre que el CPT té afinitat per la via limfàtica com a forma inicial i més freqüent d'extensió de la malaltia, observant-se disseminació hematògena només de forma secundària o en les variants molt agressives (13). Aquesta extensió limfàtica del CPT afecta típicament els GL de la regió cervical.

L'American Joint Committee on Cancer (AJCC) (14) proposa l'estratificació dels GL cervicals o pròxims al coll en dues regions anatòmicament ben definides, anomenades «compartiment central» (CC) i «compartiment lateral» (CL). Cadascun d'aquests compartiments es subdivideix, al seu torn, en diversos «nivells». El CC és el que es troba anatòmicament més proper a la glàndula tiroïdal i inclou els nivells VI i VII, mentre que el CL, més allunyat de la tiroide, està format pels nivells I, II, III, IV i V. La figura 3 esquematitza les relacions anatòmiques dels diferents nivells limfàtics cervicals. La seqüència d'aparició esperada de les metàstasis (M1G) en el CPT s'iniciaria amb l'afectació dels GL més propers (CC) per a anar disseminant-se cap als més allunyats (CL). Malgrat això, aquesta progressió tumoral està condicionada en gran part per la localització específica del tumor primari dins la glàndula (15,16).



Figura 3: Esquema anatòmic dels nivells limfàtics cervicals (15).

En els tumors localitzats en l'istme o en el terç inferior del lòbul tiroïdal els GL inicialment afectats solen ser els paralaríngis, els paratraqueals i els prelaríngis (o delfians), tots ells inclosos en el nivell VI. L'afectació mediastínica superior (nivell VII) és també freqüent en estadis inicials, tant de mediastí anterior com posterior. En casos més avançats poden metastatitzar secundàriament els GL pròxims a la vena jugular (corresponent els alts al nivell IIA, els mitjans al nivell III i els inferiors

al nivell IV) i els supraclaviculars (nivell V). Més rarament poden envair-se els GL jugulars profunds superiors o els espinals (nivell IIB). Les M1G en GL submandibulars o submentonians són rares. En els casos d'afectació cervical lateral extensa poden documentar-se també M1G retrofaríngies.

D'altra banda, en els tumors localitzats en el terç superior del lòbul tiroïdal les M1G solen iniciar-se en el CL. No infreqüentment pot veure's afectació cervical bilateral.

Més enllà d'aquest esquema general de patró d'evolució esperat de les M1G i degut a comunicacions creuades en el drenatge limfàtic de la glàndula, pot veure's modificat de forma difícilment previsible l'esquema teòric esperat en la seqüència d'afectació metastàtica dels diferents compartiments cervicals, donant lloc a les anomenades «*skip* metastasis», que podríem definir com a M1G que han eludit el compartiment limfàtic esperat per a aparèixer en una altra localització anatòmica, ja sigui homolateral o contralateral. Diversos autors han reportat la presència de *skip* metastasis en un 7-12% de casos en les seves sèries (17,18).

Finalment, en casos de CPT multifocals, pot ser que apareguin M1G originades en els focus tumorals secundaris i, per tant, en localitzacions anatòmiques no esperables o atípiques si es considera només la localització del nòdul dominant.

2.3. Característiques histològiques dels ganglis metastàtics

Des del punt de vista anatomopatològic, la M1G en el CPT mostra un espectre de patrons morfològics sovint més complex que l'observat en d'altres neoplàsies sòlides malignes. En la majoria de neoplàsies no hematològiques els dipòsits metastàtics al GL es corresponen amb agregats més o menys sòlids de cèl·lules tumorals, podent assumir que la mida del dipòsit metastàtic es correspon d'una forma proporcional amb la quantitat de massa tumoral metastàtica real. Una excepció a això serien les M1G on el component de necrosi tumoral fos significatiu. Per contra, l'aspecte histològic del GL envaït per un CPT pot presentar altres trets característics:

A. **MULTIFOCALITAT:** Tot i que en ocasions pot aparèixer un únic dipòsit metastàtic és especialment freqüent la multifocalitat, ocupant preferentment –com en la majoria de les M1G de carcinoma– el si subcapsular (figura 4).

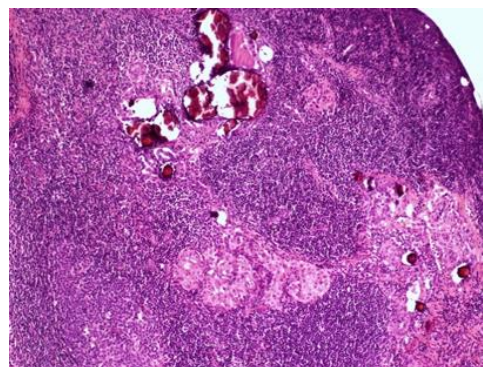


Figura 4: M1G amb presència de dipòsits tumorals discontinus (HiE, C. Iglesias, x400).

B. **QUISTIFICACIÓ:** La degeneració quística de la M1G és relativament freqüent en el CPT, igual com passa de vegades en el tumor primari tiroïdal i especialment en la variant clàssica. En alguns casos el component quístic de la M1G pot arribar a ser el predominant, suposant la primera manifestació clínica de la malaltia (19,20). Aquest patró de M1G predominantment quístic pot suposar una dificultat pel seu diagnòstic clínic

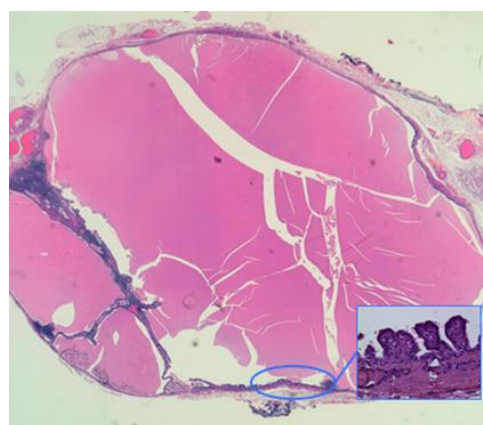


Figura 5: M1G d'arquitectura marcadament quística, amb mínim component epitelial sòlid identificable i micropapil·les –quadre inferior dret– (C. Iglesias, HiE, x200).

i/o radiològic, on l'evidència de component tumoral sòlid por ser mínima o inaparent i obliga al diagnòstic diferencial amb altres lesions quístiques cervicals, no necessàriament malignes, com poden ser els quists branquials en el cas dels GL del CL (figura 5) (21).

- C. **COSSOS DE PSAMMOMA:** La presència de cossos de psammoma és una troballa no infreqüent en les M1G d'un CPT. Es tracta de calcificacions de forma arrodonida o ovalada i que mostren un patró lamel·lar concèntric característic que les fa morfològicament distingibles de les calcificacions distròfiques o dels cúmuls de col·loide calcificat (figura 6). Molt rarament s'han descrit associats a condicions benignes, com poden ser adenomes, nòduls hiperplàstics o tiroiditis (22–24). La presència de cossos de psammoma és especialment freqüent en les variants clàssica, de cèl·lules altes o esclerosant difusa. Estudis basats en tècniques de microscòpia electrònica han demostrat que, en el cas del tumor primari, s'originen a partir de la trombosi dels eixos fibrovasculars del tumor i el subseqüent infart de la papil·la. En el cas de les M1G semblen deure's a la necrosi de petits nius tumorals metastàtics al GL, on la pèrdua de l'ancoratge amb aquest eix fibrovascular que nodreix la cèl·lula fol·licular tumoral podia afavorir-ne l'infart (25,26). La presència de cossos de psammoma en el GL ha estat i segueix sent una font de controvèrsia, donat que poden veure's sense evidència de neoplàsia viable acompanyant i suposant, per tant, un dilema tant pel que fa a la seva interpretació com a l'abordatge terapèutic que se n'hauria de derivar. Majoritàriament, la literatura manifesta acord en considerar-los com a M1G encara que apareguin sense evidència de cèl·lules tumorals acompanyants (27).

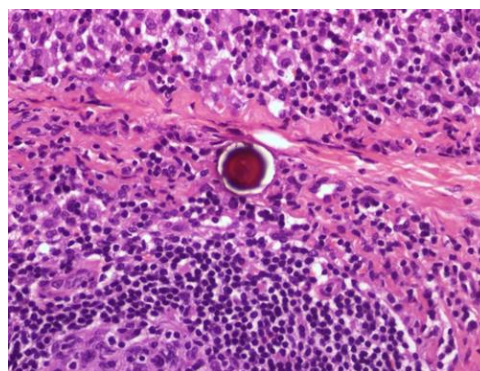


Figura 6: GL amb presència d'un cos de psammoma aïllat (C. Iglesias, HiE x400).

Respecte al patró arquitectònic dels dipòsits metastàtics ganglionars, el més habitual és el patró papil·lar clàssic, amb presència de papil·les ben conformades,

fins i tot en les variants tumorals no clàssiques. En molts d'aquests casos, el patró de creixement al GL mantindrà malgrat tot una tendència preferent a la formació de papil·les (figura 7).

Una darrera característica histològica que pot evidenciar-se en les M1G del CPT és l'extensió extraganglionar (EEG), entesa com la ruptura de la càpsula del GL amb extensió de la metàstasi més enllà d'aquesta i invasió secundària dels teixits tous periganglionars (figura 8). En els darrers anys l'EEG ha demostrat tenir un paper pronòstic. Així, en una revisió sistemàtica Urken i cols (28) observen que en la majoria de treballs analitzats (17 dels 19 inclosos) la presència d'EEG s'associa significativament a un elevat risc de recurrències. Alhora, però, els autors critiquen que els criteris per establir-la són molt variats i no estan consensuats, amb una gran variabilitat interobservador. Un fet rellevant és que la presència d'EEG no té necessàriament una relació directa ni amb la mida del GL ni amb el volum ganglionar afectat per la M1G. Així, per exemple, Rowe i cols (29) analitzen 972 M1G i n'identifiquen 144 amb EEG. Els autors detecten una relació significativa entre l'EEG i la mida del GL i entre l'EEG i la mida del focus metastàtic, tot i que hi ha un percentatge de GL petits que també mostren EEG. Aquest fet és transcendent, donat que reduir l'anàlisi del GL metastàtic exclusivament a la seva mida pot suposar la infravaloració del seu valor pronòstic, especialment en el cas de GL petits amb EEG histològicament demostrada. Podríem hipotetitzar doncs que un GL amb aquesta característica pogués tenir un potencial d'agressivitat biològica més gran que un altre GL metastàtic de major diàmetre però amb la càpsula íntegra.

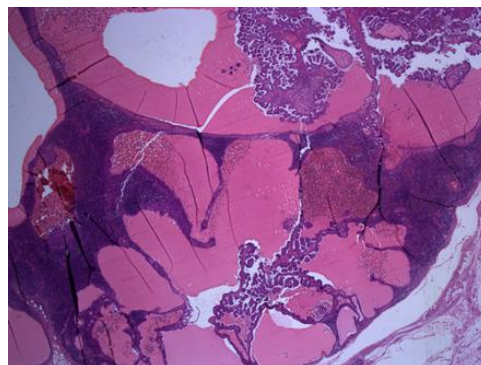


Figura 7: M1G d'arquitectura quística i amb evident creixement papil·lar intraquístic (C. Iglesias, HiE, x200).



Figura 8: M1G amb marcada fibrosi de la càpsula del GL i EEG. Invasió per contigüitat del teixit tímic (C. Iglesias, HiE, x200).

2.4. Estadificació limfàtica

L'informe anatomopatològic de la neoplàsia maligna de tiroide ha d'incloure la informació histològica referent tant a les característiques del tumor primari, en el nostre cas el CPT, com a l'afectació nodal en cas de limfadenectomia concomitant. Malgrat l'existència de diferents sistemes d'estratificació, la d'ús més estès és la classificació TNM (*Tumor Node Metastasis*) de la *Union for International Cancer Control / American Joint Committee on Cancer* (UICC/AJCC). Aquesta classificació busca predir la mortalitat específica per la malaltia així com estandarditzar la informació clínica i histològica amb aquesta finalitat. L'objectiu final és definir un valor pronòstic per a cada tumor alhora que estratificar els pacients segons la supervivència esperada. La classificació TNM és diferent per als diferents òrgans o regions anatòmiques, existint-ne una d'específica que aplica a totes les variants de CT derivades de la cèl·lula fol·licular (CPT, CFT, COT, CPDT i CAT). En queden exclosos els carcinomes originats en un quist del conducte tiroglòs i l'*struma ovarii* maligne. El CMT i el limfoma tiroïdal tenen una classificació TNM específica i diferenciada. Malgrat que l'any 2016 se'n va publicar la 8a i darrera versió (30), en els treballs inclosos en el projecte de tesi s'han emprat –per raons cronològiques òbvies– els criteris definits en la 7a edició, publicada el 2009 (figura 9) (31).

Category	7th edition
T	0 no evidence of primary tumor
	1a size \leq 1 cm AND intrathyroidal
	1b 1 cm < size \leq 2 cm AND intrathyroidal
	2 2 cm < size \leq 4 cm AND intrathyroidal
	3 (size > 4 cm AND intrathyroidal) OR minimal extrathyroidal extension (sternothyroid muscle, perithyroid soft tissues)
	4a extension beyond thyroid capsule (subcutaneous soft tissue, larynx, trachea, esophagus, recurrent laryngeal nerve)
	4b invasion to prevertebral fascia OR encasing the carotid artery, mediastinal vessels
N	0 no regional lymph node metastasis
	1a metastasis to level VI
	1b metastasis to level I, II, III, IV, V, VII, retropharyngeal lymph nodes
M	0 no distant metastasis
	1 distant metastasis

Figura 9: Categories incloses en la 7a edició de la Classificació TNM del CT, que ha estat la considerada en els treballs que integren el present projecte de tesi (31).

La classificació TNM fa referència a la mida i característiques del tumor (T), l'estat dels GL (N) i la presència o no de metàstasis a distància (M). Pel que fa als GL, contempla 3 supòsits: Nx, N0 i N1. No es requereix l'anàlisi histològica d'un nombre mínim de GL per a definir l'estat N d'un pacient, sent suficient l'anàlisi d'un únic GL. D'altra banda, tampoc és imprescindible la categorització de l'estat dels GL per a l'estratificació global del pacient. La categoria Nx s'utilitza quan no és possible l'avaluació ganglionar. En la categoria N0 no hi ha evidència de M1G locoregionals. La 8a edició afegeix les subcategories N0a quan aquesta negativitat s'ha verificat citològicament o histològica i N0b quan, no havent-hi sospita clínica ni radiològica d'afectació, no s'ha analitzat cap GL (30). Aquesta subclassificació de l'ítem N0 no estava inclosa en la 7a edició (31). Finalment, la categoria N1 implica l'evidència de M1G i inclou dues subcategories, depenent d'on es localitzen anatòmicament les M1G: N1a per a M1G documentades en els nivells VI o VII (GL pretraqueals, paratraqueals, prelaringis/delfians o mediastínics alts) –i que defineixen el CC– i N1b quan les M1G es localitzen en el CL, tant siguin homolaterals al tumor com contralaterals o bilaterals, incloent els nivells anatòmics I, II, III, IV i V i els GL retrofaringis.

Qualsevol de les categories TNM descrites pot anar precedida d'una «c» en cas que l'estratificació s'hagi fet amb dades clínicoradiològiques o d'una «p» quan aquesta s'hagi establert a partir de l'estudi de la mostra histològica. Així, cN1 fa referència a les M1G diagnosticades abans o durant la intervenció quirúrgica i pN1 a les detectades amb l'estudi anatomopatològic.

L'estratificació ganglionar en el CT és molt simple en comparació amb les categories incloses en l'estratificació del paràmetre N en d'altres neoplàsies sòlides malignes. En el cas d'altres tumors, com ara en el càncer de mama (30), es valoren aspectes més enllà de l'afectació o no d'un compartiment ganglionar anatòmic, en el sentit de quantificar mitjançant diferents valors la càrrega metastàtica al GL. Això s'aconsegueix introduint altres criteris en les diferents subcategories N que valoren, per exemple, el número de GL afectats o la mida de les M1G, donant per tant una idea més real no només de la «presència o no» de metàstasis sinó també de la «quantitat» de metàstasi als GL. Per tant, la subcategorització N1 / N0 en el CT no permet quantificar aquest volum real de M1G, atorgant la mateixa categoria N1 a

un pacient amb afectació inframil·limètrica d'un sol GL que a un altre pacient amb afectació ganglionar massiva. Amb la intenció de matisar aquesta categorització poc informativa del GL, la pròpia classificació TNM aconsella tanmateix afegir a l'informe anatomopatològic altres dades histològiques amb la finalitat de refinar el pronòstic de cada pacient (30). Algunes d'aquestes dades fan referència precisament a l'afectació nodal i són concretament el nombre de GL afectats, el nombre de GL analitzats, el diàmetre del GL metastàtic més gran, el diàmetre del focus metastàtic en el GL i la presència d'EEG. Per a tots aquests criteris ampliat reconeix tanmateix que no existeixen punts de tall suficientment consensuats i els hi atorga un nivell moderat d'evidència (30).

2.5. Informe anatomopatològic

En la mateixa línia de les recomanacions que proposa la classificació TNM respecte a la inclusió en els informes de paràmetres anatomopatològics no considerats específicament per a la categorització pN del CPT, nombroses societats científiques recomanen, en les seves guies o propostes de maneig dels pacients, que l'informe histològic reculli una sèrie de variables addicionals considerades d'interès clínic i/o pronòstic. Malgrat això, pel fet de ser guies o recomanacions, es tracta de paràmetres histològics no consensuats de forma universal i per tant d'aplicació irregular i no estandarditzada. Amb tot, totes elles mostren acord en l'ús sistemàtic de la classificació patològica pTNM de l'AJCC.

En aquest sentit, el Grup de Treball de Patologia Endocrina de la *Sociedad Española de Anatomía Patológica* (SEAP) publica, l'any 2020, unes recomanacions pel maneig i l'estudi de les mostres de pacients amb neoplàsies tiroïdals (32,33). El document inclou recomanacions per a tots els nivells d'estudi del tumor, des de l'examen macroscòpic a l'estudi histològic definitiu o la documentació de tècniques complementàries i estudis moleculars. Pel que fa a la dissecció dels GL, i a banda d'informar-los separatament depenent del compartiment limfàtic al qual corresponguin, la guia és exhaustiva en l'estudi macroscòpic de la peça de limfadenectomia i recomana especificar: el tipus de dissecció anatòmica realitzada (limfadenectomia radical, radical modificada, selectiva o superselectiva), la presència i dimensions del múscul esternoclidomastoïdal, la vena jugular o les glàndules submandibular i/o paròtide, l'existència d'una massa palpable solitària o adherida, la invasió tumoral macroscòpica dels teixits tous, múscul o vena jugular en relació amb els GL afectats, la mida de les masses ganglionars (havent-se de considerar les masses de més de 3 cm com a M1G confluents o extensió a teixits tous) i l'EEG macroscòpica. Pel que fa als paràmetres que ha d'incloure l'informe histològic respecte l'estat ganglionar, recomana fer constar el número total de GL avaluats, el número de M1G i la seva localització, la mida del GL afectat més gran així com la mida de la metastasi dins del GL i la presència o no d'EEG.

Per la seva banda, el *College of American Pathologists* (CAP) reconeix, en el seu "*Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Carcinomas of the*

Thyroid Gland" (27) de l'any 2019, que existeix un component important de subjectivitat en l'avaluació dels criteris que proposa i emfatitza en que l'objectiu de la guia és aportar una informació pràctica i uniforme que sigui útil a totes les disciplines que intervenen en el procés diagnòstic del pacient. La seva guia de diagnòstic aconsella també especificar el nombre de GL examinats i afectats, indicant-ne els compartiments limfàtics, la mida del focus metastàtic més gran i l'EEG. No inclou en canvi la mida absoluta del GL metastàtic més gran. Reconeix també la falta d'acord en la interpretació dels cossos de psammoma aïllats en el GL, aconsellant que se'ls consideri pN1a (sense fer referència al compartiment limfàtic on es trobin) donat que poden traduir potencial d'extensió limfàtica del CPT. Tot i que accepta, basant-se en la bibliografia, el probable menor impacte clínic de les micrometàstasis (mM) respecte les macrometàstasis (MM), accepta –en la línia de la classificació TNM– la manca d'estàndards en els punts de tall per a la seva definició. Malgrat això –i és aquest un apunt no inclòs en versions prèvies de la guia– proposa, acceptant les opinions d'experts i les recomanacions de l'*American Thyroid Association* (ATA), el punt de tall de 2 mm per a definir mM, sense especificar de forma expressa si es refereix a la mida del GL o del dipòsit metastàtic. Respecte el concepte «cèl·lules tumorals aïllades» (CTA) reconeix, malgrat no definir-lo i igual com amb les mM, el seu baix impacte pel que fa al risc de recurrència locoregional. D'altra banda, reconeix que part dels GL del CC poden ressecat-se en bloc amb la peça de tiroïdectomia, i que per tant els GL peritiroïdals metastàtics identificats s'han de computar dins el compartiment VI. Respecte la presència d'EEG, i a diferència del que s'accepta pels carcinomes escamosos metastàtics de cap i coll, argumenta que no és un criteri a dia d'avui prou validat com a factor de risc de malaltia metastàtica local o a distància. Malgrat el comentari, aconsella reportar-ho. Pel que fa al número de GL que haurien d'incloure les peces de limfadenectomia proposa –en un coll no intervingut prèviament– un mínim de 6 GL per a les limfadenectomies selectives i de 10 per a les radicals o radicals modificades. La guia es posiciona en contra de l'ús d'altres tècniques d'anàlisi del GL més enllà de la histologia, fent referència específica als protocols de gangli sentinella (GS). Accepta només l'estudi immunohistoquímic com a prova complementària en cas de dubte.

Finalment, l'ATA publica regularment les seves *Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer*, sent la versió vigent de l'any 2015 (34). L'objectiu que pretenen la guia és doble. D'una banda, ser un document actualitzat –consultable tant per professionals mèdics com per pacients i investigadors– que reculli l'evidència publicada fins el moment en relació al diagnòstic i maneig del nòdul tiroïdal en general i del CDT en particular i, de l'altra, proposar recomanacions basades en l'evidència tant pel que fa a la detecció i avaluació clínica inicial del nòdul tiroïdal com al diagnòstic, tractament i seguiment dels pacients amb CDT. La informació histològica que aconsella reportar en l'informe anatomopatològic és, com sembla lògic, superposable a la referida en la guia del CAP. A diferència d'aquesta, la guia de l'ATA sí que reconeix el paper de l'EEG com a factor de risc suficientment demostrat. Més enllà de quins són els paràmetres que cal reportar en l'informe histològic de la M1G, i donat que el sistema d'estratificació TNM de l'AJCC no prediu adequadament el risc de recurrència en el CDT sinó només el risc de mortalitat, proposa –en pacients sense evidència de malaltia estructural identificable després del tractament inicial– un sistema d'estratificació clínicopatològic en tres grups que atorga als pacients un baix, intermedi o alt risc de recurrència de la malaltia. Com es pot veure a la figura 10 i a diferència de les edicions anteriors, la del 2015 estableix una gradació ascendent de mal pronòstic més que no pas uns criteris específics que defineixin de manera rígida cadascun dels tres grups de risc. Així, aquest risc de recurrència s'incrementa percentualment en funció de diverses característiques clíniques, histològiques i moleculars. Específicament, els paràmetres histològics i punts de talls inclosos que afecten a l'estat ganglionar són, de més risc a menys:

pN1 amb EEG i més de 3 M1G

pN1 amb presència de com a mínim un GL metastàtic major de 3 cm

pN1 amb més de 5 M1G

pN1 amb tots els GL menors de 0.2 cm (que defineix com a mM)

pN1 amb fins a 5 M1G

pN1 sense EEG i fins a 3 M1G

Aquestes variables, combinades amb altres dades histològiques com ara el tipus de tumor (CPT o CFT), la mida, la invasió vascular o extratiroïdal i la multifocalitat,

permeten categoritzar el risc de recidiva estructural de la malaltia. En alguns d'aquests criteris es genera confusió respecte si el punt de tall de mida proposat fa referència a la mida del GL metastàtic en la seva totalitat o del focus metastàtic pròpiament. I, com s'ha dit prèviament, la guia del CAP recomana reportar només la mida del focus metastàtic –que podria ésser menor a 0.2 cm però per contra trobar-se en un GL de més de 3 cm d'eix major–.

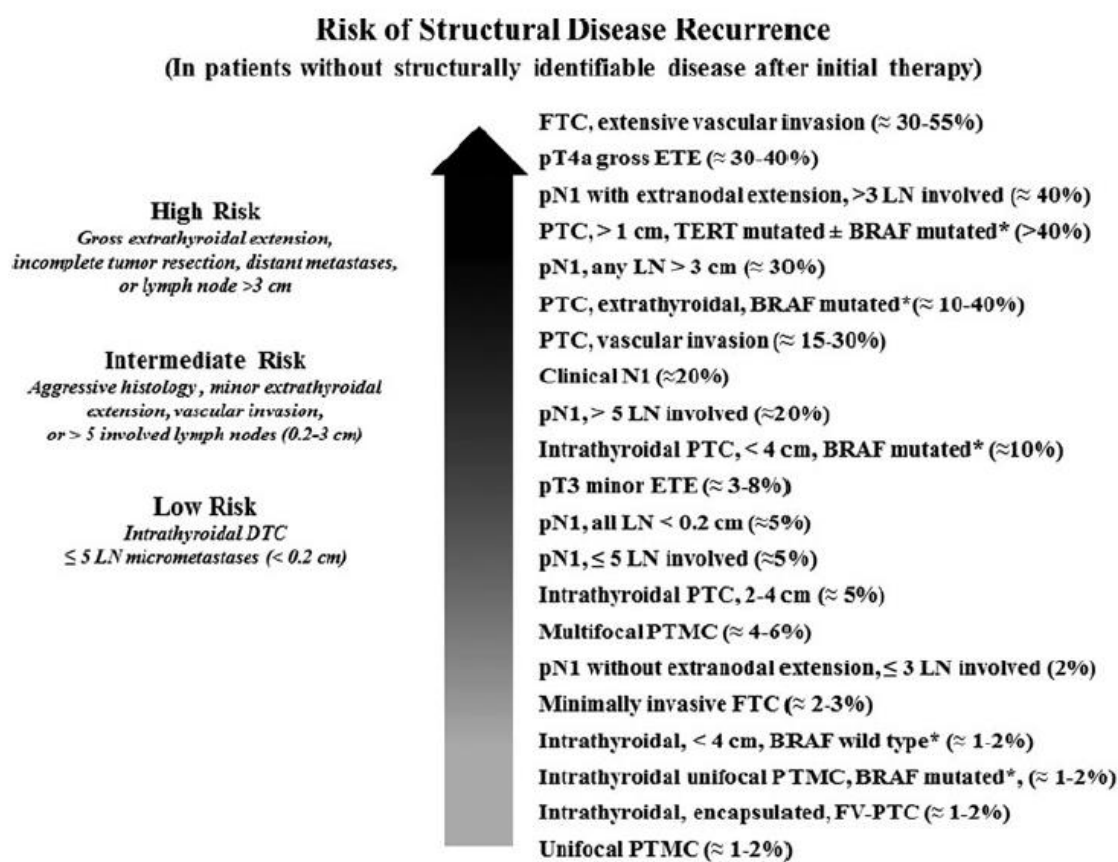


Figura 10: Gradació de criteris que defineixen el risc de recurrència de malaltia estructural en pacients sense neoplàsia residual identificable després del tractament inicial (ATA 2015). (FTC: CFT; ETE: extensió extratiroidal; LN: GL; PTC: CPT; PTMC: micro CPT; FV-PTC: CPT de variant fol·licular). (34)

Finalment i en relació a l'estat mutacional de BRAF i/o del promotor de TERT en el tumor, la guia de l'ATA no considera necessària la seva determinació per a l'estratificació inicial del risc, però la inclou com a criteri addicional que pot perfilar-lo millor en cas que puguem disposar d'aquesta informació.

2.6. Incidència de metàstasis ganglionars

Com s'ha dit anteriorment, la principal via de disseminació del CPT és la limfàtica i per tant les M1G de la regió cervical, especialment les del CC, són les primeres en aparèixer. Totes les sèries confirmen una elevada incidència de M1G en el moment del diagnòstic i/o de la intervenció quirúrgica. El 2017 Liang i cols (13) van publicar una metanàlisi que incloïa 23 articles i més de 6 800 pacients on comparaven els resultats de casos amb tiroïdectomia total (TT) enfront aquells amb TT més buidament limfàtic ganglionar, tots ells cN0. Els autors van observar una freqüència de pN1 del 16.7% al 82.3%. L'elevada heterogeneïtat entre els diferents treballs es podia explicar pel tipus i extensió de la cirurgia, la qualitat de l'ecografia preoperatòria i la qualitat de l'examen histopatològic. En un estudi del nostre centre en col·laboració amb d'altres hospitals de Catalunya es van detectar M1G en 353 de 896 (39.4%) casos (6). Per a la majoria de publicacions la freqüència de pN1a es troba al voltant del 40-70%. S'han definit diferents factors de risc que predisposarien a una major probabilitat de M1G entre els quals hi figuren: la mida del tumor i la seva localització, la multifocalitat, la invasió limfovacular, la invasió capsular, l'extensió extratiroïdal del tumor, la variant histològica i l'edat i el sexe del pacient (35–37).

Un gran nombre d'aquestes M1G no són diagnosticades abans de l'acte quirúrgic, de manera que un elevat percentatge de cN0 poden acabar sent pN1. Més enllà de la possible palpació d'adenopaties a l'exploració física en una fracció molt reduïda de pacients, la principal prova diagnòstica de les M1G és l'ecografia cervical, habitualment acompanyada d'una punció–aspiració amb agulla fina (ECO-PAAF) i estudi citològic. Aquesta eina mostra una elevada sensibilitat en la detecció de les M1G del CL, però perd eficàcia en el diagnòstic de les del CC. Un estudi del 2017 de Sojak i cols (38) amb 157 pacients a qui se'ls feia limfadenectomia del CC (LCC) descrivia que l'ecografia havia detectat M1G en el 30% dels casos, mentre que la histologia n'evidenciava en el 56%.

Pel que fa a la incidència de N1b, és a dir, d'afectació de GL del CL, aquesta és més baixa tot i que hi ha menys estudis degut a la més infreqüent realització de

buidaments limfàtics en aquesta àrea. Malgrat aquest factor limitant, alguns treballs apunten una freqüència que podria arribar al 40–50% dels casos (39–42).

2.7. Tractament de les metàstasis ganglionars

El tractament de les M1G és la seva exèresi quirúrgica (limfadenectomia o buidament ganglionar). Seguint el consens terminològic que va establir l'ATA el 2009 (43) definim buidament ganglionar terapèutic (BGT) quan les M1G són evidents clínicament (abans o durant la cirurgia) o per imatge (cN1) i definim buidament ganglionar profilàctic o electiu (BGP) quan no hi ha evidència clínica o radiològica de M1G (cN0) en el moment de la intervenció. L'any 2012 l'ATA (44) actualitza la terminologia de la manera següent: cN1 inclou les M1G detectades per palpació abans de cirurgia, per una prova d'imatge abans de cirurgia o durant la inspecció intraoperatòria per part del cirurgià. Quan es fa buidament d'un pacient cN1 parlem de BGT, si es realitza sobre un pacient cN0 es tracta d'un BGP.

En els pacients cN1 totes les guies recomanen realitzar el BGT del compartiment ganglionar afectat durant el mateix acte quirúrgic de la tiroïdectomia (34). Les recomanacions de la *British Thyroid Association* (BTA) també especifiquen que en cas de dubte de M1G es pot fer estudi intraoperatori en congelació (45). A més, recomana que en els casos cN1b el BGT del CL s'ampliï amb el BGP del CC – malgrat la no evidència de M1G en aquest compartiment limfàtic– donat que el risc de pN1a en aquesta circumstància és >80%. Amb això, s'evita una segona intervenció i la morbiditat que això comporta.

Mentre que hi ha un consens absolut en la indicació del BGT, esdevé motiu de debat la indicació del BGP del CC (46–48). Al llarg dels darrers anys hi ha autors que han justificat el paper del BGP amb els arguments de l'elevada freqüència de les M1G cervicals, la poca sensibilitat de les tècniques diagnòstiques prequirúrgiques, la millora en el pronòstic del pacient i el fet que facilitaria el seguiment posterior donat que milloraria el rendiment de les tècniques que s'utilitzen amb aquesta finalitat (rastreig amb radioiode i determinació de tiroglobulina plasmàtica). Contràriament, el dubtós benefici en el pronòstic, la prolongació del temps operatori i, per damunt de tot, la major incidència de complicacions quirúrgiques han estat els arguments defensats pels detractors del BGP. Múltiples estudis i diverses metanàlisis han intentat validar científicament una o altra opció sense aconseguir, a hores d'ara, un clar posicionament general

(49–54). S'ha calculat que l'estudi prospectiu definitiu per saber si el BGP és efectiu seria inviable tan logísticament com econòmicament (55). No obstant, el 2015 es va publicar l'únic estudi prospectiu amb aquesta finalitat (56). La conclusió dels autors va ser que no hi havia cap avantatge clínic en fer el BGP a pacients amb cN0 valorat per ecografia. Aquest debat no existeix en relació al CL, pel qual tothom està d'acord que no hi ha mai indicació pel BGP.

En els darrers anys s'està imposant una tercera proposta en relació a la limfadenectomia, que consisteix en indicar un buidament en tots el casos en que sigui terapèutic i reservar el BGP per a pacients d'alt risc. Així, per exemple, la recent guia de l'ATA 2015 (34) aconsella el BGP a casos amb cN0 només quan es tracta de tumors T3 i T4, s'ha demostrat afectació laterocervical (cN1b) o pot servir per a planificar l'estratègia terapèutica futura. D'altra banda, la guia de la BTA (45) planteja restringir el BGP als pacients de més de 45 anys, subtipus histològics agressius, tumors multifocals, tumors de >4 cm o amb extensió extratiroïdal, mentre que en la resta recomana no fer-ho. Un article de consens de la *European Society of Endocrine Surgeons* (ESES) (57) és de la mateixa opinió, suggerint l'estratificació segons el risc de recurrència.

El debat sobre la millor opció en relació a la limfadenectomia rau, principalment, en dues grans incerteses. La primera, la baixa sensibilitat, amb les eines actuals, de diagnosticar les M1G abans de la cirurgia, especialment les del CC. La segona incertesa fa referència al desconeixement sobre el veritable significat pronòstic de les M1G. Si, com diuen alguns autors, el risc de mal pronòstic de les M1G cervicals és molt baix, el BGP no tindria cap sentit. Si, contràriament, les M1G s'associen a un empitjorament d'aquest pronòstic, el BGP estaria totalment justificat.

2.8. Valor pronòstic de les metàstasis ganglionars

El CPT és generalment un tumor de bon pronòstic. Un estudi de Lang i Won de 2015 (58) estableix que la mortalitat per CPT als 10 anys és del 3-4% mentre que el risc de mortalitat per altres causes en aquests mateixos pacients és del 5%. En una cohort de més de 29 000 pacients amb CT, Yang i cols (59) calculen que la mortalitat als 5 anys per la neoplàsia tiroïdal és de l'1.9%, per altres càncers en aquests mateixos pacients del 0.8% i per malalties no tumorals de l'1.7%. Molt més freqüent és la recurrència del tumor, que s'estableix en un 15-25% dels CPT. En la majoria de casos la recurrència no s'associa a risc de mortalitat però comporta la necessitat de nous tractaments i empitjora la qualitat de vida del pacient. Així, en la major part d'estudis, el paràmetre que es té en compte com a factor pronòstic de la malaltia va més associat al risc de recurrència que al de mortalitat.

La contribució de les M1G cervicals al pronòstic del CPT és un aspecte sobre el qual no hi ha un consens definitiu. Clàssicament s'ha establert que l'afectació ganglionar comporta un major risc de recurrències i sembla força clar que la relació és inequívoca en casos de M1G detectades abans de la cirurgia (cN1). D'aquesta manera s'accepta que el BGT redueix el risc de recidives i fins i tot allarga la supervivència específica de la malaltia. La presència de M1G és un factor de mal pronòstic en dos estudis del *Surveillance, Epidemiology, and End Results* (SEER) amb un elevat nombre de pacients inclosos (60,61). Gorsthein i cols (62) comparen l'evolució de 223 pacients amb cN0 i 169 amb cN1 i troben que el percentatge de persistència a l'any és del 6.7% als cN0 i del 47% als cN1 i del 3.6% i del 33.5%, respectivament, al final del seguiment. Diversos nomogrames que intenten estimar el percentatge de risc en relació a mortalitat específica per CPT inclouen la presència de M1G com a variable significativa per a calcular aquest risc (58,59).

L'aspecte més debatut fa referència a quan les M1G no es detecten abans de la cirurgia sinó que apareixen quan es realitza un BGP, és a dir, aquells casos cN0 que acaben sent pN1. En altres paraules, no està clar el paper de les M1G clínicament ocultes. El grau d'aquest risc intrínsec sobre el pronòstic de la malaltia és el que justificaria –o no– la realització del BGP. És per aquest motiu que en els darrers 15 anys s'han publicat molts treballs al respecte. Entre aquestes publicacions hi ha

diverses metanàlisis. La de Zetoune i cols (50) inclou 5 estudis amb 1 264 pacients i no troba diferències significatives en la OR de recurrències. La de Lang i cols (51) inclou 14 estudis amb 3 331 pacients i conclou que el BGP s'associa significativament a un menor risc de recurrència locoregional a curt termini però a major freqüència de tractament posterior amb radioide, fet que podria esbiaixar l'efectivitat del BGP. La metanàlisi de Wang i cols (52) inclou 11 estudis amb 2 318 pacients i detecta una tendència encara que no significativa a menors taxes de recurrència. Els autors calculen que cal fer 31 BGP per a prevenir 1 recurrència. La quarta metanàlisi (63), que inclou 9 estudis, no troba cap diferència en el risc de recurrència limfàtica local. Una cinquena metanàlisi (64), on s'estudien únicament microcarcinomes, conclou que caldria considerar fer el BGP en aquells tumors majors de 5 mm, multifocals o amb invasió capsular. En la de Zhao i cols (53) s'analitzen 17 estudis amb 4 437 pacients (2 468 amb TT i 1 969 amb TT i BGP). Els autors troben diferències significatives en les recurrències (4.6% enfront 6.9%, en els casos amb BGP i sense respectivament). No obstant això, aquesta reducció és significativa en relació a les recurrències en el CC (1.1% vs. 3.4%) però no en les recurrències del CL (3.3% vs. 3.2%). Això implica que quan es fa BGP la majoria de les recurrències siguin al CL, mentre que quan no es realitza els percentatges són similars. Així doncs, el BGP del CC no evita la M1G del CL. Finalment, en la revisió que es fa al ja citat treball de consens de l'ATA de 2012 es conclou que el risc de recurrències dels pacients cN0 va del 0 al 9%, que és similar al risc dels que són cN0 i després d'un BGP passen a pN1 amb només mM (4-11.5%) (44).

De tots els treballs publicats sobre el paper de les M1G cervicals en el pronòstic dels pacients amb CPT es desprèn que, possiblement, la simple presència o absència de GL afectats (N0 vs. N1) no discrimina suficientment el seu potencial d'agressivitat. És per això que diversos autors han proposat definir millor el significat de la M1G afegint altres característiques. La guia ATA del 2009 classificava de risc intermedi qualsevol pacient amb N1 independentment de cap altra consideració (65) mentre que, com hem vist anteriorment, la guia del 2015 defineix el risc en funció de certes variables d'aquestes M1G com són la quantitat de GL afectats del total de GL inclosos en el buidament, la mida d'aquests GL o la presència d'EEG (34).

Per altra banda, no hi ha controvèrsia en acceptar que la presència de M1G en el CL (N1b) s'acompanya d'un risc significatiu de recurrència, que s'ha establert en un 5-13%. Per exemple, McNamara i cols al 2016 (66) defineixen, després d'un seguiment mitjà de 63.5 mesos, un risc de recurrència del 7.8% en una àmplia sèrie de 484 pacients cN1b.

2.9. Biòpsia selectiva del gangli sentinella

Com s'ha desenvolupat prèviament, i de mode general, el tractament quirúrgic estàndard del CPT és a dia d'avui la TT amb o sense LCC. S'han definit també els conceptes de BGT i BGP. El fet que fins en prop del 50% dels BGP del CC s'acabin demostrant M1G, però també l'evidència d'un major risc de complicacions quirúrgiques de la TT+LCC enfront la TT aïllada, generen la necessitat de millorar el diagnòstic prequirúrgic de l'estat ganglionar, amb l'objectiu final de plantejar una cirurgia més personalitzada dels pacients i evitar el màxim de limfadenectomies innecessàries. S'ha discutit també que un dels principals problemes en l'optimització de l'estadiatge son les limitacions en el diagnòstic prequirúrgic de les M1G cervicals mitjançant l'ecografia, amb bon rendiment diagnòstic en el cas del CL però molt menor en l'estudi del CC, el més freqüentment afectat.

Per tal de millorar el diagnòstic prequirúrgic o intraquirúrgic de les M1G s'ha introduït, igual com passa en tumors d'altres òrgans, un tercer tipus de limfadenectomia que anomenem «selectiva» i que introdueix el concepte de «gangli sentinella», d'ara endavant GS. El GS és, per la seva localització anatòmica i per les característiques del drenatge limfàtic d'un tumor determinat, el primer estadi de disseminació metastàtica. Si el GS és negatiu, i basant-nos en el fonament teòric de l'afectació seqüencial, previsible i no anàrquica dels diferents compartiments ganglionars, assumim que ho seran també la resta de GL, donat que les cèl·lules metastàtiques haurien de passar-hi ineludiblement abans de disseminar-se a territoris més allunyats. L'estudi histològic del GS permet a més una selecció ganglionar funcional, restringint l'anàlisi a pocs GL i permetent que aquest sigui més exhaustiu, centrant els esforços a l'estudi d'aquells GL amb major probabilitat d'estar afectats. Sabem que la tècnica del GS aplicada al CPT té un valor predictiu alt respecte l'afectació ganglionar total (67–70). Idealment, i amb l'objectiu de guiar en temps real l'abordatge quirúrgic dels GL, el GS s'hauria d'analitzar intraoperatòriament, la qual cosa és factible aplicant-hi la metodologia convencional usada en d'altres neoplàsies com ara els carcinomes de la mama, el melanoma, els carcinomes escamosos de cap i coll o algunes neoplàsies ginecològiques (71–74). Permet a més detectar GS en territoris fora de la cirurgia

reglada estàndard en tumors de drenatge atípic o en el cas de drenatge en més d'un compartiment limfàtic. Així doncs, en cas de GS negatiu no seria necessària l'exèresi de més GL i, per contra, en cas de positivitat estaria indicada la limfadenectomia del compartiment limfàtic corresponent.

Des del punt de vista metodològic, la detecció del GS pot realitzar-se mitjançant la injecció intratumoral o peritumoral de diferents marcadors que són els que, circulant pel sistema limfàtic, drenaran en el GS. Aquests marcadors poden ser un colorant vital, marcadors basats en ^{99m}Tc -nanocol·loid, la combinació d'ambdós o fins partícules magnètiques (70,75). La tècnica basada en ^{99m}Tc -nanocol·loid admet tres possibilitats: la limfoscintigrafia planar amb l'ús d'una gamma sonda manual intraoperatòria, aquesta mateixa tècnica amb el complement de l'SPECT/TC preoperatori i, en tercer lloc, la limfoscintigrafia combinada amb el colorant vital. D'aquestes, i malgrat la heterogeneïtat de les dades publicades, la limfoscintigrafia és la més usada actualment donat que millora entre un 13-16% el percentatge de detecció del GS respecte a la tècnica de colorant vital (70). Combinada amb SPETC/TC és la que demostra uns millors nivells de detecció dels GS no visualitzats o amb baixa radioactivitat, inclosos aquells molt pròxims al lloc d'injecció del traçador, alhora que permet al cirurgià un mapeig òptim dels GS en relació a altres estructures anatòmiques, facilitant l'abordatge quirúrgic. Una limitació important és definir per a cada cas quins dels GL que mostren radioactivitat han de ser ressecats, donat que per a un compartiment limfàtic determinat no sempre el GS que mostrarà M1G en l'estudi histològic haurà de ser necessàriament el de major radioactivitat. En aquest sentit, la literatura recull diferents estratègies de selecció dels GL a ressecar (els més «calents» o amb major nivell de radioactivitat, el més calent i els GL addicionals que mostrin un mínim d'un 10% d'intensitat que aquest *ex vivo* o d'altres aproximacions). D'això se'n deriva un ampli marge d'arbitrarietat i falta de consens en un punt crític de la tècnica del GS. Així doncs, es fa necessària l'estandardització dels protocols de la tècnica de la biòpsia selectiva del GS (BSGS) per tal de guiar la cirurgia amb l'objectiu d'identificar els GL amb major probabilitat d'afectació i minimitzant al màxim el nombre de GL ressecats, tant per reduir el risc quirúrgic com per fer possible el seu estudi intraoperatori, que òbviament no serà factible amb un nombre de GL excessiu.

L'estudi histològic del GS és un altre coll d'ampolla en la metodologia de la BSGS. D'una banda, i de manera similar al que passa amb la decisió de quins GL ressecar, per la coexistència de múltiples protocols d'estudi –tant a nivell intraoperatori com en l'estudi diferit– i, de l'altra, pel marge d'error àmpliament reconegut a la literatura en l'estudi intraoperatori dels GS respecte l'estudi definitiu (69,76). L'anàlisi intraoperatoria pot incloure, depenent del protocol del centre, l'estudi per empremta citològica i/o l'estudi d'un tall central en congelació. L'estudi histològic diferit, una vegada fixat el GS en formol i processat tècnicament com una biòpsia rutinària, sol incloure seriació en múltiples nivells i estudi immunohistoquímic per a citoqueratines en un o més dels nivells estudiats. L'anàlisi anatomopatològica del GS tal com s'ha exposat té una sèrie de limitacions com poden ser la manca d'estàndards en el procediment, les dificultats intrínseques de l'estudi intraoperatori (errors d'interpretació, artefactes i defectes de mostreig), el fet que l'estudi del GS sigui incomplet o bé que l'estudi definitiu sigui inevitablement el diferit. En el millor dels casos, s'accepta que probablement no s'arribarà a analitzar de forma real més del 15% del teixit ganglionar total (76).

A la pràctica, la literatura publicada reconeix que l'estudi intraoperatori convencional del GS en CPT té al voltant d'un 15% de falsos negatius (FN) (69,77,78). Una metanàlisi publicada l'any 2016 recollia unes taxes de FN en tres dels estudis analitzats del 17.2%, 8.3% i 9.5%, corresponent la dada menor a la publicada pel nostre grup, l'experiència inicial del qual resumim en el paràgraf següent (69). Aquesta és una limitació important, donat que la reintervenció del coll per causa d'un FN pot ser quirúrgicament complexa. De fet, alguns autors proposen la detecció del GS fonamentalment per a «guiar» la cirurgia i amb l'objectiu únic d'identificar les vies de drenatge limfàtic d'un tumor determinat – independentment de la presència o no de M1G en el GS–, en el que podríem definir com a «BGP personalitzat» (70).

Amb l'objectiu de millorar l'estadiatge ganglionar dels pacients amb CPT i assegurar un abordatge quirúrgic el més individualitzat possible, l'equip multidisciplinari de càncer de tiroide de l'Hospital Vall d'Hebron es va plantejar l'any 2009 –i partint de l'experiència pròpia ja consolidada en d'altres tumors– la implementació de la tècnica de la BSGS mitjançant limfoscintigrafia amb

SPECT/TC en els pacients amb CPT. L'experiència recollida en els primers 24 pacients (interval 2009-2011) fou publicada l'any 2013, article que s'adjunta com a «Document Annex A» (79). Els objectius inicials d'aquest estudi pilot van ser diversos i incloïen la descripció del drenatge limfàtic del CPT emprant la tècnica nuclear descrita, l'avaluació de l'extensió limfàtica de les M1G –comparant l'afectació del GS amb els resultats de la limfadenectomia– i l'anàlisi de la capacitat de detecció intraquirúrgica dels GS identificats, amb l'objectiu últim de consolidar i implementar de forma definitiva aquesta metodologia a la institució. Breument, la metodologia emprada era la següent: el dia previ a la cirurgia es realitzava la limfoscintigrafia amb la injecció intratumoral ecoguiada del ^{99m}Tc -nanocol·loid, obtenint les imatges planars i SPECT/TC. Tots els pacients eren sotmesos a TT, exèresi dels GS detectats amb l'ajut de gamma sonda manual –amb anàlisi intraoperatòria de tots ells– i LCC, ampliada amb limfadenectomia del compartiment lateral (LCL) en cas d'estadi N1b preoperatori o evidència de GS positiu en el CL (figura 11). La limfoscintigrafia va ser capaç de detectar al menys un GS en les imatges planars i SPECT/TC en el 79% dels pacients, i en el 96% durant la cirurgia amb la gamma sonda. La capacitat de detecció de M1G fou del 12% preoperatòriament o amb la inspecció quirúrgica únicament, del 43% amb l'estudi intraoperatori dels GS i del 54% amb l'estudi histològic definitiu. El percentatge global de FN (detecció del GS i estudi intraoperatori) va ser del 15.4%. El drenatge limfàtic fou únicament en el CC en el 25% dels pacients, únicament en el CL en el 21% i en ambdós compartiments en el 50% dels casos. Aquest estudi preliminar va permetre concloure els bons resultats en les nostres mans de la tècnica de la BSGS descrita en el context de CPT, capaç de detectar el drenatge

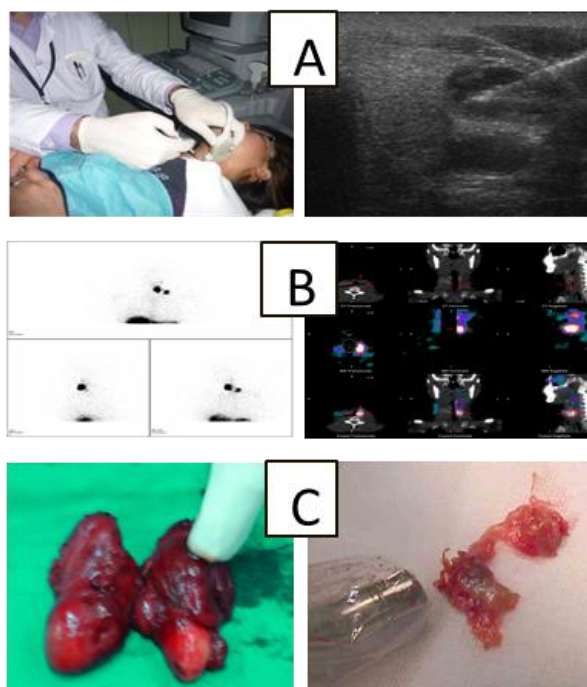


Figura 11: Metodologia de la tècnica de la BSGS a l'Hospital Vall d'Hebron (A: injecció intratumoral ecoguiada del ^{99m}Tc -nanocol·loid; B: obtenció de les imatges planars i SPECT/TC; C: detecció de radioactivitat tiroïdal i limfàtica amb gamma sonda manual) (Cortesía de la Dra. García-Burillo).

limfàtic en una elevada proporció dels pacients, permetent així la detecció de M1G ocultes i oferint bones perspectives en la millora del tractament quirúrgic dels pacients.

Des que es va proposar per primera vegada l'ús de la tècnica de la BSGS per Kelemen i cols (80) fa més de 20 anys, i a diferència del que passa en d'altres neoplàsies, la seva aplicació en el CPT ha estat motiu de debat. Malgrat la controvèrsia i la disparitat en els resultats a la literatura, alguns treballs publicats recullen percentatges elevats de detecció de M1G ocultes amb aquesta tècnica, en la línia de les nostres dades preliminars prèviament referides i que van del 49% al 67% (81,82). D'altra banda, i pel que fa al viratge de cN0 a pN1, una sèrie del 2015 publicada per Cabrera i cols (83) el descriu en fins el 30.4% dels pacients. En d'altres estudis aquest percentatge és menor (84,85).

Malgrat les dades publicades, i com s'ha exposat prèviament, algunes societats científiques –com el CAP– es posicionen manifestament en contra de l'ús de la tècnica de la BSGS en CPT. Un dels arguments més consistents amb què ho justifiquen és precisament l'elevada freqüència de FN en l'estudi intraoperatori dels GS. L'experiència publicada en la tècnica de la BSGS en CPT és a dia d'avui escassa. Com hem vist, en la citada revisió de Portinari i Carcaforo (69) es recollen únicament 3 treballs amb dades ben analitzades i que feien referència, en total, a 194 pacients avaluats amb tècnica radioguiada. En aquests pacients els FN suposaven, de mitjana, fins el 14.5% dels casos. En la línia del que s'ha apuntat abans, aquest treball conclou que en el CPT –inclosos els estadis T1 / T2–, l'elevada freqüència intraoperatoria de FN de la tècnica de la BSGS aconsella que aquesta sigui només emprada per a «guiar» la limfadenectomia depenent dels nivells de radioactivitat dels diferents compartiments limfàtics, amb l'únic objectiu de millorar l'estadiatge ganglionar i personalitzar millor l'ablació postoperatoria amb radioiode, reduint així la possibilitat de malaltia persistent postquirúrgica.

Un article de revisió de l'any 2020 recull l'experiència de 4 metanàlisis prèvies (2.498 pacients) i analitza les diferents metodologies emprades, el nivell de detecció del GS, la freqüència global de FN, el mètode d'anàlisi histològica del GS i l'algorisme de decisió quirúrgica aplicat depenent de quin en sigui el resultat (70). La definició de FN no és sempre equivalent en els diferents treballs, i això en fa

difícil la comparació. Alguns autors la calculen considerant exclusivament el resultat de l'estudi intraoperatori del GS respecte l'estudi histològic definitiu d'aquest GS, d'altres consideren els GS definitivament negatius (estudi intraoperatori + estudi diferit) respecte la presència o no de M1G en la limfadenectomia corresponent i altres inclouen en el concepte de FN l'èxit o fracàs en la identificació del GS, més enllà dels resultats de concordança de l'estudi histològic que se'n deriva. Amb tot, les dades de FN reportades són extremadament heterogènies (0-40%). Malgrat això, en el que sembla haver-hi acord en la literatura és en el fet que la implementació definitiva de la metodologia de la BSGS en CPT necessita, d'una banda, de sèries de pacients amb seguiment clínic a llarg termini que aportin informació consolidada pel que fa a les taxes de recurrència i supervivència en el temps dels pacients tractats amb aquesta tècnica i, de l'altra, de l'estandardització del procediment –incloent-hi l'optimització, també, de l'estudi intraoperatori–, abans de poder replantejar de forma definitiva la necessitat ineludible del BGP.

2.10. One Step Nucleic Acid Amplification (OSNA)

El problema dels FN de l'estudi intraoperatori del GS no és un fet particular del CPT, sinó un problema compartit per totes les neoplàsies on s'indica la tècnica de la BSGS (86–88). Aquest fet pot obligar a una reintervenció quirúrgica quan l'estudi diferit definitiu rectifica el diagnòstic inicial i demostra la presència de M1G. En els darrers anys, i amb l'objectiu de reduir l'error diagnòstic en l'estudi dels GS amb les tècniques convencionals d'estudi citològic i tall en congelació, ha estat bastament implementada l'anàlisi intraoperatòria del GS amb una tècnica molecular i quantitativa anomenada *One Step Nucleic Acid Amplification* (OSNA). La màxima expansió en la implementació d'aquesta tècnica la trobem en el càncer de mama (89,90), però també ha estat introduïda de forma més minoritària en el càncer gàstric i colorectal (91,92). Des del punt de vista teòric, que més endavant desenvoluparem, la seva aplicació hauria de suplir les deficiències de l'estudi intraoperatori tradicional dels GS donat que avalua amb elevada fiabilitat el 100% del GS en l'acte intraoperatori, obtenint un resultat ràpid, definitiu i precís. Cap de les qualitats definides –estudi de la totalitat del GS, estudi definitiu en el mateix moment quirúrgic i elevada fiabilitat en el resultat emès– és possible amb la metodologia d'estudi histològic clàssic. Més enllà d'aquests avantatges, l'ús d'OSNA permet homogeneïtzar i estandarditzar el procediment d'anàlisi del GS, pel qual coexisteixen a dia d'avui un gran nombre de protocols no consensuats entre les diferents institucions (76). La tècnica OSNA suposa un valor afegit al resultat, donat que no ens proporciona només una informació absoluta sobre l'afectació «sí» o «no» del GS sinó que és capaç de quantificar la càrrega tumoral present.

L'assaig OSNA (Sysmex, Kobe, Japan) és un mètode molecular semiautomatitzat que es basa en l'homogeneïtzació del GL seguida de l'amplificació i quantificació en temps real de l'ARN missatger (ARNm) de la citoqueratina 19 (CQ19) a partir del lisat obtingut, proveint el resultat en aproximadament 30-40 minuts (89,93). De la mateixa manera com passa en el càncer de mama, còlon o estómac, l'ARNm de la CQ19 és un bon marcador per a identificar cèl·lules tiroïdals metastàtiques en el GL, on en situacions de normalitat no hauríem de trobar-hi cèl·lules epitelials (94). De forma característica, les cèl·lules canceroses en aquests tumors expressen en la

major part dels casos aquesta proteïna del citoesquelet en la superfície de membrana, esdevenint per tant un bon marcador de la presència de M1G (figura 12). En la glàndula tiroïdal normal –sense evidència d'un CPT– i en la hiperplàsia, l'expressió de CQ19 és lleu i heterogènia en el component fol·licular, sent habitualment negativa en l'adenoma i en el CFT. Malgrat això, aquesta expressió lleu a nivell de la glàndula no ha de suposar un problema quan és una hipotètica M1G el que estem analitzant i sabent que cap dels components cel·lulars propis del GL nadiu expressa CQ19 de manera fisiològica.

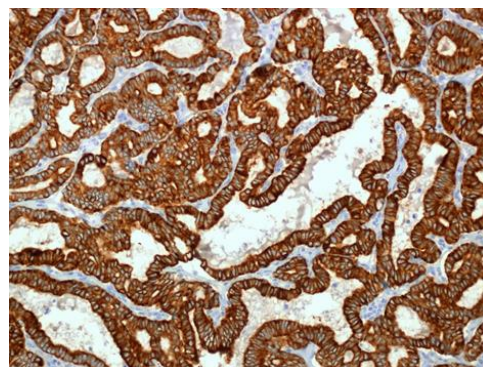


Figura 12: CPT amb expressió immunohistoquímica intensa per a CQ19 a nivell de membrana i citoplasma (C. Iglesias, Cell Marke A53-B/A2.26, USA. x200).

L'assaig OSNA es realitza de forma ràpida i automatitzada, és altament específic i garanteix l'absència de contaminació per ADN genòmic. Es du a terme en un equip anomenat RD-100i (Sysmex Corp, Japan) amb l'ús dels reactius LYNOAMP® i LYNORHAG®. L'assaig OSNA realitza l'amplificació en un únic pas mitjançant la tècnica *Reverse transcriptase loop-mediated isothermal amplification* –RT-LAMP– (95,96), a diferència dels mètodes convencionals d'amplificació com la RT-PCR o la qPCR. La tècnica RT-LAMP realitza la còpia per transcripció reversa de molècules d'ARNm a una temperatura constant (65°C) amb la formació d'un llaç de les pròpies molècules (figura 13). Aquest procés no requereix la purificació prèvia de l'ARN i té lloc de forma ràpida (16 min). L'ús d'encebadors, dissenyats específicament, impedeix l'amplificació de pseudogens de la CQ19, evitant resultats falsos positius (FP). La tècnica RT-LAMP genera un subproducte que precipita, el pirofosfat de manganès, produint un increment de la terbolesa de la reacció que es pot mesurar i monitoritzar. L'equip RD-100i-OSNA®, mitjançant l'ús d'una corba

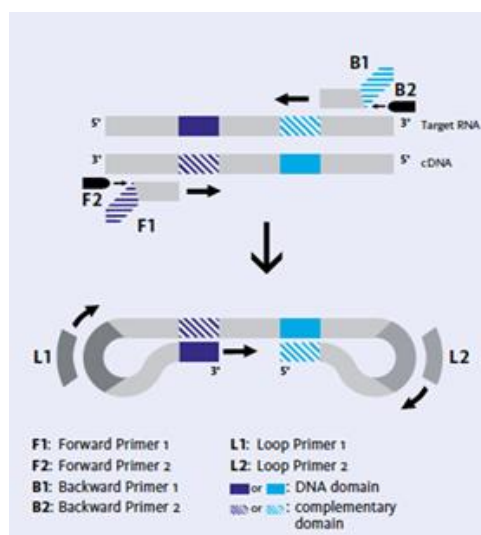


Figura 13: Tècnica RT-LAMP (adaptat de Sysmex Brocheure. "RD-100 I OSNA – the New Generation of Sentinel Lymph Node Analysis in Breast Cancer-", 2011) (93).

patró que es calcula prèviament a cada anàlisi a partir de concentracions conegudes d'ARNm i amb el càlcul del temps transcorregut en el que la mostra analitzada assoleix un grau de turbolesa específic, infereix o extrapola el número de molècules d'ARNm de CQ19 per volum de mostra analitzada.

El resultat molecular quantitatiu obtingut està directament relacionat amb la quantitat de metàstasi en el GL i discrimina entre 4 possibilitats:

- «negatiu absolut» (<100 còpies/ μ L)
- «cèl·lules tumorals aïllades» (entre 100 i 250 còpies/ μ L)
- «micrometàstasi» (entre >250 i 5 000 còpies/ μ L)
- «macrometàstasi» (>5 000 còpies/ μ L)

Aquests punts de tall han estat definits a partir dels primers estudis de validació de la tècnica realitzats en el càncer de mama, de la mateixa manera com per extrapolar del que s'ha consensuat en aquesta neoplàsia les CTA es consideren un resultat negatiu (30). L'equip RD-100i-OSNA® permet avaluar fins a quatre GL en una mateixa anàlisi o assaig, obtenint-se el resultat en aproximadament 30-45 minuts des de l'inici del processament de la mostra i en funció del número de GL analitzats i de l'expertesa en l'ús de la tècnica.

En l'actualitat, l'assaig OSNA té aprovada la indicació d'ús pel diagnòstic de M1G en càncer de mama, càncer de còlon i càncer gàstric (97). En el cas del càncer de mama la implementació rutinària de l'assaig OSNA pel diagnòstic de M1G és una realitat, especialment en el continent europeu, i fins algunes guies clíniques d'Anatomia Patològica –com la del Regne Unit o la de la SEAP– l'han inclòs en els seus protocols de maneig i en recomanen l'ús assistencial (98,99).

2.11. OSNA en càncer de tiroide

Actualment, s'estan realitzant diferents estudis que exploren l'aplicació d'OSNA en d'altres neoplàsies com ara els càncers ginecològics d'endometri, cèrvix o vulva i i en càncer de pulmó (100–102).

Les primeres dades de l'aplicació d'OSNA en CT foren publicades el 2014 per Kaczka i cols, en un treball on s'explorava per primera vegada l'ús d'aquesta tècnica en CPT (103). De forma gairebé simultània, aquest mateix grup publicà una segona sèrie de pacients aplicant aquesta tècnica molecular al CMT (104). En el treball del 2014, els autors comparen OSNA –considerant el punt de tall de positivitat preestablert de 250 còpies/ μ L– amb la histologia convencional i dues tècniques de PCR a temps real (per a CQ19 i per a l'ARNm de la tiroglobulina) en 92 GL. Els percentatges de positivitat obtinguts foren del 17.4% per a OSNA, del 25% per a la RT-PCR de l'ARNm de la tiroglobulina i del 19.6% per a la RT-PCR de la CQ19. L'estudi conclou que, malgrat l'ús d'OSNA en CPT és factible, mostra un nivell de precisió diagnòstica equivalent a la histologia convencional i a d'altres tècniques moleculars. L'any 2017, aquest mateixos autors publiquen l'experiència preliminar en l'ús d'OSNA en CPT incorporat a la tècnica de la BSGS (105). Es tracta d'una sèrie inicial de 49 pacients cN0 on, una vegada detectats intraquirúrgicament els GS amb la tècnica de colorant vital, s'analitzen els GS amb OSNA i histologia clàssica en seccions alternes. Als pacients se'ls realitza TT i LCC \pm LCL, sense influenciar el resultat d'OSNA l'actitud quirúrgica. En 43 dels 49 pacients identifiquen 65 GS, 30.8% positius per histologia i 33.8% amb OSNA, diferint els resultats en el 12.3%. Els resultats globals dels 65 GS comparant ambdues tècniques es recullen en la taula següent:

		OSNA	
		POSITIU	NEGATIU
HISTOLOGIA	POSITIVA	17 (26.2%)	3 (4.6%)
	NEGATIVA	5 (7.7%)	40 (61.6%)

El valor predictiu positiu (VPP) i negatiu (VPN) per a OSNA és de 0.77 i de 0.93 respectivament, amb una concordança amb la histologia del 85%. Malgrat que

aquest treball no analitza amb OSNA les peces de limfadenectomia, els autors conclouen que l'ús d'aquesta tècnica conjuntament amb la BSGS en CPT pot evitar LCC innecessàries.

L'any 2019 Medas i cols (106) publiquen la seva experiència en una sèrie de 26 GL provinents de 13 pacients, per a cadascun dels quals analitza mitjançant histologia/immunohistoquímica i OSNA un mínim d'1 GL. Els valors de sensibilitat (S), especificitat (E), VPP, VPN i precisió diagnòstica obtinguts per a OSNA són del 87.5%, 94.4%, 87.5%, 94.4% i 92.8% respectivament. La següent taula recull els resultats globals dels 26 GS avaluats, comparant ambdues tècniques:

		OSNA	
		POSITIU	NEGATIU
HISTOLOGIA	POSITIVA	7 (27%)	1 (3.8%)
	NEGATIVA	1 (3.8%)	17 (65.4%)

Aquests autors donen suport també al valor d'OSNA en la detecció de M1G en el CPT, i plantegen el seu ús intraoperatori per a identificar els pacients que es beneficiarien de la LCC. Fora dels resultats publicats per aquests dos grups, no hi ha altra experiència a la literatura tret de la que dona cos a la present tesi doctoral que explori el paper d'OSNA en el CPT.

Finalment, una metanàlisi publicada l'any 2018 revisa la literatura reportada fins l'any 2017 en l'aplicació d'OSNA en tot tipus de neoplàsies exceptuant el càncer de mama, recollint informació de fins a 19 treballs (107). La revisió fa referència a 3 articles en CT fins aquesta data, 2 dels quals publicats pel nostre grup. Els autors conclouen que OSNA sembla tenir també en aquests tumors una elevada sensibilitat diagnòstica per a la detecció de M1G. Malgrat això reconeix, com sembla lògic, la necessitat de nous estudis que corroborin els resultats d'aquests treballs preliminars abans de plantejar-ne la seva implementació.

Posteriorment a aquest treball de revisió, l'any 2018 Winter i cols (108) publiquen un estudi afegint el càncer de pròstata a la llista de neoplàsies on l'ús d'OSNA sembla mostrar resultats prometedors.

3. HIPÒTESI

1. En els pacients amb CPT, les recomanacions vigents proposen realitzar buidament ganglionar cervical a tots aquells a qui s'hagi demostrat prequirúrgicament o intraquirúrgicament la presència de M1G (BGT), així com en situacions de major risc de mal pronòstic tot i la no evidència de M1G (BGP). La guia de l'ATA 2015, en la seva Recomanació 36, aconsella realitzar BGP en els tumors T3-T4 de la Classificació TNM de l'AJCC. Donat que de cara a la millor planificació de l'abordatge quirúrgic dels GL és clau conèixer amb la màxima precisió l'estat ganglionar real, s'ha proposat com a estratègia de millora la tècnica de la BSGS. L'Hospital Vall d'Hebron ha demostrat experiència consolidada en aquesta metodologia en d'altres tumors, havent publicat resultats preliminars de la seva aplicació en CPT.

Les hipòtesis de treball derivades d'aquesta evidència són:

1a. L'absència de M1G en el GS hauria de correspondre's amb l'absència de M1G en la limfadenectomia corresponent, demostrant un elevat nivell de fiabilitat de la tècnica de la BSGS a l'hora de guiar l'actitud quirúrgica.

1b. L'ús de la tècnica de la BSGS en CPT hauria de ser capaç de millorar l'estratificació ganglionar dels pacients, augmentant la capacitat de detecció de M1G clínicament ocultes.

2. L'assaig OSNA és un mètode molecular ràpid, automatitzat i altament específic capaç de quantificar en temps real el número de còpies d'ARNm de CQ19 en una mostra histològica. El CPT és una neoplàsia que expressa característicament CQ19 i, derivat d'això, l'expressen també les hipotètiques cèl·lules epitelials metastàtiques presents en un GL. Sabem que no existeixen altres tipus cel·lulars en el GL nadiu que expressin aquesta proteïna. El resultat molecular quantitatiu està directament relacionat amb la quantitat de metastasi en el GL i discrimina entre 4 possibilitats: «negatiu absolut» (<100 còpies/ μ L), «CTA» (entre 100 i 250 còpies/ μ L), «mM» (entre >250 i 5 000 còpies/ μ L) i «MM» (>5 000 còpies/ μ L). La tècnica OSNA està àmpliament consolidada en el carcinoma de mama, havent demostrat ser una eina útil per a la detecció intraoperatòria de M1G. El Servei d'Anatomia Patològica de

l'Hospital Vall d'Hebron té experiència consolidada en aquesta metodologia, que aplica de forma rutinària en el càncer de mama des de l'any 2006.

Les premisses descrites en aquest segon punt fonamenten les hipòtesis de treball següents:

2a. Hauria de ser factible l'estudi amb OSNA dels GL provinents de limfadenectomies en pacients amb CPT.

2b. L'estudi dels GL cervicals amb OSNA en aquest context hauria de mostrar bona correlació amb l'estudi histològic clàssic, considerat a dia d'avui com la tècnica de referència per a l'anàlisi dels GL.

2c. El fet que l'anàlisi dels GL amb OSNA permeti l'estudi de la totalitat del teixit limfàtic hauria de resoldre els handicaps de l'estudi anatomopatològic convencional, com ara la degeneració quística o la multifocalitat dels dipòsits metastàtics.

2d. La tècnica OSNA usada per a la detecció intraoperatoria de M1G hauria de tenir una sensibilitat superior a les tècniques d'estudi intraoperatori convencional (empremta citològica i/o tall en congelació), reduint la freqüència de FN del 12-15% a un teòric 0%. Per tant, la tècnica de la BSGS optimitzada amb l'estudi intraoperatori del GS mitjançant OSNA hauria de permetre l'obtenció intraquirúrgica d'un resultat definitiu sobre l'estat del GS suficientment fiable com per a incidir en la decisió quirúrgica amb un mínim risc d'error.

2e. Considerant el valor afegit de l'assaig OSNA com a tècnica quantitativa capaç de «mesurar» l'afectació metastàtica en el GS, i amb l'evidència que l'impacte clínic de la M1G varia en funció del seu abast, el coneixement en el mateix acte quirúrgic no només de la «presència o no» de M1G sinó també de la «quantitat» de metastasi en el GS (mM vs. MM) podria plantejar la incorporació d'aquesta informació més refinada com una dada més a l'hora de perfilar els algoritmes de presa de decisió quirúrgics respecte l'abordatge de l'afectació limfàtica.

2f. L'aplicació de l'assaig OSNA a l'estudi de les limfadenectomies cervicals, més enllà de la metodologia de la BSGS, pot aportar informació rellevant i quantificable sobre l'impacte clínic real i el valor com a factor pronòstic de la M1G en el context de CPT, definint de manera més precisa tant l'estratificació ganglionar com el risc estimat de recurrència.

4. OBJECTIUS

OBJECTIU GENERAL

Validar la implementació de l'assaig OSNA a l'estudi de la BSGS en pacients amb CPT.

OBJECTIUS ESPECÍFICS

1. Avaluar l'eficàcia de la tècnica de la BSGS en CPT amb la metodologia emprada a l'Hospital Vall d'Hebron en altres neoplàsies sòlides malignes –localització isotòpica del GS i estudi intraoperatori amb empremta citològica i tall en congelació– (estudi 1):

 - 1.1. Analitzar els resultats en una sèrie de pacients amb diagnòstic de CPT i categoritzats com a cN0 sotmesos a limfadenectomia cervical.
 - 1.2. Determinar el percentatge de reestratificació ganglionar.
 - 1.3. Establir la freqüència de FN pròpia emprant aquesta metodologia.

2. Determinar l'aplicabilitat de l'assaig OSNA en GL de pacients amb CPT (estudi 2):
 - 2.1. Comparar el resultat obtingut mitjançant OSNA amb les tècniques d'estudi anatomopatològic convencional –citologia i histologia– en una sèrie de pacients cN1.
 - 2.2. Establir el punt de tall en el número de còpies/ μ L de CQ19 que defineix positivitat per a OSNA.- 3. Implementar l'assaig OSNA com a tècnica d'estudi intraoperatori en la BSGS (estudi 3):
 - 3.1. Analitzar els resultats de la BSGS+OSNA en una sèrie de pacients cN0.
 - 3.2. Analitzar el valor de la càrrega metastàtica ganglionar del GS mesurada amb OSNA (mM vs. MM) com a predictor del grau d'afectació metastàtica (mM vs. MM) a la limfadenectomia corresponent.
 - 3.3. Valorar les possibles causes de falsos positius de la tècnica OSNA en l'estudi de les limfadenectomies cervicals.

4. Valorar la utilitat de la informació aportada per l'assaig OSNA en la caracterització dels GL del CPT (estudi 4):
 - 4.1. Comparar les dades morfològiques i les obtingudes per OSNA en una sèrie de GL de limfadenectomies de pacients cN0/cN1 amb CPT
 - 4.2. Determinar el valor de la càrrega metastàtica ganglionar quantificada amb OSNA com a dada de significació pronòstica.

5. MATERIAL I MÈTODE I RESULTATS

La present tesi doctoral s'ha adaptat a la normativa corresponent a la presentació per compendi d'articles, havent-se acceptat –mitjançant resolució de la Comissió Acadèmica del Programa de Doctorat en Cirurgia i Ciències Morfològiques de la Universitat Autònoma de Barcelona amb data 06/05/2020– els treballs que es referencien a continuació:

1. **Títol:** *"Selective Sentinel Lymph Node Biopsy in Papillary Thyroid Carcinoma in Patients with No Preoperative Evidence of Lymph Node Metastasis"*
Autors: Óscar González, Carles Zafon, Enric Caubet, Amparo García-Burillo, Xavier Serres, José Manuel Fort, Jordi Mesa, Joan Castell, Isabel Roca, Santiago Ramón y Cajal, Carmela Iglesias.
Dades de la Publicació: *Endocrinol Diabetes Nutr. 2017 Oct;64(8):451-455.*
doi: 10.1016/j.endinu.2017.05.001.
2. **Títol:** *"Detection of thyroid papillary carcinoma lymph node metastases using one step nucleic acid amplification (OSNA): preliminary results".*
Autors: Oscar González, Carmela Iglesias, Carles Zafon, Josep Castellví, Amparo García-Burillo, Jordi Temprana, Enric Caubet, Ramón Vilallonga, Jordi Mesa, Santiago Ramón y Cajal, José Manuel Fort, Manel Armengol, José María Balibrea.
Dades de la publicació: *J Invest Surg. 2015 Jun;28(3):153-9.*
doi: 10.3109/08941939.2014.990123.
3. **Títol:** *"One-step nucleic acid amplification for intraoperative analysis of sentinel lymph node in papillary thyroid carcinoma".*
Autors: Carmela Iglesias Felip, Carles Zafon Llopis, Jordi Temprana-Salvador, Amparo García-Burillo, Xavier Serres Créixams, Enric Caubet Busquet, Isabel Roca Bielsa, Jordi Mesa Manteca, Joan Castell Conesa, José Manuel Fort López-Barajas, Ricardo Pujol-Borrell, Santiago Ramón y Cajal Agüeras, Oscar González López.
Dades de la publicació: *Eur J Endocrinol. 2019 Jan 1;180(1):21-29.*
doi: 10.1530/EJE-18-0624

4. **Títol:** *"Nodal Metastatic Load in Papillary Thyroid Carcinoma. Morphological and Molecular Analysis With One-Step Nucleic Acid Amplification on More Than 550 Lymph Nodes"*

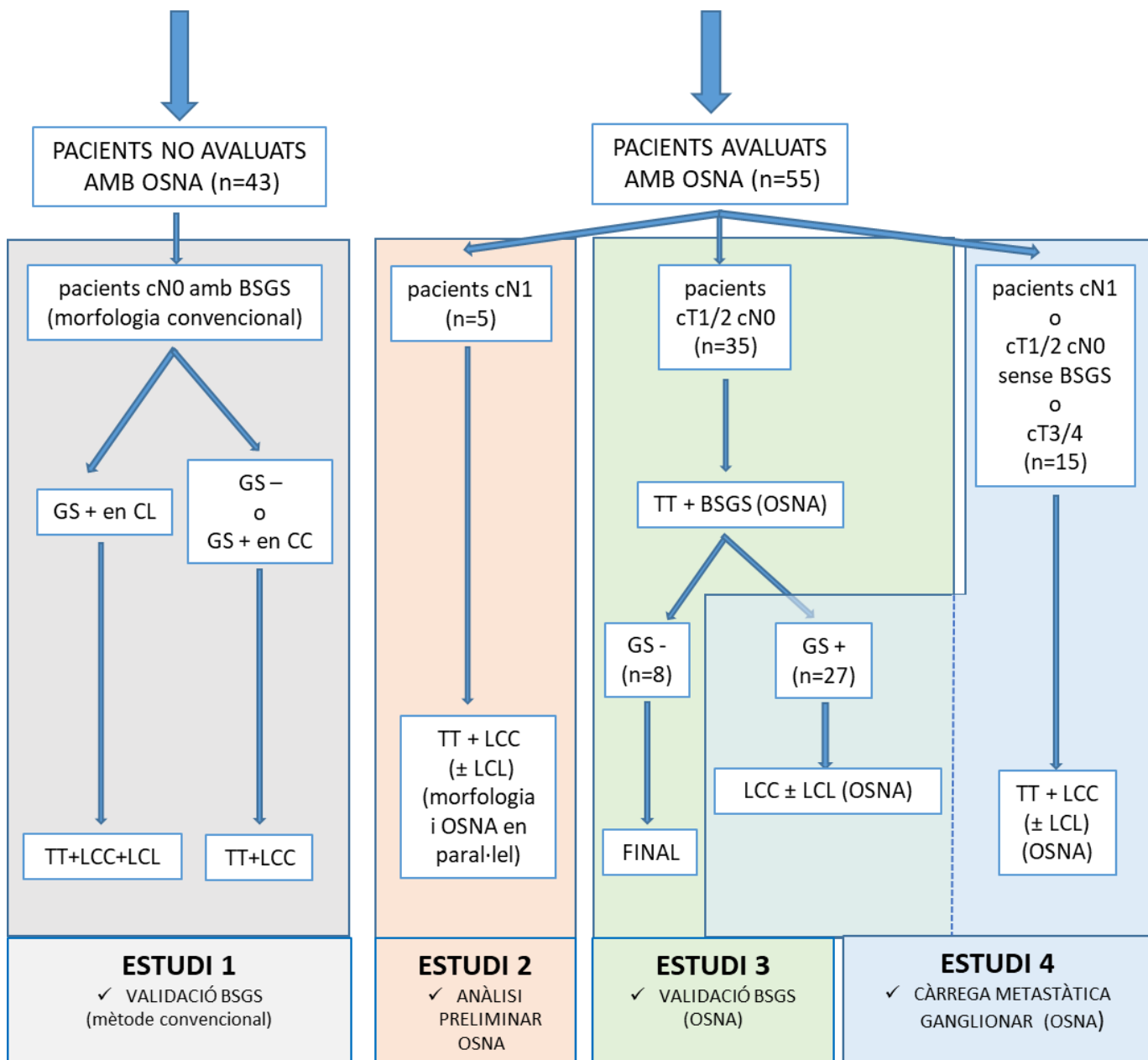
Autors: Carmela Iglesias Felip, Oscar González, Jordi Temprana-Salvador, Amparo García-Burillo, Enric Caubet, Santiago Ramón y Cajal, Carles Zafon.

Dades de la publicació: *Endocrinol Diabetes Nutr. ENDINU-D-20-00067R1. Data d'acceptació de l'article per part dels editors: 4-05-2020.*

El disseny i metodologia del projecte de tesi doctoral així com els resultats obtinguts del treball de recerca es corresponen amb els descrits en els quatre treballs referenciats. Tant la discussió final inclosa en la tesi doctoral com les conclusions globals que se'n desprenen integren el coneixement derivat de tots ells de forma unificada i definitiva.

Amb l'objectiu de fer més entenedor l'abordatge del treball en el seu conjunt, es mostra a continuació un esquema general que resumeix i contextualitza la metodologia específica i tipologia de pacient inclosos en cadascun dels quatre estudis.

ALGORITME METODOLÒGIC APLICAT ALS PACIENTS INCLOSOS EN ELS 4 ESTUDIS (n=98)



5.1. ESTUDI 1

Títol: *"Selective Sentinel Lymph Node Biopsy in Papillary Thyroid Carcinoma in Patients with No Preoperative Evidence of Lymph Node Metastasis"*

Autors: Óscar González, Carles Zafon, Enric Caubet, Amparo García-Burillo, Xavier Serres, José Manuel Fort, Jordi Mesa, Joan Castell, Isabel Roca, Santiago Ramón y Cajal, Carmela Iglesias.

Dades de la Publicació: *Endocrinol Diabetes Nutr. 2017 Oct;64(8):451-455.*

doi: 10.1016/j.endinu.2017.05.001.

RESUM ESTUDI 1

L'objectiu d'aquest primer estudi fou analitzar, partint de l'experiència d'un treball preliminar previ, els resultats de la tècnica de la BSGS en un grup de pacients amb CPT i cN0.

Es tractà d'un estudi retrospectiu unicèntric que va incloure els pacients intervinguts entre els anys 2011 i 2013 a la nostra institució. La identificació del GS es realitzà mitjançant tècnica isotòpica, seguint la metodologia prèviament desenvolupada en la introducció. En tots els casos es va practicar LCC, ampliada amb LCL en cas de GS afectat en aquesta localització.

Es van incloure 43 pacients, 34 (79%) dels quals dones. L'edat mitjana fou de 52 (± 17) anys. Dels 170 GS ressecats, 46 (27%) foren positius per a M1G i correspongueren a 24 (55.8%) pacients. De les peces de limfadenectomia s'obtingueren 612 GL, 96 (15.6%) dels quals positius per a M1G. Dotze dels 30 (40%) pacients cT1N0 i cT2N0 es re-estratificaren com a pN1 després de la BSGS, mentre que 12 dels 13 (92%) pacients cT3N0 i cT4N0 varen acabar sent pN1.

La BSGS va requalificar més del 50% dels pacients de cN0 a pN1. Es confirma la necessitat de buidament ganglionar en els tumors T3 i T4, alhora que es posa de manifest la presència de M1G en el 40% dels pacients T1 i T2.

DOCUMENT NO CONSULTABLE

5.2. ESTUDI 2

Títol: "Detection of thyroid papillary carcinoma lymph node metastases using one step nucleic acid amplification (OSNA): preliminary results".

Autors: Oscar González, Carmela Iglesias, Carles Zafon, Josep Castellví, Amparo García-Burillo, Jordi Temprana, Enric Caubet, Ramón Vilallonga, Jordi Mesa, Santiago Ramón y Cajal, José Manuel Fort, Manel Armengol, José María Balibrea.

Dades de la publicació: *J Invest Surg.* 2015 Jun;28(3):153-9.

doi: 10.3109/08941939.2014.990123.

RESUM ESTUDI 2

L'objectiu d'aquest segon treball va ser avaluar el resultat obtingut amb OSNA en l'anàlisi dels GL de pacients amb CPT, comparant-lo amb l'estudi anatomopatològic convencional com a mètode de referència.

S'estudiaren 50 GL provinents de 5 pacients. Cadascun dels GL es va dividir en dues hemiseccions: una d'elles es va analitzar mitjançant OSNA («GL OSNA»), i la meitat complementària es va fixar en formol i incloure en parafina de forma convencional per a tenyir-se posteriorment amb HiE («GL no-OSNA»). De cadascun dels dos hemiganglis s'obtingueren 3 empremtes citològiques, dues d'elles tenyides amb Papanicolaou i la tercera amb May-Grunwald-Giemsa. Es compararen entre ells els resultats obtinguts amb les diferents tècniques i s'obtingué una corba ROC amb el número de còpies/ μ L d'ARNm de la CQ19.

L'anàlisi amb OSNA obtingué 22 hemiganglis positius per a M1G (44%), observant-se una elevada concordança amb els resultats obtinguts amb les tècniques anatomopatològiques convencionals, sent del 88% entre OSNA i la citologia del «GL OSNA», i del 90% entre OSNA i la HiE del «GL no-OSNA». Tot i així, s'obtingueren per a aquests valors diferents punts de tall en la corba ROC pel número de còpies/ μ L d'ARNm de CQ19 que definia positivitat, sent de 260 còpies/ μ L prenent com a *Gold Standard* la citologia del «GL OSNA» i de 93 còpies/ μ L si consideràvem la HiE del «GL no-OSNA» com a referent.

Els resultats obtinguts amb OSNA per a detectar M1G en pacients amb CPT van ser comparables als obtinguts usant els mètodes anatomopatològics convencionals. Addicionalment, el fet que l'assaig OSNA sigui quantitatiu aporta un valor afegit al resultat i podria ésser usat per a definir de forma més precisa l'afectació metastàtica ganglionar en aquests pacients.

NOTA. Els resultats d'aquest segon treball es troben parcialment inclosos en un estudi multicèntric on es van avaluar, amb metodologia similar, les dades de 37 pacients i corresponents a un total de 387 GL. Es va obtenir una S per a la detecció de M1G amb OSNA d'entre el 81% i el 95% i una E d'entre el 87 i el 98%, responnent les variacions a les dades aportades per les tres institucions participants. Les conclusions d'aquest estudi paral·lel reforcen conseqüentment les dades pròpies exposades. La publicació que se'n va derivar s'adjunta com a «Document Annex B».

DOCUMENT NO CONSULTABLE

5.3. ESTUDI 3

Títol: *"One-step nucleic acid amplification for intraoperative analysis of sentinel lymph node in papillary thyroid carcinoma"*.

Autors: Carmela Iglesias Felip, Carles Zafon Llopis, Jordi Temprana-Salvador, Amparo García-Burillo, Xavier Serres Créixams, Enric Caubet Busquet, Isabel Roca Bielsa, Jordi Mesa Manteca, Joan Castell Conesa, José Manuel Fort López-Barajas, Ricardo Pujol-Borrell, Santiago Ramón y Cajal Agüeras, Oscar González López.

Dades de la publicació: *Eur J Endocrinol. 2019 Jan 1;180(1):21-29.*

doi: 10.1530/EJE-18-062

RESUM ESTUDI 3

Una vegada havíem demostrat, en l'estudi 2, l'aplicabilitat de l'assaig OSNA per a l'anàlisi dels GL en pacients amb CPT, ens vàrem plantejar com a continuació natural del projecte un tercer treball amb l'objectiu d'avaluar l'impacte de la introducció d'OSNA per a l'estudi intraoperatori del GS.

S'inclogué una sèrie de 35 pacients cN0 tributaris de la tècnica de la BSGS. Tots els GL ressecats, GS i no-GS, s'avaluaren amb OSNA i empremta citològica.

S'obtingué un total de 110 GS. La tècnica de la BSGS va ser globalment positiva en 14 (40%) pacients mitjançant l'estudi citològic i en 23 (65,7%) pacients mitjançant OSNA ($P < 0.001$). Dels 29 pacients al quals se'ls va realitzar limfadenectomia s'obtingueren 360 GL, 52 (14.4%) d'ells positius a la citologia i 107 (29.7%) amb OSNA. La limfadenectomia va resultar positiva en 16 pacients considerant l'estudi citològic (55%) i en 24 considerant OSNA (83%) ($P = 0.002$). La major part dels pacients amb mM al GS tenien només mM a la limfadenectomia posterior.

L'estudi va demostrar que la tècnica de la BSGS amb anàlisi dels GL mitjançant l'assaig OSNA és factible en el CPT. La naturalesa quantitativa de l'estudi molecular obre les portes a plantejar un abordatge quirúrgic més personalitzat, limitant la limfadenectomia als pacients amb evidència intraoperatoria de MM en els GS.

One-step nucleic acid amplification for intraoperative analysis of sentinel lymph node in papillary thyroid carcinoma

Carmela Iglesias Felip^{1,2}, Carles Zafon Llopis^{3,4}, Jordi Temprana-Salvador¹, Amparo García-Burillo⁵, Xavier Serres Créixams⁶, Enric Caubet Busquet⁷, Isabel Roca Bielsa⁵, Jordi Mesa Manteca³, Joan Castell Conesa⁵, José Manuel Fort López-Barajas⁷, Ricardo Pujol-Borrell⁸, Santiago Ramon y Cajal Agüeras^{1,2} and Oscar González López⁷

¹Department of Pathology, Hospital Vall d'Hebron, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain, ²Translational Molecular Pathology Research Group (VHIR), Hospital Vall d'Hebron, Barcelona, Spain, ³Diabetes and Metabolism Research Unit (VHIR) and Department of Endocrinology, Hospital Vall d'Hebron, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain, ⁴Centro de Investigación Biomédica en Red de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas (CIBERDEM), ISCIII, Madrid, Spain,

⁵Department of Nuclear Medicine, Hospital Vall d'Hebron, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain,

⁶Department of Radiology, Hospital Vall d'Hebron, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain, ⁷Endocrine Surgery Division, Department of General Surgery, Hospital Vall d'Hebron, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain, and ⁸Department of Immunology, Hospital Vall d'Hebron, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

Correspondence should be addressed to C Iglesias
Email
c.iglesiasfelip@gmail.com

Abstract

Objective: Lymphadenectomy in papillary thyroid carcinoma (PTC) is controversial. It is indicated whenever metastases have been proven before or during surgery and as a prophylactic treatment in high-risk patients. However, 30–50% of cN0 patients become pN1 postoperatively. In PTC, selective-sentinel-lymph-node-biopsy (SLNB) with conventional intraoperative analysis is 8% false negative. One-step nucleic acid amplification (OSNA) is a molecular technique which allows real-time detection of mRNA encoding for cytokeratin 19. OSNA has been introduced in intraoperative analysis of several tumors to reduce false-negative rates and distinguish micrometastasis from macrometastasis. Our objective was to evaluate the impact of the introduction of OSNA in the intraoperative evaluation of the sentinel node (SN) in PTC.

Design: We analyzed a series of 35 patients subjected to SLNB.

Methods: All the dissected nodes, SN and non-SN, were evaluated with OSNA and cytology.

Results: We obtained a total of 110 SN. SLNB proved positive in 14 patients (40%) with cytology and in 23 (65.7%) with OSNA ($P < 0.001$). In the 29 patients with subsequent lymphadenectomy we obtained 360 lymph nodes ((52 positive in cytology (14.4%) and 107 in OSNA (29.7%)). Lymphadenectomy proved positive in 16 patients according to cytology (55%) and in 24 according to OSNA (83%) ($P = 0.002$). The majority of patients with micrometastasis in SN showed only micrometastasis in lymphadenectomy.

Conclusions: The present study shows selective-sentinel-lymph-node-biopsy with one-step nucleic acid amplification technique to be feasible in papillary thyroid carcinoma. The quantitative nature of one-step nucleic acid amplification paves the way toward a more personalized surgical approach, limiting lymphadenectomy to patients with intraoperative evidence of macrometastasis in the sentinel node.

European Journal of
Endocrinology
(2019) 180, 21–29

Introduction

Prophylactic lymphadenectomy of the central neck compartment is a subject of controversy in the surgical approach to papillary thyroid carcinoma (PTC) (1). The high incidence of lymph node metastases (M1n) in this compartment; the difficulty of diagnosing such metastases before surgery and the potential avoidance of second surgery are cited as advantages of the procedure. In contrast, the doubtful prognostic benefits; the increased rate of surgical complications and the longer duration of surgery are arguments against prophylactic lymphadenectomy. The current recommendation is to perform lymphadenectomy whenever lymphatic metastatic disease (stage cN1 of the TNM classification) (2) has been demonstrated before or during surgery and as prophylactic treatment in high-risk patients. The American Thyroid Association (ATA) 2015 guide refers to these cases as corresponding to stages T3 and T4 of the TNM classification (3). Thus, the identification of lymphatic M1n disease of the neck is crucial for adequate patient treatment. However, 30–55% of the cases classified as cN0 and undergoing lymphadenectomy become pN1 disease (4, 5). As with other tumors, selective sentinel lymph node biopsy (SLNB) has been proposed with a view to improving diagnostic performance in M1n disease (6). This technique is used to identify the sentinel lymph node (SN), which represents the first tumor lymphatic drainage station. Different techniques based on the tumor or peritumor injection of a vital dye or radioisotope is used to locate the SN (7). The SNs are removed during surgery and after thyroidectomy and are analyzed intraoperatively. If the SN proves positive for tumor invasion, lymphadenectomy of the affected compartment is performed. In contrast, a negative SN implies the absence of M1n and avoids the need for lymphadenectomy. In a previous study we were able to confirm the viability and efficacy of the technique (8). However, a possible limitation of the procedure was an 8% incidence of false-negative (FN) results in the intraoperative analysis by conventional pathological evaluation on lymph node cytological imprints and/or on frozen section. Intraoperative diagnostic errors have received a number of explanations, including an inevitable random factor in lymph node sampling, and interpretation errors due to the low quality of the morphological images afforded by the frozen section. A recent review on the value of SLNB in PTC reports an even higher incidence of FN results (14.5%) (9). Thus, the definitive implantation of SLNB requires optimization of the intraoperative study of the

SN, with the aim of avoiding FN results. This limitation is common to other neoplasms in which SLNB is used, with similar FN rates (10, 11, 12). In recent years, one-step nucleic acid amplification (OSNA) has been introduced in the intraoperative analysis with the purpose of reducing these rates, particularly in application to SN in breast cancer (13, 14). This quantitative molecular technique allows the real-time detection of mRNA encoding for cytokeratin 19 (CK19), specifically amplifying mRNA in a single step through reverse transcriptase loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) (15). One-step nucleic acid amplification is highly reliable in analyzing the entire lymph node in the same intraoperative procedure, affording rapid, definitive, precise and automated information about lymph node involvement. The fact that OSNA is a quantitative technique offers added value, since it can not only identify the presence or absence of metastasis, but can also quantify lymph node tumor burden. Intense CK19 expression is known to be present at membrane level in approximately 70% of all PTCs (16), and such positivity is therefore also seen in the metastatic cells within the lymph node. No other elements of the node show CK19. This has led to consideration of the application of OSNA in this context. A previous study in collaboration with other Spanish centers demonstrated good correlation between OSNA and the conventional lymph node study in patients undergoing surgery due to PTC and to standardized neck lymphadenectomy, with a very similar to cut-off value of positivity for the copies of CK19 mRNA/ μL accepted in breast cancer (17, 18). The present study was carried out to analyze the results obtained with OSNA in the intraoperative evaluation of SN in a group of patients subjected to SLNB.

Subjects and methods

Between July 2013 and April 2016 we prospectively and consecutively included all patients over 18 years of age that met the following criteria: (1) Newly diagnosed PTC with cytological confirmation through fine needle aspiration biopsy (FNAB); (2) No evidence of neck M1n before surgery (cN0); (3) No evidence of locally advanced disease or distant metastatic spread; (4) Immunohistochemically confirmed tumor cell CK19 expression in the diagnostic FNAB sample and (5) Signing of the informed consent. This document was approved (with date 01/07/13) by the Clinical Research Ethics Committee of the center (number of reference PR (SC) 192/2013). A total of 35 patients were finally enrolled in the study.

Sentinel lymph node biopsy technique: On the day before surgery, 0.1–0.2 mL of ^{99m}Tc -nanocolloid (Nanocoll) of particle size 50–80 nm and with an activity of 148 MBq was injected into the tumor under ultrasound guidance. This was followed 2–4 h later by SPECT/CT (GE, Infinia Hawkeye 4). The projections of the SNs detected by the imaging technique were subsequently marked on the skin. On the next day, total thyroidectomy was performed, and the SNs were located with a gamma ray detector probe (Europrobe; Eurorad, Eckbolsheim, France). The SNs were resected and sent to the pathology laboratory. In the case of confirmed M1n in the SNs, lymphadenectomy of the corresponding compartment was performed. When the affected SN was located in the lateral compartment (LC), lymphadenectomy was completed with lymph node resection of the central compartment (CC). Lymphadenectomy was left at the discretion of the surgeon when suspect lymph nodes were detected independently of the results of the SN study.

Pathological processing and OSNA technique: The SNs were sent fresh to the pathology laboratory. The lymph nodes were immediately dissected, with separation of the possible accompanying non-lymph node adipose tissue for later conventional histological study. The lymph nodes were measured and weighed. Central sectioning of each lymph node was carried out, and two cytological imprints were obtained from the exposed surface. One was stained with Diff-Quik (Química Clínica Aplicada, S.A., Spain) and evaluated immediately to morphologically confirm the lymph node nature of the sample. The complementary imprint was later stained with the Papanicolaou method (Merck KGaA, Germany). Following initial cytological verification, the SN was subjected to OSNA processing, and in the event of a positive result the surgeon was immediately informed in order to complete the corresponding lymphadenectomy. The approximate waiting time for the surgeon with OSNA is around 45 min, discretely superior to that necessary for the study of the nodes by conventional way. In those isolated cases where the cytological study of the SN unequivocally confirmed the presence of metastasis, the corresponding lymphadenectomy was indicated from the start, and since surgical decision did not depend on the metastatic burden of the lymph node, its molecular study could be deferred. The histological material of the lymphadenectomies was likewise sent fresh to the pathology laboratory, with immediate dissection and identification of the lymph nodes for deferred OSNA study. In the case of deferred studies, the lymph nodes were cryopreserved in liquid nitrogen or cold isopentane and kept at -80°C until the

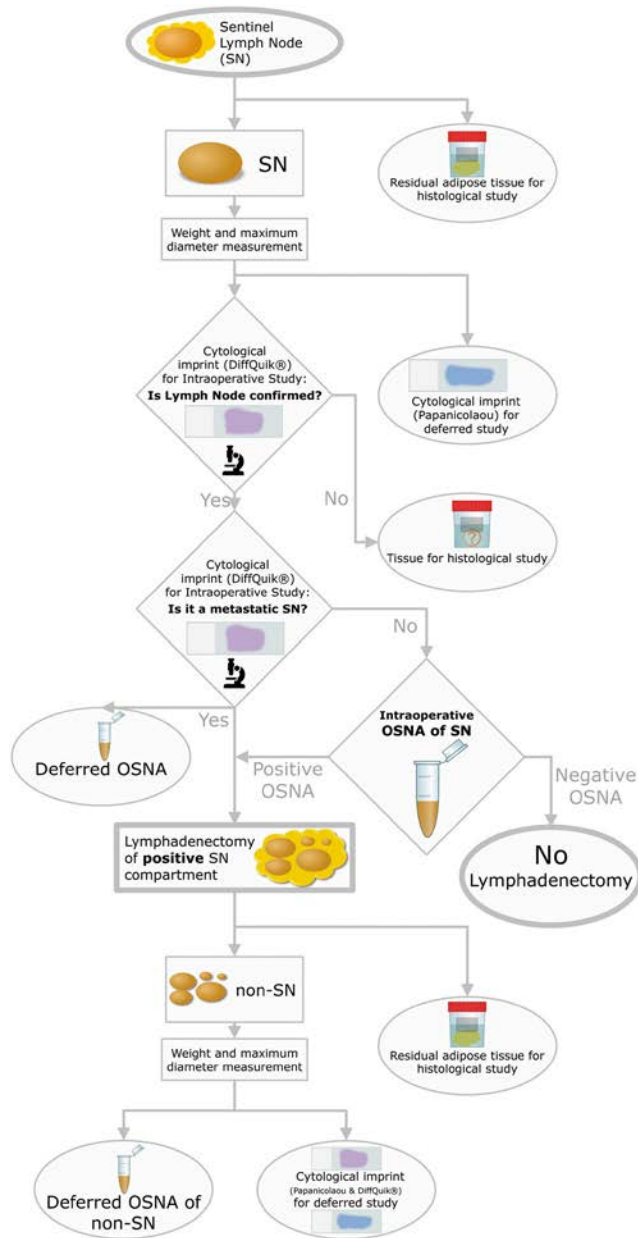
time of analysis. In all cases the lymph node tissue was processed by mixing it in a separate tube with 4 mL of Lynorhag homogenization buffer (pH 3.5) that stabilizes the mRNA and precipitates the genomic DNA with no previous nucleic acid extraction or purification procedure. The lymph nodes were homogenized (Polytron System PT1300D, Kinematica AG, Switzerland) during 60 s. From the resulting sample we pipetted 1 mL into an Eppendorf tube, followed by centrifugation at 10 000 g at room temperature for 1 min. After centrifugation, the supernatant was diluted 1:10 and 1:100 with Lynorhag buffer and analyzed with the RD-100i–OSNA system (Sysmex Corp., Japan), which performs fully automated and standardized amplification and detection of CK19 mRNA within 16 min, using the Lymoamp reagent. The system measures the time taken by the test sample to reach specific turbidity (rise time), and a standard rise time vs concentration (copies of CK19 mRNA/ μL) curve previously obtained from three calibration controls is used to calculate the concentration of CK19 mRNA molecules in the study sample. The OSNA technique defines positivity as ≥ 250 copies/ μL . Additional cut-off points are defined to distinguish between micrometastasis – (mM, ≥ 250 copies/ μL and < 5000 copies/ μL) and macrometastasis – (MM, ≥ 5000 copies/ μL). The RD-100i–OSNA system is able to process up to four samples simultaneously. From the homogenized sample in the conical base tube, we pipetted another 1 mL into an Eppendorf tube (backup sample). This tube was frozen at -80°C for eventual reanalysis of the lymph node if needed (Fig. 1).

Statistical analysis

Quantitative variables are reported as the median and interquartile range (IQR), while categorical variables are presented as proportions and percentages. Comparisons of quantitative variables were made using the nonparametric Mann–Whitney *U* test, while the chi-squared test was used for the comparison of proportions. The correlation of quantitative variables was explored by calculating the Pearson correlation. Statistical significance was considered for $P < 0.05$. The Minitab (version 17) and R (version 3.0.2) statistical packages were used.

Results

The clinical and histological characteristics of the patients are shown in Table 1. Immunohistochemical CK19 positivity of the primary tumor was confirmed in

**Figure 1**

Pathology workflow and surgical decision algorithm (OSNA: one-step nucleic acid amplification). A full colour version of this figure is available at <https://doi.org/10.1530/EJE-18-0624>.

all the diagnostic FNAB samples of the patients. None of the candidate subjects were therefore discarded for this reason. A total of 110 SNs were obtained, with a median (IQR) of 3 (1–4) per patient (minimum 1 and maximum 7). Five of the samples submitted as SN were discarded for intraoperative analysis, since the initial confirmatory cytological evaluation failed to evidence the presence of lymphatic tissue. The subsequent histological study was

Table 1 Clinicopathological characteristics of included patients.

Characteristics	Values
<i>n</i>	35
Age (years), median (IQR)	51 (36–61)
Gender (female), <i>n</i> (%)	28 (80)
Clinical presentation, <i>n</i> (%)	
Multinodular Goiter	9 (25.7)
Nodule unique	24 (68.6)
Others	2 (5.7)
Tumor size (cm), median (IQR)	1.4 (1–1.9)
Localization, <i>n</i> (%)	
Right lobe	17 (48.6)
Left lobe	15 (42.9)
Isthmus	3 (8.5)
Multifocality, <i>n</i> (%)	16 (45.7)
Bilateral involvement, <i>n</i> (%)	14 (40)
Histological variant, <i>n</i> (%)	
Classic	22 (62.9)
Follicular	7 (20)
Cystic	1 (2.9)
Tall cell	2 (5.7)
Oncocytic	2 (5.7)
Diffuse sclerosing	1 (2.9)
Vascular invasion, <i>n</i> (%)	8 (22.9)
Extrathyroid invasion, <i>n</i> (%)	11 (31.4)
Positive margins, <i>n</i> (%)	10 (28.6)
TNM status: T, <i>n</i> (%)	21 (60)
T1	2 (5.7)
T2	11 (31.4)
T3	1 (2.9)
T4	0 (0)
Thyroiditis, <i>n</i> (%)	
0	21 (61.8)
1	6 (17.6)
2	7 (20.6)
Unknown	1
BRAF mutation, <i>n</i> (%)	25 (71.4)

BRAF, B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase; IQR, interquartile range.

able to identify sub-millimetric lymph nodes in three of these five samples; another consisted only of adipose tissue and the fifth corresponded to parathyroid gland tissue. The parathyroid tissue was subjected to OSNA on a deferred basis, yielding an expected false-positive result of the molecular technique in the form of mM.

Conventional cytology found 25 of the 110 SNs (22.7%) to be positive for metastasis with one or both stains (Diff-Quik and/or Papanicolaou), while 42 (38.2%) were found to be positive with OSNA ($P < 0.001$). The OSNA-positive cases corresponded to 21 mM and 21 MM. All the discrepant SNs were OSNA positive and cytologically negative, and corresponded to 15 mM and 2 MM. These results indicate that SLNB proved positive in 14 patients (40%) in the cytological study and in 23 patients (65.7%) with the OSNA technique ($P < 0.001$).

Lymphadenectomy was performed in 29 patients. These included 23 cases with positive SLNB findings and 6 in which lymphadenectomy was performed despite the fact that the SNs were reported to be negative. In these six cases the surgeon suspected pathological lymph nodes. Five of the six cases did not reveal M1n following lymphadenectomy, while the sixth case proved positive for MM. This latter patient represented a special case, since, despite the intraoperative submission of histological material identified as SN from the central compartment (CC), the gross examination failed to reveal the presence of lymphatic tissue, and no molecular analysis was therefore decided. The deferred study of this material, fixed in formalin solution and conventionally processed with embedding in paraffin, confirmed the presence of a positive sub-millimetric lymph node from the same compartment of the MM already suspected by the surgeon. Of the 23 patients undergoing lymphadenectomy due to positive SLNB, the SNs were found to be the only positive nodes in 6 cases.

In the 29 patients subjected to lymphadenectomy we obtained a total of 360 lymph nodes (92 SNs and 268 non-SNs) – 61% corresponding to CC and the rest to LC. The median (IQR) number of total lymph nodes per patient was 11 (6.5–17.5) (minimum 3 and maximum 31). The median lymph node weight was 0.09 g (0.05–0.17) and the diameter was 0.5 cm (0.3–0.7). There were no differences in these parameters between SNs and non-SNs. Of the total 360 lymph nodes, 52 were positive for M1n in the cytological study (14.4%) and 107 in the OSNA analysis (29.7%). There were 59 discordant cases: OSNA positivity and cytological negativity in 57 cases (47 mM and 10 MM), and OSNA negativity and cytological positivity in the remaining two cases (both corresponding to non-SNs). Sixty-four of the 107 OSNA-positive cases corresponded to mM and 43 to MM. The median number of CK19 mRNA copies/ μL in these lymph nodes was 2700 (895–20 938) (minimum 250 and maximum 1 500 000). There were no differences in weight ($P=0.62$) or diameter ($P=0.37$) between the OSNA-positive and -negative lymph nodes. The OSNA-positive lymph nodes likewise showed no significant correlation between the number of mRNA copies and weight ($r=0.004$; $P=0.9$) or size ($r=-0.05$; $P=0.58$).

These results indicate that lymphadenectomy proved positive in 16 patients according to the cytological study (55%) and in 24 patients according to the OSNA technique (83%) ($P=0.002$). Therefore, the FN ratio for cytology in lymphadenectomies was 28%. There were no significant differences in the total number of resected lymph nodes

between the positive and negative lymphadenectomies. In the positive lymphadenectomies, the median number of M1n cases detected by OSNA was 4 (1–7). Of the 23 cases with positive SLNB according to OSNA, MM was detected in 12 of the SNs, while the remaining 11 only revealed mM in the SNs. Among the former, nine patients also showed MM in the lymphadenectomy, while among the latter only one lymphadenectomy revealed MM ($P<0.001$). In accordance, 10 out of 24 patients with M1n carried only mMs.

Figure 2 summarizes the findings of the study, comparing the results of the cytological study vs those of the OSNA technique.

Discussion

The value of SN using the OSNA technique (SLNB-OSNA) is widely accepted in breast cancer (www.nice.org.uk/guidance/dg8; www.rcpath.org/resourceLibrary/g148-breastdataset-hires-jun16-pdf.html). More recently, OSNA has started to be applied in other tumors (19, 20, 21, 22, 23), though its application to PTC has not been evaluated to date. This is therefore the first study to examine the usefulness of SLNB-OSNA in this type of tumor. In a previous collaborative study, we found a good correlation between the conventional cytological and histological data and the OSNA technique in the analysis of lymph

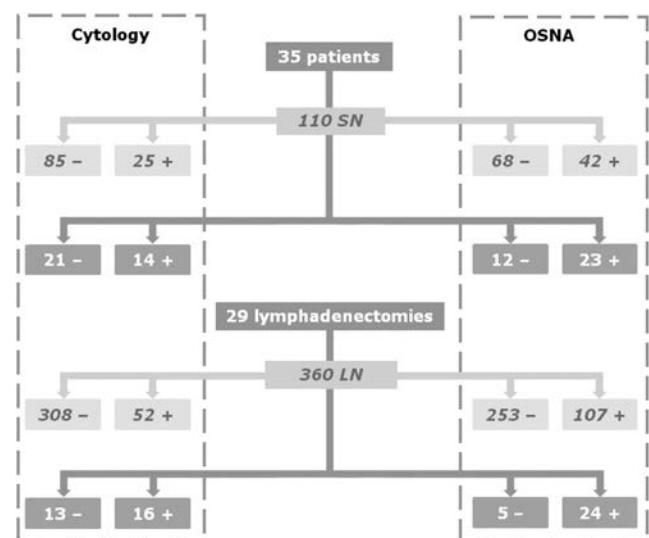


Figure 2

Comparison between cytology and OSNA results (LN, lymph node; OSNA, one-step nucleic acid amplification; SN, sentinel node).

nodes from patients with PTC (17). Similar results were reported by Kaczka *et al.* (24). The present study analyzes the results obtained with OSNA in application to SLNB in a group of 35 patients with PTC.

In contrast to the situation in other types of tumors, the use of SLNB for the study of M1n in PTC is not widely accepted (25). One of the arguments against its use is the high FN rates in the intraoperative study, i.e., SN analysis proves negative, while the definitive paraffin-embedded study proves positive. In a recent systematic review, Portinari and Carcoforo (9) identified three publications including a total of 194 patients subjected to intraoperative evaluation of the SN. The authors recorded an FN rate of 14.5% in the pathology study. In a study by our group, the frozen section study yielded a FN rate of 8.3% (8). Assessment and the drawing of firm conclusions in this regard are difficult, however, since consensus is lacking in the histological study of the lymph nodes. This is so for both intraoperative analysis (frozen section study alone, frozen section plus cytology) and for definitive deferred analysis (single central section, serial sectioning of the node, immunohistochemical study). In breast cancer, where the SLNB technique is more widely used and greater experience has been gained, a review conducted before introduction of the molecular techniques identified up to 123 different protocols for studying the SN (26). In this regard, improving the results obtained and standardizing the intraoperative diagnosis could contribute to expand the use of this technique.

One-step nucleic acid amplification has been successfully used for over 10 years for the intraoperative analysis of SN involvement in breast cancer (27, 28, 29). The first OSNA validation studies in this context defined precise equivalence between the amount of CK19 mRNA in the lymph node and the magnitude of M1n and made it possible to distinguish between mM (<2mm) and MM (>2mm) (13). The concepts of mM and MM according to OSNA were defined from the histological definition originally established in breast cancer, with subsequent extrapolation to other types of tumors. Although strictly speaking the criteria of mM and MM have not been categorically defined in PTC, the concept of small or large lymph node metastasis does appear to have clinical significance (3). We therefore consider it adequate to extrapolate these criteria to our clinical context.

As in other tumors, an essential requirement before applying OSNA to PTC is the preoperative verification of immunohistochemical CK19 expression in the tumor cells – such expression being maintained as well in the metastatic epithelial cells of a hypothetically affected

lymph node. For this reason immunohistochemical analysis was performed in the initial diagnostic FNAB sample in all the patients – no subjects having been discarded due to CK19 negativity. This 100% positivity rate is higher than the values published in the literature (around 74%) (16). In breast cancer, different clinical guides specifically recommend preoperative immunohistochemical verification of the expression of the protein in the initial diagnostic sample (www.nice.org.uk/guidance/dg8, 30).

We considered cytological study of the lymph nodes before OSNA to be essential, since molecular processing of the entire lymph node impaired processing the tissue for histological examination. Cytological evaluation of the sample was the first step in the intraoperative study for confirming the tissue as corresponding to lymph node and discarding other neck structures such as parathyroid gland tissue, thymus or salivary gland tissue, characterized by CK19 expression and anatomically located close to the resected lymphatic compartments. In our series, one purported SN that was discarded intraoperatively was finally found to correspond to parathyroid gland. This particular case therefore would have represented a false-positive OSNA result if previous intraoperative cytological study had not been performed. On the other hand, in all cases where the intraoperative cytological study of the SNs proved unequivocally positive for metastasis, and since at this point M1n volume did not influence the subsequent surgical decision, we indicated lymphadenectomy without waiting for the molecular study and without observing subsequent discrepancies. This reaffirms the strong positive predictive value of the cytological study.

Our series includes two cases of non-SN nodes in which cytology proved positive while the OSNA findings were negative. This apparent discrepancy can be explained by the fact that we are comparing a quantitative technique (OSNA), which requires a minimum expression threshold in order to classify a sample as metastatic, versus a qualitative technique (cytology) where any evidence of malignancy is classified as a positive result. In both cases the presence of M1n was verified by the immunohistochemical study of the cytological imprint, with the observation of very few atypical epithelial cells (Fig. 3). The two mentioned lymph nodes were classified by OSNA as ‘isolated tumor cells’. While there is agreement that this diagnostic category should be classified as negative, it in fact indicates the presence of very few metastatic cells in the lymph node (≤ 0.02 mm according to the histological evaluation – the OSNA equivalent being 100–250 CK19 mRNA copies). Consequently, there

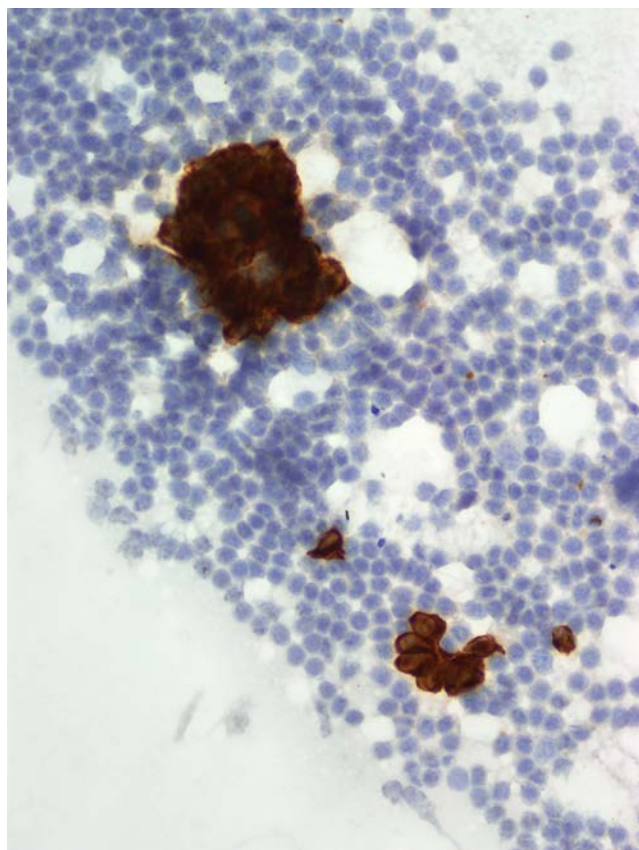


Figure 3

Immunohistochemical Cytoqueratin 19 positivity in imprint cytology (Cell Marke A53-B/A2.26, USA, $\times 600$). A full colour version of this figure is available at <https://doi.org/10.1530/EJE-18-0624>.

would be no true discrepancy but rather a disadjustment in the established molecular positivity thresholds.

In our study we found OSNA to be more sensitive than conventional cytology in detecting M1n. In effect, among the more than 350 analyzed lymph nodes, the OSNA positivity rate doubled that of the cytological study, with an increase from 40% to 65% in the number of metastatic SLNB and from 55% to 83% in the number of positive lymphadenectomies. The cytology FN ratio of 28% observed in lymphadenectomies is higher than previously published data with respect to conventional morphology (usually cytology plus frozen section) (8, 9). This is explained because we compare the morphological technique with lower diagnostic yield (cytology only) with the most advanced technique (OSNA), with greater ability to detect metastasis even than histology. Most of the discordant cases were due to OSNA positivity and cytological negativity. This high sensitivity results

in an increase in the number of lymph node resection procedures; as a result, the technique could lead to unnecessary lymphadenectomies. The prognostic relevance of M1n in PTC has not been fully established. Some studies indicate that only patients with high tumor load metastases are at an increased risk of disease recurrence. This tumor load has been characterized in terms of the number and size of the affected lymph nodes (3). No precise quantitative assessment of lymph node tumor mass has therefore been established to date. One-step nucleic acid amplification could contribute the required parameter. Although our sample is small, it should be emphasized that in 75% of the cases in which MM was detected in the SNs, we also detected MM in the subsequent lymphadenectomy. In comparison, when only mM was present in the SNs, we only found MM in 9% of the corresponding lymphadenectomies. These findings suggest that the distinction between mM and MM in SLNB could guide the decision to perform lymphadenectomy, and in this regard we could consider the possibility of avoiding node resection if MM is not confirmed in the SN. Therefore, what might initially seem to be an over-detection of metastasis ends up being, with the formulated approach, a more precise decision algorithm and aimed at carrying out lymphadenectomy only in those patients with evidence of high volume metastases. Based on this reasoning, 'verifying' cytology before OSNA will continue to play a role in that it can confirm that the sample consists of lymph node tissue. However, in view of its qualitative rather than quantitative nature, cytological analysis would no longer prove sufficient to determine whether subsequent lymphadenectomy is required or not. In this regard, the quantitative nature of OSNA would be more reliable than cytology, and diagnosis moreover may be standardized and automated.

One-step nucleic acid amplification also has some limitations. One such limitation would be the decision whether or not to perform the molecular analysis in those intraoperative SN samples in which thorough gross examination fails to identify lymph node tissue. In our series there were four samples meeting this criterion in which the deferred histological study confirmed the presence of non-palpable sub-millimetric SNs. In one of these cases the undetected SN revealed mM in the histological study and was moreover accompanied by MM in the same lymphatic compartment resected in response to surgeon suspicion, despite the absence of intraoperative evidence of an affected SN in the corresponding compartment. Thus, when the surgeon firmly suspects lymph node metastasis, his or her criterion

must prevail over any decision algorithm, and the suspect lymph node should be removed. Another limitation of the OSNA technique is the impossibility of conducting an adequate histopathological study of the lymph node. This for example precludes the evaluation of extra-nodal disease spread in M1n cases or the identification of concomitant node disease. This latter aspect explains why, for example, some guides recommending SN analysis with OSNA in breast cancer explicitly advocate a parallel morphological study (www.https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-13666-5_873).

In conclusion, the present study shows SLNB with intraoperative analysis of the SNs using the OSNA technique to be feasible in the clinical context of PTC. It do not imply any modification in the standard SLNB surgery for thyroid cancer. Furthermore, the results obtained indicate that, with very few exceptions, the presence of mM in the SN is associated to negative lymph node resection findings or lymphadenectomy exhibiting only mM. This fact, and demonstration of the usefulness of OSNA as an intraoperative strategy for the quantification of M1n, with the existing evidence of the scant clinical impact of small-volume M1n in PTC, pave the way toward a more personalized surgical approach – limiting lymphadenectomy to cases with intraoperative evidence of MM in the SNs. Definitive confirmation of our study hypothesis will require the analysis of larger patient samples, as well as corroboration of the findings by other investigators.

Declaration of interest

The authors declare that there is no conflict of interest that could be perceived as prejudicing the impartiality of this study.

Funding

The study was sponsored by Sysmex España S.L.

Author contribution statement

C I F, C Z L, I R B, J M M, J C C, J M F L-B, S R y C A and O G L designed the study; A G B, X S C, I R B and J C C injected the sentinel nodes; O G L, E C B and J M F L-B performed the surgery; C I F and J T-S carried out pathological and molecular processing; C I F and C Z L collected and analyzed the data, made the literature search and wrote the manuscript; C I F, C Z L, O G L and R P-B interpreted the results; C I F, C Z L and J T-S generated the figures; R P-B carried out a critical revision of the manuscript.

References

- Shirley LA, Jones NB & Phay JE. The role of central neck lymph node dissection in the management of papillary thyroid cancer. *Frontiers in Oncology* 2017 **7** 122. (<https://doi.org/10.3389/fonc.2017.00122>)

- Patel S & Shah JP. Head and neck sites. In *AJCC Cancer Staging Manual* eds. SB Edge, MA Carducci, CA Compton. 7th ed. New York, NY: Springer; 2009.
- Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, Doherty GM, Mandel SJ, Nikiforov YE, Pacini F, Randolph GW, Sawka AM, Schlumberger M *et al.* 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: the American Thyroid Association Guidelines Task Force on thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Annals of Surgery* 2016 **26** 1–13. (<https://doi.org/10.1089/thy.2015.0020>)
- Hartl DM, Leboulleux S, Al Ghuzlan A, Baudin E, Chami L, Schlumberger M & Travagli JP. Optimization of staging of the neck with prophylactic central and lateral neck dissection for papillary thyroid carcinoma. *Annals of Surgery* 2012 **255** 777–783 (<https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e31824b7b68>)
- González Ó, Zafon C, Caubet E, García-Burillo A, Serres X, Fort JM, Mesa J, Castell J, Roca I, Ramón y Cajal S *et al.* Selective sentinel lymph node biopsy in papillary thyroid carcinoma in patients with no preoperative evidence of lymph node metastasis. *Endocrinology, Diabetes and Nutrition* 2017 **64** 451–455. (<https://doi.org/10.1016/j.endinu.2017.05.001>)
- Roh J-L & Koch WM. Role of sentinel lymph node biopsy in thyroid cancer. *Expert Review of Anticancer Therapy* 2010 **10** 1429–1437. (<https://doi.org/10.1586/era.10.111>)
- Balasubramanian SP & Harrison BJ. Systematic review and meta-analysis of sentinel node biopsy in thyroid cancer. *British Journal of Surgery* 2011 **98** 334–344. (<https://doi.org/10.1002/bjs.7425>)
- García-Burillo A, Roca Bielsa I, Gonzalez O, Zafon C, Sabate M, Castellvi J, Serres X, Iglesias C, Vilallonga R, Caubet E *et al.* SPECT/CT sentinel lymph node identification in papillary thyroid cancer: lymphatic staging and surgical management improvement. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 2013 **40** 1645–1655. (<https://doi.org/10.1007/s00259-013-2476-x>)
- Portinari M & Carcoforo P. Radioguided sentinel lymph node biopsy in patients with papillary thyroid carcinoma. *Gland Surgery* 2016 **5** 591–602. (<https://doi.org/10.21037/gs.2016.11.08>)
- Wong J, Yong WS, Thike AA, Iqbal J, Salahuddin AS, Ho GH, Madhukumar P, Tan BK, Ong KW & Tan PH. False negative rate for intraoperative sentinel lymph node frozen section in patients with breast cancer: a retrospective analysis of patients in a single Asian institution. *Journal of Clinical Pathology* 2015 **68** 536–540. (<https://doi.org/10.1136/jclinpath-2014-202799>)
- Miyashiro I, Hiratsuka M, Sasako M, Sano T, Mizusawa J, Nakamura K, Nashimoto A, Tsuburaya A & Fukushima N. High false-negative proportion of intraoperative histological examination as a serious problem for clinical application of sentinel node biopsy for early gastric cancer: final results of the Japan Clinical Oncology Group multicenter trial JCOG0302. *Gastric Cancer* 2014 **17** 316–323. (<https://doi.org/10.1007/s10120-013-0285-3>)
- Slama J, Dunder P, Dusek L & Cibula D. High false negative rate of frozen section examination of sentinel lymph nodes in patients with cervical cancer. *Gynecologic Oncology* 2013 **129** 384–388. (<https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2013.02.001>)
- Tsujimoto M, Nakabayashi K, Yoshidome K, Kaneko T, Iwase T, Akiyama F, Kato Y, Tsuda H, Ueda S, Sato K *et al.* One-step nucleic acid amplification for intraoperative detection of lymph node metastasis in breast cancer patients. *Clinical Cancer Research* 2007 **13** 4807–4816. (<https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-2512>)
- Tamaki Y, Akiyama F, Iwase T, Kaneko T, Tsuda H, Sato K, Ueda S, Mano M, Masuda N, Takeda M *et al.* Molecular detection of lymph node metastases in breast cancer patients: results of a multicenter trial using the one-step nucleic acid amplification assay. *Clinical Cancer Research* 2009 **15** 2879–2884. (<https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-1881>)
- Notomi T, Mori Y, Tomita N & Kanda H. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): principle, features, and future prospects.

- Journal of Microbiology* 2016 **53** 1–5. (<https://doi.org/10.1007/s12275-015-4656-9>)
- 16 Chu PG & Weiss LM. Keratin expression in human tissues and neoplasms. *Histopathology* 2002 **40** 403–439. (<https://doi.org/10.1046/j.1365-2559.2002.01387.x>)
 - 17 del Carmen S, Gatus S, Franch-Arcas G, Baena JA, Gonzalez O, Zafon C, Cuevas D, Valls J, Pérez A, Martínez M *et al.* Concordance study between one-step nucleic acid amplification and morphologic techniques to detect lymph node metastasis in papillary carcinoma of the thyroid. *Human Pathology* 2016 **48** 132–141. (<https://doi.org/10.1016/j.humpath.2015.09.020>)
 - 18 González O, Iglesias C, Zafon C, Castellví J, García-Burillo A, Temprana J, Caubet E, Vilallonga R, Mesa J, Ramón y Cajal S *et al.* Detection of thyroid papillary carcinoma lymph node metastases using One Step Nucleic Acid Amplification (OSNA): preliminary results. *Journal of Investigative Surgery* 2015 **28** 153–159. (<https://doi.org/10.3109/08941939.2014.990123>)
 - 19 López-Ruiz ME, Diestro MD, Yébenes L, Berjón A, Díaz de la Noval B, Mendiola M, De Santiago J & Hardisson D. One-step nucleic acid amplification (OSNA) for the detection of sentinel lymph node metastasis in endometrial cancer. *Gynecologic Oncology* 2016 **143** 54–59. (<https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2016.07.106>)
 - 20 Okamoto S, Niikura H, Nakabayashi K, Hiyama K, Matoda M, Takeshima N, Watanabe M, Nagase S, Otsuki T & Yaegashi N. Detection of sentinel lymph node metastases in cervical cancer: assessment of KRT19 mRNA in the one-step nucleic acid amplification (OSNA) method. *Gynecologic Oncology* 2013 **130** 530–536. (<https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2013.06.027>)
 - 21 Nakagawa K, Asamura H, Tsuta K, Nagai K, Yamada E, Ishii G, Mitsudomi T, Ito A, Higashiyama M, Tomita Y *et al.* The novel one-step nucleic acid amplification (OSNA) assay for the diagnosis of lymph node metastasis in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC): results of a multicenter prospective study. *Lung Cancer* 2016 **97** 1–7. (<https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2016.03.015>)
 - 22 Güller U, Zettl A, Worni M, Langer I, Cabalzar-Wondberg D, Viehl CT, Demartines N & Zuber M. Molecular investigation of lymph nodes in colon cancer patients using one-step nucleic acid amplification (OSNA): a new road to better staging? *Cancer* 2016 **118** 6039–6045. (<https://doi.org/10.1002/cncr.27667>)
 - 23 Kumagai K, Yamamoto N, Miyashiro I, Tomita Y, Katai H, Kushima R, Tsuda H, Kitagawa Y, Takeuchi H, Mukai M *et al.* Multicenter study evaluating the clinical performance of the OSNA assay for the molecular detection of lymph node metastases in gastric cancer patients. *Gastric Cancer* 2014 **17** 273–280. (<https://doi.org/10.1007/s10120-013-0271-9>)
 - 24 Kaczka K, Fendler W, Borowiec M, Młynarski W & Pomorski L. First one-step nucleic acid amplification testing in papillary thyroid cancer lymph nodes – a comparison with histopathology and real-time PCR. *Endokrynologia Polska* 2014 **65** 422–430. (<https://doi.org/10.5603/EP.2014.0059>)
 - 25 Wiseman SM, Hicks WL Jr, Chu QD & Rigual NR. Sentinel lymph node biopsy in staging of differentiated thyroid cancer: a critical review. *Surgical Oncology* 2002 **11** 137–142. ([https://doi.org/10.1016/S0960-7404\(02\)00027-0](https://doi.org/10.1016/S0960-7404(02)00027-0))
 - 26 Cserni G, Amendoeira I, Apostolikas N, Bellocq JP, Bianchi S, Bussolati G, Boecker W, Borisch B, Connolly CE, Decker T *et al.* Pathological work-up of sentinel lymph nodes in breast cancer. Review of current data to be considered for the formulation of guidelines. *European Journal of Cancer* 2003 **39** 1654–1667. ([https://doi.org/10.1016/S0959-8049\(03\)00203-X](https://doi.org/10.1016/S0959-8049(03)00203-X))
 - 27 Peg V, Espinosa-Bravo M, Vieites B, Vilardell F, Antúnez JR, de Salas MS, Delgado-Sánchez JJ, Pinto W, Gosalbo F, Petit A *et al.* Intraoperative molecular analysis of total tumor load in sentinel lymph node: a new predictor of axillary status in early breast cancer patients. *Breast Cancer Research and Treatment* 2013 **139** 87–93. (<https://doi.org/10.1007/s10549-013-2524-z>)
 - 28 Milner TD, de Lusignan S, Jones S, Jackson PA, Layer GT, Kissin MW & Irvine TE. Breast cancer metastasis burden in sentinel nodes analysed using one-step nucleic acid amplification predicts axillary nodal status. *Breast* 2015 **24** 568–575. (<https://doi.org/10.1016/j.breast.2015.05.004>)
 - 29 Di Filippo F, Giannarelli D, Bouteille C, Bernet L, Cano R, Cunnick G & Sapino A. Elaboration of a nomogram to predict non sentinel node status in breast cancer patients with positive sentinel node, intra-operatively assessed with one step nucleic acid amplification method. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research* 2015 **34** 136. (<https://doi.org/10.1186/s13046-015-0246-2>)
 - 30 Piñero A, Giménez J, Merck B & Vázquez C. Consensus meeting on selective biopsy of the sentinel node in breast cancer. Spanish Society of Senology and Breast Disease. *Revista Española de Medicina Nuclear* 2007 **26** 176–180.

Received 24 July 2018

Revised version received 12 October 2018

Accepted 25 October 2018

5.4. ESTUDI 4

Títol: *"Nodal Metastatic Load in Papillary Thyroid Carcinoma. Morphological and Molecular Analysis With One-Step Nucleic Acid Amplification on More Than 550 Lymph Nodes"*

Autors: Carmela Iglesias Felip, Oscar González, Jordi Temprana-Salvador, Amparo García-Burillo, Enric Caubet, Santiago Ramón y Cajal, Carles Zafon.

Dades de la publicació: *Endocrinol Diabetes Nutr. ENDINU-D-20-00067R1. Data d'acceptació de l'article per part dels editors: 4-05-2020*

RESUM ESTUDI 4

S'ha discutit en la introducció que la probabilitat de recurrència en el CPT sembla estar relacionada amb la quantitat de tumor present en el GL metastàtic. Per tant, com també s'ha dit, la simplicitat de la classificació TNM vigent (N0/N1) fa necessària la recerca d'un mètode capaç de quantificar aquesta càrrega metastàtica. Aquest quart i darrer treball proposa que l'anàlisi amb OSNA pot oferir una resposta a aquesta necessitat.

Els objectius del treball varen ser, en primer lloc, descriure les característiques dels GL en el CPT i, en segon lloc, comparar amb OSNA algunes de les dades morfològiques que han estat proposades com a criteris de càrrega metastàtica ganglionar (mida del GL metastàtic i nombre de GL afectats).

Es tractà d'un estudi prospectiu on s'avaluaren els GL de 42 pacients cN0/cN1. Tots els GL foren pesats, mesurats i analitzats mitjançant OSNA. S'obtingué un total de 573 GL, 187 (32.6%) dels quals resultaren positius per OSNA. S'observaren diferències significatives en el número de còpies de CQ19 entre els GL <0.2 cm i els de >3 cm, així com també entre els de 0.2-3 cm respecte els de >3 cm, però no entre els de < 0.2 cm i els que mesuraven 0.2-3 cm. La càrrega tumoral total per limfadenectomia no va demostrar diferències depenent del punt de tall proposat de 5 M1G.

En la nostra sèrie els GL metastàtics de més de 3 cm van demostrar tenir major càrrega tumoral, però al mateix temps es qüestionava la necessitat de subclassificar

els de diàmetre menor. Finalment, vam considerar que l'anàlisi amb OSNA era capaç de suplir les limitacions de l'estudi anatomopatològic convencional de les M1G i, alhora, aportar una informació més precisa respecte el seu potencial oncològic real.

DOCUMENT NO CONSULTABLE

6. DISCUSSIÓ

A diferència del que passa en d'altres neoplàsies, l'aplicació de la tècnica de la BSGS és motiu de controvèrsia en el CPT. La diversitat metodològica en els procediments –com ara els diferents marcadors emprats per a la detecció dels GS o la manca d'estandardització en els protocols d'anàlisi anatomopatològica–, les característiques dels pacients o l'elevat percentatge de FN expliquen la gran variabilitat de resultats en els treballs publicats i generen incertesa en les conclusions. En la nostra experiència preliminar, emprant tècnica isotòpica i anàlisi intraoperatòria dels GL amb citologia i tall en congelació, la freqüència de FN global fou del 15,4%, recollint la literatura una mitjana de percentatges similar (69).

Així doncs, és en la suma d'aquestes dues premisses: 1. la necessitat de nous estudis que amplïïn el coneixement en el camp de la BSGS en CPT; i 2. la confiança en les bones dades preliminars obtingudes pel nostre grup usant aquesta metodologia –amb una capacitat de detecció dels GS del 95% dels pacients, una baixa morbiditat quirúrgica i una freqüència de FN en consonància amb les dades publicades– on s'han fonamentat tant les hipòtesis de treball plantejades com els objectius que se'n deriven.

El primer estudi presentat pretén consolidar les dades preliminars del nostre grup (publicació inclosa com a «Document Annex A», (79)), analitzant en una sèrie més extensa l'efectivitat de la tècnica de la BSGS per a l'estratificació ganglionar cervical. Amb aquesta finalitat se seleccionà una sèrie prototípica de pacients que plantejava la disjuntiva de realitzar o no el BGP. S'inclogueren 43 pacients correlatius i cN0 sotmesos a TT i LCC (independentment del resultat del GS i amb l'objectiu de verificar el concepte teòric del GS, que pressuposa un drenatge limfàtic seqüencial), més LCL si s'identificava un GS afectat en aquest compartiment limfàtic. L'estudi intraoperatori demostrà M1G en el 55.8% dels pacients, fent virar per tant l'estratificació ganglionar de cN0 a pN1 en més de la meitat dels casos. En la metanàlisi de Balasubramanian i Harrison (109) del 2011 (que incloïa 24 estudis i al voltant de 1 000 pacients) s'objectivà una mitjana de detecció de M1G en el GS del 43%. En la nostra sèrie, el 40% dels casos cT1-cT2 (pels quals tant la guia de la BTA (45) com la de l'ATA (34) no recomanen expressament el BGP) i el 92% dels casos cT3-cT4 es reconvertiren en pN1. En un treball similar,

emprant tècnica de colorant vital per a la localització dels GS, Maniakas i cols (110), varen obtenir un 11% de M1G en els pacients cT1/cT2 i un 58% en els cT3/cT4. Aquests resultats donen suport a la realització del BGP en tumors avançats alhora que reafirmen els dubtes al respecte en els tumors de baix risc. La freqüència de FN en l'estudi intraoperatori va resultar del 8.3%, discretament inferior a la majoria de les dades publicades (69). Tot i el bon resultat en la nostra casuística, aquesta freqüència de FN amb la tècnica convencional d'empremta citològica i/o tall en congelació segueix suposant una limitació important. Per tant, i amb l'objectiu de millorar aquest error diagnòstic, ens vam plantejar com a pas següent lògic l'exploració preliminar d'una nova metodologia d'anàlisi del GS que pogués donar resposta a aquesta necessitat i que, d'aquesta manera, ajudés a impulsar l'expansió de la tècnica de la BSGS en el CPT.

El segon estudi presentat inicia una línia de recerca amb aquest objectiu, analitzant els resultats preliminars de l'aplicació de l'assaig OSNA per a l'anàlisi dels GL en CPT. S'ha desenvolupat suficientment a la introducció tant el fonament i metodologia d'aquest estudi molecular com les característiques del CPT, circumstàncies ambdues que han sustentat la recerca. Degut a la manca d'experiència a la literatura en l'aplicació d'OSNA en CPT, es va plantejar un treball de concordança entre les tècniques morfològiques clàssiques (citologia i histologia) i OSNA. Donat que necessitàvem disposar d'una mostra de GL el màxim d'enriquida possible en M1G, vam seleccionar peces de limfadenectomia provinents de 5 pacients cN1, de les quals vam poder analitzar amb OSNA 50 GL. Des del punt de vista metodològic i degut a que inevitablement es van haver d'hemiseccionar els GL per a realitzar l'anàlisi amb OSNA i histologia convencional respectivament (la citologia sí que va ser factible en ambdues mostres), el treball presenta un biaix insalvable donat que –malgrat tractar-se del mateix GL– no va ser la mateixa mostra la que es processà amb els dos mètodes. Obtinguérem un 45% de M1G, i tot i el biaix descrit vam demostrar bons resultats de concordança entre els diferents mètodes, d'entre el 83.3% i el 90%.

El segon objectiu fonamental d'aquest treball va ser establir una corba ROC que definís amb les millors S i E el punt de tall òptim en el número de còpies/ μ L de CQ19 a partir del qual podíem considerar un resultat com a positiu. Degut a que

comparàvem OSNA amb diferents estudis morfològics (la citologia de la mostra OSNA, la citologia de la mostra histològica i la histologia), vam obtenir diferències discretes en les corbes depenent de quina fos en cada cas la metodologia considerada com a estàndard. Sabem que els estudis inicials de validació de l'assaig OSNA, que van ser realitzats en una mostra de GL de pacients amb càncer de mama, van establir el punt de tall de positivitat en 250 còpies/ μ L de CQ19. Analitzant les nostres dades i en línia amb aquest resultat, el punt de tall més similar a aquest va ser de 260 còpies/ μ L i el vam obtenir quan consideràvem l'estudi citològic de la mostra OSNA com a *Gold Standard*. L'explicació a això podria ser que, amb la nostra aproximació metodològica, aquesta mostra de citologia era probablement la més «similar» al material analitzat amb OSNA, donat que es corresponia amb la superfície de tall exposada del mateix fragment de GL estudiat molecularment, maximitzant-se en la mesura del possible la homogeneïtat entre el dos materials que estàvem comparant. Els valors de S i E per a OSNA amb aquesta comparativa (enfront la citologia de la mostra OSNA) foren de 86.3% i 92.8% respectivament. D'altra banda, quan consideràvem la histologia com a *Gold Standard* –tècnica referent habitual en els estudis de validació metodològica–, el punt de tall disminuïa fins a 93 còpies/ μ L. Revisant les dades d'aquesta darrera comparació (histologia enfront OSNA), vam observar com a possible element distorsionador un FN d'OSNA que es justificava per l'evidència d'un cos de psammoma aïllat a la histologia, al qual –atenent a les guies diagnòstiques vigents– hem de considerar com a M1G però que no necessàriament tradueix la presència de cèl·lules epitelials metastàtiques identificables en el GL. S'ha comentat prèviament en la introducció la problemàtica que genera la interpretació dels cossos de psammoma en el GL. En ambdós casos (tant amb la citologia de la mostra OSNA com amb la histologia de l'hemigangli complementari com a tècniques *Gold Standard*) l'àrea obtinguda sota la corba (AUC) fou de 0.94. Aquest pas inicial de verificació del punt tall de positivitat no ha estat realitzat en tots els tumors on s'ha testat la tècnica OSNA i, específicament en CPT, dels tres grups que l'han estudiat només el nostre l'ha dut a terme.

De forma simultània al treball exposat, es dissenyà un estudi de validació d'OSNA en CPT, col·laboratiu i multicèntric, que inclogué les dades de la nostra sèrie i que s'adjunta com a «Document Annex B», (111), on es reafirmen i consoliden els bons

resultats en una mostra definitiva de 387 GL. Així doncs, amb la bona experiència demostrada en l'aplicació de la tècnica de la BSGS en les nostres mans («Document Annex A» (79) i estudi 1) i amb els resultats dels estudis de validació d'OSNA –tant de correlació amb la morfologia com respecte a la corba ROC definida– (estudi 2 i «Document Annex B» (111)), vam disposar d'evidència suficient per a explorar, per primera vegada, l'impacte de la implementació de la metodologia OSNA a la tècnica de la BSGS en CPT. Aquest va ser el punt de partida del següent treball que es presenta.

El tercer estudi suposa doncs la continuació natural de la línia de recerca encetada. Es va analitzar una sèrie 360 GL provinents de 35 pacients cN0 sotmesos a la tècnica de la BSGS, pels quals tant els GS com els GL de les limfadenectomies –guiades pel resultat del GS excepte en el cas de GS positiu en el CL, on es realitzava també la LCC– foren analitzats amb OSNA. Basant-nos en els punt de tall obtinguts en l'estudi previ, vam assumir per la similitud el llindar de positivitat preestablert de 250 còpies/ μ L de CQ19. Vam incorporar també els punts de tall d'OSNA predefinits per a mM i MM, tot i no ser aquests –com s'ha discutit en la introducció– conceptes definitivament consensuats en CPT. Els resultats del treball emfatitzen, en primer lloc, la necessitat de realitzar dues verificacions prèviament a plantejar l'assaig amb OSNA en les mostres histològiques: 1) la verificació immunohistoquímica de la positivitat per a CQ19 en la punció diagnòstica prèvia –tot i que en la nostra sèrie cap cas va ésser descartat per aquest motiu, un percentatge petit de carcinomes poden no expressar la proteïna i invalidar teòricament l'assaig–; i 2) la verificació citològica de que el suposat GL realment ho és –hem demostrat en la nostra casuística la confusió a l'examen macroscòpic amb glàndules paratiroidals o nòduls tiroïdals o tímics, estructures aquestes que mostren focal positivitat per a CQ19 i podrien suposar per tant un FP de la tècnica–. Pel que fa a la presa de decisió quirúrgica a l'hora de completar o no la limfadenectomia –i donat que l'estratificació en mM o MM no influïa en la decisió–, sempre que la citologia intraoperatòria del GS demostrà M1G es va procedir a realitzar-la sense esperar al resultat molecular. No vam documentar cap discrepància amb OSNA en la interpretació citològica d'aquests GS, reafirmant així l'elevat VPP de la citologia en el diagnòstic de M1G. Contràriament, vam detectar 2 GL no sentinella citològicament positius on OSNA va resultar negatiu. Aquesta

aparent discrepància tradueix el fet que en realitat estem comparant una tècnica quantitativa –OSNA, amb un llindar mínim de positivitat– amb una altra de qualitativa –la citologia, sense aquest llindar mínim–, i va ser per tant interpretada com un desajust en les definicions de «resultat positiu» entre ambdues tècniques més que no pas com una veritable discordança. Globalment, l'estudi demostrà una major sensibilitat d'OSNA que de la citologia per a detectar M1G (increment en els casos positius del 25% i del 28% en els GS i GL no sentinella respectivament). Aquest elevat percentatge de FN el justifiquem pel fet que s'està contraposant la citologia no a la histologia diferida convencional sinó a una tècnica més avançada, OSNA, amb una capacitat superior per a detectar un resultat positiu. Així doncs, sembla lògic que la majoria dels resultats discrepants fossin deguts a un resultat OSNA positiu amb citologia negativa.

L'elevada capacitat d'OSNA per a la detecció de M1G en el GS, que en una primera reflexió pot semblar clarament beneficiosa, pot ser més qüestionable si pensem que comporta conseqüentment un augment en el nombre de limfadenectomies. Sabem també que diferents treballs a la literatura atorguen rellevància pronòstica a la M1G només en el cas que aquesta sigui mínimament quantiosa. Tot i existir diferents propostes de «mesura» d'aquesta quantitat de M1G, els llindars amb rellevància clínica real segueixen sense estar definits de manera categòrica. És en aquest punt on ens vam plantejar també si el *plus* com a valor quantitatiu que ens ofereix OSNA podia suposar un ajut a l'hora de minimitzar aquesta problemàtica. Analitzant les nostres dades vam observar que en el 75% dels casos on detectàvem MM al GS també les detectàvem en les peces de limfadenectomia i, per contra, quan en el GS el resultat era de mM només en el 9% de les limfadenectomies evidenciàvem MM. Amb aquests dades, i malgrat es tractava d'un grup relativament reduït de pacients, podríem hipotetitzar un nou escenari en l'algoritme de decisió quirúrgica que plantegés, amb la implementació d'OSNA intraoperatòria, la realització de limfadenectomia només en el

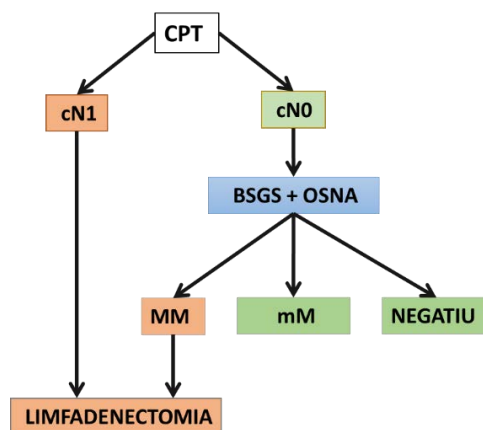


Figura 14: Hipotètic algoritme de decisió quirúrgica basat en el resultat quantitatiu d'OSNA en l'anàlisi intraoperatòria del GS (C. Iglesias).

cas de demostrar MM en el GS (figura 14). Per tant, el que inicialment semblava un problema degut a un «excés» de detecció de M1G podria acabar sent el contrari i esdevenir un plantejament més dirigit de l'abordatge quirúrgic del pacient, sustentat per l'evidència publicada de l'escàs impacte clínic de les M1G de poc volum.

Finalment, cal dir que aquest treball no es troba exempt de limitacions. En primer lloc, la dificultat en la identificació macroscòpica en fresc dels GS mil·limètrics. Val a dir, però, que aquesta dificultat és inherent a la pròpia metodologia de la BSGS – compartida per tant amb l'anàlisi intraoperatòria convencional dels GS– i no relacionada específicament amb OSNA. En el nostre cas, hem pogut demostrar amb l'estudi histològic quatre GS no avaluats amb OSNA per no haver estat identificats, un d'ells positiu. Aquest darrer cas respongué a una circumstància particular i complexa en la seva interpretació, donat que davant l'elevada sospita de M1G per part del cirurgià –i tot i l'absència intraoperatòria de cap GS positiu– es va ressecat addicionalment un GL del mateix compartiment limfàtic que finalment demostrà MM a l'anàlisi amb OSNA. Aquest cas aïllat es podria interpretar com un possible FN de la pròpia tècnica de la BSGS, argumentant que potser aquest GL gran i macroscòpicament sospitós per al cirurgià era en realitat el veritable GS. En tot cas, la reflexió que se'n deriva és que, malgrat es proposi un algorisme de decisió basat en la BSGS i el resultat d'OSNA, el criteri clínic de sospita ha de prevaldre, modificant l'abordatge definitiu sempre que es consideri necessari. Una segona limitació de l'anàlisi OSNA fou que, pel fet d'impedir la histologia en paral·lel, no va ser possible l'avaluació de l'EEG en les M1G, característica morfològica a la que alguns autors adjudiquen un valor pronòstic. Amb tot, aquest tercer treball ens va permetre demostrar l'aplicabilitat d'OSNA a la tècnica de la BSGS, aportant un diagnòstic intraquirúrgic precís i definitiu i incorporant el valor afegit de la quantificació de la M1G com una informació a tenir en compte a l'hora de refinar i personalitzar l'actitud quirúrgica a seguir.

Fins aquest punt, s'han discutit en aquest estudi les dades referents als GS i la seva relació amb els resultats de la limfadenectomia. Però el plantejament metodològic del treball incloïa, com s'ha dit, l'anàlisi amb OSNA de la totalitat dels GL dels pacients, GS i GL no sentinelles, aportant una informació valuosa respecte la

càrrega ganglionar global en cas de M1G. Aquesta informació provinent de la totalitat de les limfadenectomies, fins aquí no explotada, conjuntament amb les dades aportades de l'anàlisi amb OSNA dels BGT de pacients cN1 –no candidats per tant a la tècnica de la BSGS–, defineixen el punt de partida del quart treball presentat.

Així doncs, el darrer estudi que s'exposa analitza la informació obtinguda a partir de l'estudi amb OSNA de 573 GL provinents de 42 pacients sotmesos a BGT (per ser cN1 o per obtenir positivitat en la BSGS, majoritàriament). La primera part del treball pretenia descriure les característiques morfològiques dels GL en aquests pacients, afegint la informació nova aportada per OSNA. Es va observar, com semblaria lògic, que els GL metastàtics eren més grans i pesaven més que els GL negatius. De forma més discreta es va demostrar també que aquests paràmetres eren menors en les mM respecte les MM. Pel que fa a l'avaluació de la «quantitat» de metàstasi, s'ha desenvolupat prèviament en la introducció quins són els diferents criteris d'estratificació proposats a la literatura a l'hora de definir-ne el risc associat, i especialment els reconeguts per la guia ATA (34). Basant-nos en aquesta informació, vam voler contrastar els criteris morfològics proposats amb les dades quantitatives aportades per OSNA. Vam verificar en la nostra sèrie que els GL metastàtics majors de 3 cm mostraven un número de còpies/ μ L de CQ19 significativament superior als menors a aquesta mida. D'altra banda, en els menors de 3 cm no s'observaren diferències atenent al punt de tall de 0.2 cm. En relació amb això vam evidenciar també que la presència de MM no era significativament superior en els GL metastàtics menors de 0.2 cm respecte aquells d'entre 0.2 i 3 cm (36% enfront 44%), mentre que en el 100% dels GL metastàtics de més de 3 cm s'observaren MM. Sembla deduir-se per tant que, efectivament, els GL metastàtics superiors a 3 cm tenen una major càrrega tumoral, mentre que es posa en dubte la necessitat de subclassificar les metàstasis menors o, més encara, si el punt de tall de 0.2 cm té utilitat pronòstica a l'hora de definir mM en aquests pacients. Un dels factors de confusió que explicaria aquestes discrepàncies podria ser l'ambigüïtat en la definició concreta de mM o MM adoptada pels diferents autors, en el sentit de si el punt de tall en cada cas fa referència a la mida del GL o a la mida del dipòsit metastàtic. Sabem també, com s'ha desenvolupat en la introducció, que les M1G de CPT tenen unes particularitats morfològiques que fan que el concepte «mida del

GL metastàtic» i «mida de la metàstasi» no sempre siguin equivalents. En el cas de la multifocalitat, avaluar exclusivament el depòsit metastàtic més gran pot minimitzar la quantitat real de càrrega tumoral en el GL i, per contra, en un GL metastàtic amb prominent degeneració quística el diàmetre perimetral d'aquesta metàstasi pot sobrevalorar-ne el potencial oncològic real. Un tercer element de discòrdia en l'estudi morfològic seria el motivat pels cossos de psammoma, problemàtica que ja s'ha discutit en els treballs previs. Així doncs, amb l'evidència descrita proposem que l'anàlisi amb OSNA pot ajudar a la solució d'aquests handicaps morfològics aportant una informació precisa i quantificable. Com també s'ha exposat en la introducció, un altre criteri de risc de recurrència plantejat per diferents autors és, en combinació amb el paràmetre de mida, el del número de M1G. En la nostra sèrie no hem pogut demostrar diferències en la càrrega tumoral ganglionar total avaluada amb OSNA en relació amb el punt de tall de 5 M1G – l'incorporat per la guia ATA–, no havent pogut per tant verificar la robustesa d'aquest criteri. Diferents autors han proposat altres punts de tall en el número de M1G amb significació pronòstica (112–115).

Més enllà de les conclusions discutides, que serien les fonamentals de l'estudi, s'ha corroborat novament el valor ineludible de l'estudi citològic a l'hora de definir la naturalesa limfàtica de la mostra –havent descartat en aquesta sèrie fins a 35 (5.7%) nòduls erròniament catalogats com a GL a la macroscòpia–. També en la línia de resultats ja discutits en els treballs previs, es va demostrar una bona concordança global entre citologia i OSNA (87.4%), corresponent el 93% de les discordances a GL amb OSNA positiu i citologia negativa i sent especialment evidents en el subgrup de les mM. Les 5 discrepàncies obtingudes en sentit invers (OSNA negatiu i citologia positiva) es podrien argumentar de forma similar a com s'ha fet en el treball previ, corresponent sempre a GL amb molt baixa càrrega metastàtica per OSNA (CTA). Les limitacions metodològiques detectades són també superposables a les ja descrites, corresponent a: 1) la impossibilitat de realitzar l'assaig OSNA en fins a 429 GL per no haver-se identificat aquests a la palpació; i 2) la impossibilitat d'avaluar l'EEG. Finalment, i degut tant a la manca en el moment de tancar l'estudi de seguiment clínic a llarg termini suficient com a la limitació de la mostra estudiada, no ha estat possible definir de manera categòrica la hipotètica relació

entre la quantificació de la càrrega tumoral ganglionar i l'impacte pronòstic real de les M1G en aquests pacients.

Amb tot, la suma dels resultats discutits en els quatre treballs que integren el present projecte de tesi doctoral ens dona arguments suficients per a concloure que la implementació de l'anàlisi amb OSNA de les M1G en els pacients amb CPT hauria de permetre un major coneixement del seu potencial oncològic real, aportant en aquest sentit un valor quantitatiu, objectiu i estandarditzat. Alhora, permet millorar els resultats globals de la tècnica de la BSGS i ajuda a classificar d'una manera més precisa el subgrup de pacients N1. Finalment, seran necessaris treballs futurs que reafirmin les dades presentades i discutides amb l'objectiu d'explorar i implementar de forma definitiva l'assaig OSNA com a element integrant dels algorismes de maneig clínic dels pacients amb CPT.

7. CONCLUSIONS

CONCLUSIÓ GENERAL

Els articles que integren aquesta tesi doctoral validen la implementació de l'assaig OSNA per a l'estudi de la BSGS en pacients amb CPT.

CONCLUSIONS ESPECÍFIQUES

1. La implementació de la BSGS en pacients amb CPT és factible amb la metodologia emprada a l'Hospital Vall d'Hebron en altres neoplàsies sòlides malignes (localització isotòpica del GS i estudi intraoperatori amb empremta citològica i tall en congelació):
 - 1.1. La metodologia descrita demostra bons resultats globals i permet corroborar que la presència de M1G és freqüent en aquest malalt, inclosos aquells amb teòric baix risc.
 - 1.2. La BSGS permet aconseguir una estratificació ganglionar més precisa.
 - 1.3. El percentatge de FN de l'estudi intraoperatori convencional dels GS – citologia i/o tall en congelació– és elevat i suposa un handicap metodològic en la tècnica de la BSGS que necessita propostes de millora.

2. L'assaig OSNA és aplicable a l'anàlisi dels GL en CPT:
 - 2.1. OSNA demostra bona correlació amb el mètode referent de la histologia i també amb la citologia, esdevenint una tècnica prometedora que pot minimitzar les limitacions de l'estudi anatomopatològic convencional.
 - 2.2. El punt de tall en el número de còpies/ μ L d'ARNm de CQ19 que defineix positivitat en CPT és molt similar al prèviament consensuat en càncer de mama, fent que sigui adequat assimilar els valors preestablerts en l'anàlisi dels GL en aquests pacients.

3. La implementació de l'assaig OSNA a l'estudi intraoperatori dels GS en pacients amb CPT sotmesos a la tècnica de la BSGS és factible :
 - 3.1. La metodologia de BSGS+OSNA descrita, aplicada a pacients cN0, obté uns resultats excel·lents alhora que s'adequa a les recomanacions de les actuals guies de maneig.
 - 3.2. El valor afegit de l'assaig OSNA com a mètode quantitatiu, aplicat a la tècnica de la BSGS, permet conèixer intraoperatòriament el volum de

metàstasi del GS (mM vs. MM). Aquesta dada pot ajudar a personalitzar l'abordatge quirúrgic de la limfadenectomia en els pacients cN0.

- 3.3. És ineludible l'estudi citològic dels GL previ a l'assaig amb OSNA, amb l'objectiu de verificar la naturalesa limfàtica de la mostra i evitar la confusió amb d'altres estructures (paratiroide, tiroide o timus), que poden expressar CQ19 i conduir a un fals positiu de l'assaig molecular.

4. L'assaig OSNA aporta informació rellevant en la caracterització dels GL del CPT

:

- 4.1. Els GL metastàtics presenten majors pes i mida que els no afectats, observant-se també diferències depenent del compartiment ganglionar cervical al qual pertanyin (sent ambdues dades majors en el CL). Els GL positius per OSNA mostren diferències en el pes i la mida en funció dels punts de tall predefinits (mM enfront MM).
- 4.2. Comparant OSNA amb paràmetres morfològics de risc de recidiva tumoral proposats a la literatura, verifiquem que els GL metastàtics de més de 3 cm presenten significativament major càrrega tumoral que els menors. Per contra, posem en dubte la rellevància de subclassificar els GL metastàtics inferiors a 3 cm. Tampoc la càrrega tumoral ganglionar total de les limfadenectomies mesurada amb OSNA ha demostrat diferències respecte el punt de tall proposat de 5 M1G.

El present projecte de tesi doctoral demostra l'aplicabilitat clínica de l'assaig OSNA per a millorar el rendiment de la BSGS en els pacients intervinguts per CPT. Addicionalment, OSNA permet un millor coneixement del potencial oncològic real de les M1G, donat que aporta un valor quantitatiu, objectiu i estandarditzable alhora que permet subclassificar l'heterogeni grup de pacients N1. A dia d'avui, tot i que les dades presentades i discutides son prometedores i encoratgen a no abandonar aquesta línia de recerca, el paper definitiu d'OSNA com a peça integrant dels algoritmes de maneig clínic en el CPT és un camp encara per explorar.

8. ADDENDA

Els resultats obtinguts i el coneixement derivat del projecte de tesi doctoral que es defensa han estat presentats, de manera seqüencial i al llarg dels anys en què s'ha anat desenvolupant, en nombrosos congressos nacionals i internacionals així com també en diverses jornades científiques, cursos i simposis. Més enllà de la difusió dels resultats en fòrums estrictament mèdics i científics, es vol fer referència explícita i destacar, pel ressò i impacte que han suposat en la visibilitat del treball en el seu conjunt, els esdeveniments que es resumeixen a continuació.

En primer lloc, la notícia apareguda a la pàgina web institucional de l'Hospital Vall d'Hebron amb data de 22 d'agost de 2016 i titulada «*Vall d'Hebron, pioner al món a utilitzar la combinació de la tècnica del gangli sentinella i del sistema OSNA de diagnòstic molecular ràpid en el càncer de tiroides*», accessible mitjançant l'enllaç <https://www.vallhebron.com/ca/noticies/vall-dhebron-pioner-al-mon-utilitzar-la-combinacio-de-la-tecnica-del-gangli-sentinella-i>. El «Document Annex C» recull la notícia completa.

En segon lloc, el fet que l'estudi sobre l'aplicació d'OSNA a la tècnica de la BSGS en CPT hagi estat inclòs en el «*Monogràfic SARIS, Sèrie sobre recerca que transforma: Estudi exploratori de l'impacte de la recerca a l'Hospital Universitari Vall d'Hebron*». Es tracta d'un monogràfic que l'any 2019 publicaren conjuntament la Generalitat de Catalunya, l'Agència de Qualitat i Avaluacions Sanitàries de Catalunya – AQUAS– i l'Institut de Recerca Vall d'Hebron. La publicació recull els resultats obtinguts arran d'un estudi exploratori l'objectiu del qual fou la selecció de casos especialment rellevants on la recerca hagués conduït a una modificació o millora significativa de la pràctica assistencial, essent catalogats els treballs seleccionats com a «casos d'èxit». L'estudi abasta l'interval 2011-2015 i recull un total de disset projectes. L'estudi de la implementació d'OSNA en l'anàlisi intraoperatòria dels GS en CPT ha estat un dels set projectes de recerca seleccionats en l'àmbit de la millora diagnòstica. Aquest fet, doncs, emfatitza i dona valor a l'aplicació clínica real de l'evidència científica obtinguda a partir de la recerca multidisciplinària i translacional. El «Document Annex D» recull la publicació monogràfica completa.

Finalment, es vol fer constar que actualment s'està avaluant per part de la *Unitat de Millora de la Pràctica Clínica de l'Hospital Vall d'Hebron* la sol·licitud, com a nova

tecnologia no farmacològica, de la tècnica OSNA per a l'estudi intraoperatori del GS en CPT. El «Document Annex E» recull el Full de Sol·licitud específic. L'objectiu final d'aquest procediment és obtenir el vistiplau institucional necessari que permeti la implementació definitiva d'OSNA en aquest context clínic a l'Hospital Vall d'Hebron. Fins el nostre coneixement, no hi ha a dia d'avui altres institucions on s'empri aquesta metodologia de forma protocol·litzada i assistencial. Aquesta circumstància ens hauria de permetre, per tant, posicionar-nos com a pioners en aquest camp i, específicament, en l'ús de la tècnica molecular OSNA en el CPT.

9. BIBLIOGRAFIA

1. Hundahl SA, Fleming ID, Fremgen AM, Menck HR. A National Cancer Data Base report on 53,856 cases of thyroid carcinoma treated in the U.S., 1985-1995. *Cancer*. 1998;83(12):2638-48.
2. Hundahl SA, Cady B, Cunningham MP, Mazzaferri E, McKee RF, Rosai J, et al. Initial results from a prospective cohort study of 5583 cases of thyroid carcinoma treated in the United States during 1996. U.S. and German Thyroid Cancer Study Group. An American College of Surgeons Commission on Cancer Patient Care Evaluation study. *Cancer*. 2000;89(1):202-17.
3. Cancer today. Consultat el 26 de maig de 2020. Disponible a: <http://gco.iarc.fr/today/home>
4. Lloyd RV, Osamura RY, Klöppel G, J Rosai, editors. WHO Classification of Tumours of Endocrine Organs. 4a Edició. Lyon: IARC; 2017.
5. Carcangiu ML, Zampi G, Pupi A, Castagnoli A, Rosai J. Papillary carcinoma of the thyroid. A clinicopathologic study of 241 cases treated at the University of Florence, Italy. *Cancer*. 1985;55(4):805-28.
6. Zafon C, Puig-Domingo M, Biarnés J, Halperin I, Bella MR, Castells I, et al. A descriptive study of the characteristics of differentiated thyroid cancer in Catalonia during the period 1998-2012. The CECaT registry. *Endocrinol Nutr* 2015;62(6):264-9.
7. Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic characterization of papillary thyroid carcinoma. *Cell*. 2014;159(3):676-90.
8. Davies L, Welch HG. Increasing incidence of thyroid cancer in the United States, 1973-2002. *JAMA*. 2006;295(18):2164-7.
9. Schonfeld SJ, Lee C, Berrington de González A. Medical exposure to radiation and thyroid cancer. *Clin Oncol*. 2011;23(4):244-50.
10. Hoffman K, Lorenzo A, Butt CM, Hammel SC, Henderson BB, Roman SA, et al. Exposure to flame retardant chemicals and occurrence and severity of papillary thyroid cancer: A case-control study. *Environ Int*. 2017;107:235-42.

11. Hughes DT, Haymart MR, Miller BS, Gauger PG, Doherty GM. The most commonly occurring papillary thyroid cancer in the United States is now a microcarcinoma in a patient older than 45 years. *Thyroid*. 2011;21(3):231-6.
12. Udelsman R, Zhang Y. The epidemic of thyroid cancer in the United States: the role of endocrinologists and ultrasounds. *Thyroid*. 2014;24(3):472-9.
13. Liang J, Li Z, Fang F, Yu T, Li S. Is prophylactic central neck dissection necessary for cN0 differentiated thyroid cancer patients at initial treatment? A meta-analysis of the literature. *Acta Otorhinolaryngol Ital*. 2017;37(1):1-8.
14. Tuttle RM, Morris LF, Haugen BR, et al. Thyroid- differentiated and anaplastic carcinoma. A: *AJCC Cancer Staging Manual*. 8th ed. New York, NY: Springer; 2017.
15. Carty SE, Cooper DS, et al. Consensus statement on the terminology and classification of central neck dissection for thyroid cancer. *Thyroid*. 2009;19(11):1153-8.
16. Robbins KT, Samant S, Ronen O. Neck Dissection. In: Flint PW, Haughey BH, Lund VJ, et al, eds. *Cummings Otolaryngology: Head and Neck Surgery*. 5a edició. Philadelphia: PA: Saunders; 2005:1702-1725.
17. Jin W-X, Jin Y-X, Ye D-R, Zheng Z-C, Sun Y-H, Zhou X-F, et al. Predictive Factors of Skip Metastasis in Papillary Thyroid Cancer. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res*. 2018;24:2744-9.
18. Lei J, Zhong J, Jiang K, Li Z, Gong R, Zhu J. Skip lateral lymph node metastasis leaping over the central neck compartment in papillary thyroid carcinoma. *Oncotarget*. 2017;8(16):27022-33.
19. Batori M, Zullino A, Pipino R, Eleni C. Occult papillary thyroid microcarcinoma manifesting only as a symptomatic lateral cervical mass: report of a case. *Surg Today*. 2012;42(10):1010-3.
20. Seven H, Gurkan A, Cinar U, Vural C, Turgut S. Incidence of occult thyroid carcinoma metastases in lateral cervical cysts. *Am J Otolaryngol*. 2004;25(1):11-7.

21. Nakagawa T, Takashima T, Tomiyama K. Differential diagnosis of a lateral cervical cyst and solitary cystic lymph node metastasis of occult thyroid papillary carcinoma. *J Laryngol Otol.* 2001;115(3):240-2.
22. Dugan JM, Atkinson BF, Avitabile A, Schimmel M, LiVolsi VA. Psammoma bodies in fine needle aspirate of the thyroid in lymphocytic thyroiditis. *Acta Cytol.* 1987;31(3):330-4.
23. Fiorella RM, Isley W, Miller LK, Kragel PJ. Multinodular goiter of the thyroid mimicking malignancy: diagnostic pitfalls in fine-needle aspiration biopsy. *Diagn Cytopathol.* 1993;9(3):351-5; discussion 355-357.
24. Olson JL, Penney DP, Averill KA. Fine structural studies of a human thyroid adenoma, with special reference to psammoma bodies. *Hum Pathol.* 1977;8(1):103-11.
25. Johannessen JV, Sobrinho-Simões M. The origin and significance of thyroid psammoma bodies. *Lab Investig J Tech Methods Pathol.* 1980;43(3):287-96.
26. Guerlain J, Perie S, Lefevre M, Perez J, Vandermeersch S, Jouanneau C, et al. Localization and characterization of thyroid microcalcifications: A histopathological study. *PloS One.* 2019;14(10):e0224138.
27. Mete O, Seethala R, Asa S et al. Protocol for the Examination of Specimens From Patient With Carcinomas of the Thyroid Gland. *Cancer Protocol Templates.* College of American Pathologists. [consultat el 26 de maig de 2020]. Disponible a: <https://www.cap.org/protocols-and-guidelines/cancer-reporting-tools/cancer-protocol-templates>
28. Urken ML, Haser GC, Likhterov I, Wenig BM. The Impact of Metastatic Lymph Nodes on Risk Stratification in Differentiated Thyroid Cancer: Have We Reached a Higher Level of Understanding? *Thyroid.* 2016;26(4):481-8.
29. Rowe ME, Ozbek U, Machado RA, Yue LE, Hernandez-Prera JC, Valentino A, et al. The Prevalence of Extranodal Extension in Papillary Thyroid Cancer Based on the Size of the Metastatic Node: Adverse Histologic Features Are Not Limited to Larger Lymph Nodes. *Endocr Pathol.* 2018;29(1):80-5.

30. Tuttle RM, Morris LF, Haugen BR et al. Thyroid-differentiated and anaplastic carcinoma. *AJCC Cancer Staging Manual*. 8a edició. New York: Springer; 2017.
31. Brierley J. Thyroid. In: Sobin LH Gospodarowicz MK, Wittekind Ch, editors. *TNM Classification of Malignant Tumours*. 7a edició. Wiley-Blackwell; 2009.
32. Cameselle-Teijeiro JM, Bella Cueto MR, Eloy C, Abdulkader I, Amendoeira I, Matías-Guiu X, et al. [Tumors of the thyroid gland. Proposal for the management and study of samples from patients with thyroid neoplasms]. *Rev Espanola Patol* 2020;53(1):27-36.
33. Cameselle-Teijeiro JM, Eloy C, Abdulkader I, Matías-Guiu X, Sobrinho-Simões M. Libro blanco de la anatomía patológica en España. SEAP. Patología de la glándula tiroides. Propuesta para el manejo de muestras y la elaboración del informe diagnóstico estandarizado. Guerra Merino I, editor.; 2015.
34. Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, Doherty GM, Mandel SJ, Nikiforov YE, et al. 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer: The American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer. *Thyroid*. 2016;26(1):1-133.
35. Feng J, Gan X, Shen F, Cai W, Xu B. The role of two tumor foci for predicting central lymph node metastasis in papillary thyroid carcinoma: A meta-analysis. *Int J Surg Lond Engl*. 2018;52:166-70.
36. Aydin Buyruk B, Kebapci N, Yorulmaz G, Buyruk A, Kebapci M. An Evaluation of Clinicopathological Factors Effective in the Development of Central and Lateral Lymph Node Metastasis in Papillary Thyroid Cancer. *J Natl Med Assoc*. 2018;110(4):384-90.
37. Wang J, Liu J, Pan H, Jiang C, Liu S, Zhu Z, et al. Young age increases the risk of lymph node positivity in papillary thyroid cancer patients: a SEER data-based study. *Cancer Manag Res*. 2018;10:3867-73.
38. Sojak J, Sičák M, Kališ A, Slašťan M. Papillary Thyroid Carcinoma: Analysis of the Central Compartment's Lymph Nodes Metastases. *Acta Medica (Hradec Kralove)*. 2017;60(1):44-50.

39. Noda S, Onoda N, Morisaki T, Kashiwagi S, Takashima T, Hirakawa K. The significance and the predictive factors of microscopic lymph node metastasis in patients with clinically node negative papillary thyroid cancer: A retrospective cohort study. *Int J Surg Lond Engl*. 2015;20:52-7.
40. Chung YS, Kim JY, Bae J-S, Song B-J, Kim JS, Jeon HM, et al. Lateral lymph node metastasis in papillary thyroid carcinoma: results of therapeutic lymph node dissection. *Thyroid*. 2009;19(3):241-6.
41. An C, Zhang X, Wang S, Zhang Z, Yin Y, Xu Z, et al. Efficacy of Superselective Neck Dissection in Detecting Metastasis in Patients with cN0 Papillary Thyroid Carcinoma at High Risk of Lateral Neck Metastasis. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res*. 2017;23:2118-26.
42. Hu D, Zhou J, He W, Peng J, Cao Y, Ren H, et al. Risk factors of lateral lymph node metastasis in cN0 papillary thyroid carcinoma. *World J Surg Oncol*. 2018;16(1):30.
43. Carty SE, Cooper DS, et al. Consensus statement on the terminology and classification of central neck dissection for thyroid cancer. *Thyroid*. 2009;19(11):1153-8.
44. Randolph GW, Duh Q-Y, Heller KS, LiVolsi VA, Mandel SJ, Steward DL, et al. The prognostic significance of nodal metastases from papillary thyroid carcinoma can be stratified based on the size and number of metastatic lymph nodes, as well as the presence of extranodal extension. *Thyroid*. 2012;22(11):1144-52.
45. Perros P, Boelaert K, Colley S, Evans C, Evans RM, Gerrard Ba G, et al. Guidelines for the management of thyroid cancer. *Clin Endocrinol*. 2014;81 Suppl 1:1-122.
46. Sitges-Serra A, Lorente L, Mateu G, Sancho JJ. THERAPY OF ENDOCRINE DISEASE: Central neck dissection: a step forward in the treatment of papillary thyroid cancer. *Eur J Endocrinol*. 2015;173(6):R199-206.
47. Glover AR, Gundara JS, Norlén O, Lee JC, Sidhu SB. The pros and cons of prophylactic central neck dissection in papillary thyroid carcinoma. *Gland Surg*. 2013;2(4):196-205.

48. Chan AC, Lang BHH, Wong KP. The pros and cons of routine central compartment neck dissection for clinically nodal negative (cN0) papillary thyroid cancer. *Gland Surg.* 2013;2(4):186-95.
49. Sywak M, Cornford L, Roach P, Stalberg P, Sidhu S, Delbridge L. Routine ipsilateral level VI lymphadenectomy reduces postoperative thyroglobulin levels in papillary thyroid cancer. *Surgery.* 2006;140(6):1000-5; discussion 1005-1007.
50. Zetoune T, Keutgen X, Buitrago D, Aldailami H, Shao H, Mazumdar M, et al. Prophylactic central neck dissection and local recurrence in papillary thyroid cancer: a meta-analysis. *Ann Surg Oncol.* 2010;17(12):3287-93.
51. Lang BH-H, Ng S-H, Lau LLH, Cowling BJ, Wong KP, Wan KY. A systematic review and meta-analysis of prophylactic central neck dissection on short-term locoregional recurrence in papillary thyroid carcinoma after total thyroidectomy. *Thyroid.* 2013;23(9):1087-98.
52. Wang TS, Cheung K, Farrokhyar F, Roman SA, Sosa JA. A meta-analysis of the effect of prophylactic central compartment neck dissection on locoregional recurrence rates in patients with papillary thyroid cancer. *Ann Surg Oncol.* 2013;20(11):3477-83.
53. Zhao W, You L, Hou X, Chen S, Ren X, Chen G, et al. The Effect of Prophylactic Central Neck Dissection on Locoregional Recurrence in Papillary Thyroid Cancer After Total Thyroidectomy: A Systematic Review and Meta-Analysis: pCND for the Locoregional Recurrence of Papillary Thyroid Cancer. *Ann Surg Oncol.* 2017;24(8):2189-98.
54. Chisholm EJ, Kulinskaya E, Tolley NS. Systematic review and meta-analysis of the adverse effects of thyroidectomy combined with central neck dissection as compared with thyroidectomy alone. *The Laryngoscope.* 2009;119(6):1135-9.
55. Carling T, Carty SE, Ciarleglio MM, Cooper DS, Doherty GM, Kim LT, et al. American Thyroid Association design and feasibility of a prospective randomized controlled trial of prophylactic central lymph node dissection for papillary thyroid carcinoma. *Thyroid.* 2012;22(3):237-44.

56. Viola D, Materazzi G, Valerio L, Molinaro E, Agate L, Faviana P, et al. Prophylactic central compartment lymph node dissection in papillary thyroid carcinoma: clinical implications derived from the first prospective randomized controlled single institution study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(4):1316-24.
57. Sancho JJ, Lennard TWJ, Paunovic I, Triponez F, Sitges-Serra A. Prophylactic central neck dissection in papillary thyroid cancer: a consensus report of the European Society of Endocrine Surgeons (ESES). *Langenbecks Arch Surg.* 2014;399(2):155-63.
58. Lang BH-H, Wong CKH. Validation and Comparison of Nomograms in Predicting Disease-Specific Survival for Papillary Thyroid Carcinoma. *World J Surg.* 2015;39(8):1951-8.
59. Yang L, Shen W, Sakamoto N. Population-based study evaluating and predicting the probability of death resulting from thyroid cancer and other causes among patients with thyroid cancer. *J Clin Oncol.* 2013;31(4):468-74.
60. Podnos YD, Smith D, Wagman LD, Ellenhorn JDI. The implication of lymph node metastasis on survival in patients with well-differentiated thyroid cancer. *Am Surg.* 2005;71(9):731-4.
61. Zaydfudim V, Feurer ID, Griffin MR, Phay JE. The impact of lymph node involvement on survival in patients with papillary and follicular thyroid carcinoma. *Surgery.* 2008;144(6):1070-7; discussion 1077-1078.
62. Gorshtein A, Benbassat C, Robenshtok E, Shimon I, Hirsch D. Response to Treatment is Highly Predictable in cN0 Patients with Papillary Thyroid Carcinoma. *World J Surg.* 2016;40(9):2123-30.
63. Zhu W, Zhong M, Ai Z. Systematic evaluation of prophylactic neck dissection for the treatment of papillary thyroid carcinoma. *Jpn J Clin Oncol.* 2013;43(9):883-8.
64. Liu Z, Wang L, Yi P, Wang C-Y, Huang T. Risk factors for central lymph node metastasis of patients with papillary thyroid microcarcinoma: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Pathol.* 2014;7(3):932-7.

65. Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, Kloos RT, et al. Revised American Thyroid Association management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid*. 2009;19(11):1167-214.
66. McNamara WF, Wang LY, Palmer FL, Nixon IJ, Shah JP, Patel SG, et al. Pattern of neck recurrence after lateral neck dissection for cervical metastases in papillary thyroid cancer. *Surgery*. 2016;159(6):1565-71.
67. Garau LM, Rubello D, Morganti R, Boni G, Volterrani D, Colletti PM, et al. Sentinel Lymph Node Biopsy in Small Papillary Thyroid Cancer: A Meta-analysis. *Clin Nucl Med*. 2019;44(2):107-18.
68. Raijmakers PGHM, Paul MA, Lips P. Sentinel node detection in patients with thyroid carcinoma: a meta-analysis. *World J Surg*. 2008;32(9):1961-7.
69. Portinari M, Carcoforo P. Radioguided sentinel lymph node biopsy in patients with papillary thyroid carcinoma. *Gland Surg*. 2016;5(6):591-602.
70. Garau LM, Rubello D, Muccioli S, Boni G, Volterrani D, Manca G. The sentinel lymph node biopsy technique in papillary thyroid carcinoma: The issue of false-negative findings. *Eur J Surg Oncol*. 2020; doi: 10.1016/j.ejso.2020.02.007.
71. Cibula D, McCluggage WG. Sentinel lymph node (SLN) concept in cervical cancer: Current limitations and unanswered questions. *Gynecol Oncol*. 2019;152(1):202-7.
72. Manca G, Rubello D, Romanini A, Boni G, Chiacchio S, Tredici M, et al. Sentinel lymph node mapping in melanoma: the issue of false-negative findings. *Clin Nucl Med*. 2014;39(7):e346-354.
73. Charalampoudis P, Markopoulos C, Kovacs T. Controversies and recommendations regarding sentinel lymph node biopsy in primary breast cancer: A comprehensive review of current data. *Eur J Surg Oncol J Eur Soc Surg Oncol Br Assoc Surg Oncol*. 2018;44(1):5-14.
74. Bluemel C, Rubello D, Colletti PM, de Bree R, Herrmann K. Sentinel lymph node biopsy in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma: current status and unresolved challenges. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2015;42(9):1469-80.

75. Houpeau J-L, Chauvet M-P, Guillemin F, Bendavid-Athias C, Charitansky H, Kramar A, et al. Sentinel lymph node identification using superparamagnetic iron oxide particles versus radioisotope: The French Sentimag feasibility trial. *J Surg Oncol*. 2016;113(5):501-7.
76. Cserni G, Amendoeira I, Apostolikas N, Bellocq JP, Bianchi S, Bussolati G, et al. Pathological work-up of sentinel lymph nodes in breast cancer. Review of current data to be considered for the formulation of guidelines. *Eur J Cancer*. 2003;39(12):1654-67.
77. Balasubramanian SP, Brignall J, Lin HY, Stephenson TJ, Wadsley J, Harrison BJ, et al. Sentinel node biopsy in papillary thyroid cancer--what is the potential? *Langenbecks Arch Surg*. 2014;399(2):245-51.
78. Huang O, Wu W, Wang O, You J, Li Q, Huang D, et al. Sentinel lymph node biopsy is unsuitable for routine practice in younger female patients with unilateral low-risk papillary thyroid carcinoma. *BMC Cancer*. 2011;11:386.
79. Garcia-Burillo A, Roca Bielsa I, Gonzalez O, Zafon C, Sabate M, Castellvi J, et al. SPECT/CT sentinel lymph node identification in papillary thyroid cancer: lymphatic staging and surgical management improvement. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2013;40(11):1645-55.
80. Kelemen PR, Van Herle AJ, Giuliano AE. Sentinel lymphadenectomy in thyroid malignant neoplasms. *Arch Surg*. 1998;133(3):288-92.
81. Pelizzo MR, Toniato A, Sorgato N, Losi A, Torresan F, Merante Boschin I. ⁹⁹Tc nanocolloid sentinel node procedure in papillary thyroid carcinoma: our mono-institutional experience on a large series of patients. *Acta Otorhinolaryngol Ital*. 2009;29(6):321-5.
82. Chow T-L, Lim B-H, Kwok SP-Y. Sentinel lymph node dissection in papillary thyroid carcinoma. *ANZ J Surg*. 2004;74(1-2):10-2.
83. Cabrera RN, Chone CT, Zantut-Wittmann D, Matos P, Ferreira DM, Pereira PSG, et al. Value of sentinel lymph node biopsy in papillary thyroid cancer: initial results of a prospective trial. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngol*. 2015;272(4):971-9.

84. Ji YB, Lee KJ, Park YS, Hong SM, Paik SS, Tae K. Clinical efficacy of sentinel lymph node biopsy using methylene blue dye in clinically node-negative papillary thyroid carcinoma. *Ann Surg Oncol*. 2012;19(6):1868-73.
85. Roh JL, Park CI. Sentinel lymph node biopsy as guidance for central neck dissection in patients with papillary thyroid carcinoma. *Cancer*. 2008;113(7):1527-31.
86. Wong J, Yong WS, Thike AA, Iqbal J, Salahuddin AS, Ho GH, et al. False negative rate for intraoperative sentinel lymph node frozen section in patients with breast cancer: a retrospective analysis of patients in a single Asian institution. *J Clin Pathol*. 2015;68(7):536-40.
87. Miyashiro I, Hiratsuka M, Sasako M, Sano T, Mizusawa J, Nakamura K, et al. High false-negative proportion of intraoperative histological examination as a serious problem for clinical application of sentinel node biopsy for early gastric cancer: final results of the Japan Clinical Oncology Group multicenter trial JCOG0302. *Gastric Cancer*. 2014;17(2):316-23.
88. Slama J, Dundr P, Dusek L, Cibula D. High false negative rate of frozen section examination of sentinel lymph nodes in patients with cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2013;129(2):384-8.
89. Tsujimoto M, Nakabayashi K, Yoshidome K, Kaneko T, Iwase T, Akiyama F, et al. One-step nucleic acid amplification for intraoperative detection of lymph node metastasis in breast cancer patients. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2007;13(16):4807-16.
90. Tamaki Y, Akiyama F, Iwase T, Kaneko T, Tsuda H, Sato K, et al. Molecular detection of lymph node metastases in breast cancer patients: results of a multicenter trial using the one-step nucleic acid amplification assay. *Clin Cancer Res*. 2009;15(8):2879-84.
91. Güller U, Zettl A, Worni M, Langer I, Cabalzar-Wondberg D, Viehl CT, et al. Molecular investigation of lymph nodes in colon cancer patients using one-step nucleic acid amplification (OSNA): a new road to better staging? *Cancer*. 2012;118(24):6039-45.

92. Kumagai K, Yamamoto N, Miyashiro I, Tomita Y, Katai H, Kushima R, et al. Multicenter study evaluating the clinical performance of the OSNA assay for the molecular detection of lymph node metastases in gastric cancer patients. *Gastric Cancer*. 2014;17(2):273-80.
93. RD-100 i OSNA – the new generation of sentinel lymph node analysis in breast cancer. Disponible a: www.Sysmex-Europe.com.
94. Chu PG, Weiss LM. Keratin expression in human tissues and neoplasms. *Histopathology*. 2002;40(5):403-39.
95. Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res*. 2000;28(12):E63.
96. Notomi T, Mori Y, Tomita N, Kanda H. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): principle, features, and future prospects. *J Microbiol*. 2015;53(1):1-5.
97. El método Osna analiza el ganglio linfático en busca de metástasis - Sysmex España. [consultat el 28 de maig de 2020]. Disponible a: <https://www.sysmex.es/nuestros-productos/oncologia/osna-deteccion-molecular-de-metastasis-en-ganglios-linfaticos.html>
98. NHSBSP, Pathology reporting of breast disease in surgical excision specimens incorporating the dataset for histological reporting of breast cancer. [consultat el 17 de setembre de 2017]. Disponible a: <http://www.rcpath.org/resourceLibrary/g148-breastdataset-hires-jun16-pdf.html>
99. Piñero A, Giménez J, Merck B, Vázquez C. Consensus meeting on selective biopsy of the sentinel node in breast cancer. Spanish Society of Senology and Breast Disease. *Rev Esp Med Nucl*. 2007;26(3):176-80.
100. López-Ruiz ME, Diestro MD, Yébenes L, Berjón A, Díaz de la Noval B, Mendiola M, et al. One-step nucleic acid amplification (OSNA) for the detection of sentinel lymph node metastasis in endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2016;143(1):54-9.

101. Okamoto S, Niikura H, Nakabayashi K, Hiyama K, Matoda M, Takeshima N, et al. Detection of sentinel lymph node metastases in cervical cancer: assessment of KRT19 mRNA in the one-step nucleic acid amplification (OSNA) method. *Gynecol Oncol.* 2013;130(3):530-6.
102. Nakagawa K, Asamura H, Tsuta K, Nagai K, Yamada E, Ishii G, et al. The novel one-step nucleic acid amplification (OSNA) assay for the diagnosis of lymph node metastasis in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC): Results of a multicenter prospective study. *Lung Cancer.* 2016;97:1-7.
103. Kaczka K, Fendler W, Borowiec M, Młynarski W, Pomorski L. First one-step nucleic acid amplification testing in papillary thyroid cancer lymph nodes - a comparison with histopathology and real-time PCR. *Endokrynol Pol.* 2014;65(6):422-30.
104. Kaczka K, Fendler W, Borowiec M, Młynarski W, Paduszynska K, Grzegory A, et al. One-step nucleic acid amplification testing in medullary thyroid cancer lymph nodes: a case series. *Arch Med Sci.* 2015;11(1):137-41.
105. Kaczka KA, Pomorski L. One-step nucleic acid amplification analysis of sentinel lymph nodes in papillary thyroid cancer patients. *Arch Med Sci AMS.* 2017;13(6):1416-26.
106. Medas F, Coni P, Podda F, Salaris C, Cappellacci F, Faa G, et al. Evaluation of accuracy of one-step nucleic acid amplification (OSNA) in diagnosis of lymph node metastases of papillary thyroid carcinoma. Diagnostic study. *Ann Med Surg* 2019;46:17-22.
107. Zhou M, Wang X, Jiang L, Chen X, Bao X, Chen X. The diagnostic value of one step nucleic acid amplification (OSNA) in differentiating lymph node metastasis of tumors: A systematic review and meta-analysis. *Int J Surg.* 2018;56:49-56.
108. Winter A, Engels S, Goos P, Süykers M-C, Henke R-P, Gerullis H, et al. Detection of CK19 mRNA Using One-step Nucleic Acid Amplification (OSNA) in Prostate Cancer: Preliminary Results. *J Cancer.* 2018;9(24):4611-7.

109. Balasubramanian SP, Harrison BJ. Systematic review and meta-analysis of sentinel node biopsy in thyroid cancer. *Br J Surg*. 2011;98(3):334-44.
110. Maniakas A, Forest V-I, Jozaghi Y, Saliba J, Hier MP, Mlynarek A, et al. Tumor classification in well-differentiated thyroid carcinoma and sentinel lymph node biopsy outcomes: a direct correlation. *Thyroid*. 2014;24(4):671-4.
111. del Carmen S, Gatus S, Franch-Arcas G, Baena JA, Gonzalez O, Zafon C, et al. Concordance study between one-step nucleic acid amplification and morphologic techniques to detect lymph node metastasis in papillary carcinoma of the thyroid. *Hum Pathol*. 2016;48:132-41.
112. Wei WJ, Lu ZW, Wen D, Liao T, Li DS, Wang Y, et al. The Positive Lymph Node Number and Postoperative N-Staging Used to Estimate Survival in Patients with Differentiated Thyroid Cancer: Results from the Surveillance, Epidemiology, and End Results Dataset (1988-2008). *World J Surg*. 2018;42(6):1762-71.
113. Zheng C-M, Ji YB, Song CM, Ge M-H, Tae K. Number of Metastatic Lymph Nodes and Ratio of Metastatic Lymph Nodes to Total Number of Retrieved Lymph Nodes Are Risk Factors for Recurrence in Patients With Clinically Node Negative Papillary Thyroid Carcinoma. *Clin Exp Otorhinolaryngol*. 2018;11(1):58-64.
114. Park YM, Wang S-G, Lee J-C, Shin DH, Kim I-J, Son S-M, et al. Metastatic lymph node status in the central compartment of papillary thyroid carcinoma: A prognostic factor of locoregional recurrence. *Head Neck*. 2016;38 Suppl 1:E1172-1176.
115. Sun Y, Liu X, Ouyang W, Feng H, Wu J, Chen P, et al. Lymph node characteristics for predicting locoregional recurrence of papillary thyroid cancer in adolescents and young adults. *Oral Oncol*. 2017;66:22-7.

10. DOCUMENTACIÓ ANNEXA

10.1. DOCUMENT ANNEX A

L'annex A correspon a la següent publicació:

Títol: *"SPECT/CT sentinel lymph node identification in papillary thyroid cancer: lymphatic staging and surgical management improvement"*

Autors: Amparo Garcia-Burillo, Isabel Roca Biels, Oscar Gonzalez, Carles Zafon, Monica Sabat, Josep Castellvi, Xavier Serres, Carmela Iglesias, Ramon Vilallonga, Enric Caubet, Jose Manuel Fort, Jordi Mesa, Manuel Armengol, Joan Castell-Conesa

Dades de la publicació: *Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2013 Oct;40(11):1645-55.*

doi: 10.1007/s00259-013-2476-x.

DOCUMENT NO CONSULTABLE

10.2. DOCUMENT ANNEX B

L'annex B correspon a la següent publicació:

Títol: *"Concordance study between one-step nucleic acid amplification and morphologic techniques to detect lymph node metastasis in papillary carcinoma of the thyroid"*

Autors: Sofía del Carmen, Sonia Gatus, Guzmán Franch-Arcas, José Antonio Baena, Oscar Gonzalez, Carlos Zafon, Dolors Cueva, Joan Valls, Angustias Pérez, Mercedes Martinez, Susana Ros, Carmen García Macías, Carmela Iglesias, Xavier Matías-Guiu, Enrique de Álava

Dades de la publicació: *Hum Pathol. 2016 Feb;48:132-41.*

doi:10.1016/j.humpath.2015.09.020.

DOCUMENT NO CONSULTABLE

10.3. DOCUMENT ANNEX C

L'annex C correspon a la notícia apareguda a la pàgina web institucional de l'Hospital Vall d'Hebron amb data de 22 d'agost de 2016 i titulada «Vall d'Hebron, pioner al món a utilitzar la combinació de la tècnica del gangli sentinella i del sistema OSNA de diagnòstic molecular ràpid en el càncer de tiroides», accessible mitjançant l'enllaç <https://www.vallhebron.com/ca/noticies/vall-dhebron-pioner-al-mon-utilitzar-la-combinacio-de-la-tecnica-del-gangli-sentinella-i>.

Vall d'Hebron, pioner al món a utilitzar la combinació de la tècnica del gangli sentinella i del sistema OSNA de diagnòstic molecular ràpid en el càncer de tiroides

dilluns, 22 agost, 2016

- Un equip multidisciplinari ha realitzat els estudis sobre la utilització d'aquestes dues tècniques a l'hora de decidir extirpar els ganglis limfàtics del pacient.
- El carcinoma papil·lar tiroïdal, el més habitual dels que afecten la glàndula tiroïdal, freqüentment provoca metàstasi als ganglis limfàtics.
- La utilització del gangli sentinella permet personalitzar la intervenció i decidir si cal extreure els ganglis limfàtics.



Un equip multidisciplinari de l'Hospital Universitari Vall d'Hebron ha liderat els estudis per posar en marxa, per primer cop al món, la combinació de la tècnica del **gangli sentinella** i del **sistema OSNA** de diagnòstic molecular ràpid (One Step Nucleic Acid Amplification, de l'empresa Sysmex) aplicada al càncer de tiroides. Hi han participat els serveis d'Endocrinologia, d'Anatomia Patològica, Medicina Nuclear, Radiologia i la Unitat de Cirurgia Endocrina, Metabòlica i Bariàtrica. També hi han tingut una participació destacada el Servei d'Anestesiologia i el personal d'infermeria. Un fet que ha destacat el cap del Servei d'Endocrinologia, el Dr. Jordi Mesa, que ha explicat que *"ha calgut crear un equip format per diferents especialitats, ja que aquest tractament exigeix una gran tasca de coordinació"*. L'estudi del gangli sentinella amb aquesta tècnica molecular s'utilitza al Servei d'Anatomia Patològica des de fa diversos anys a carcinomes de mama i, recentment, també a carcinomes de cervix, segons comenta el cap del servei, el Dr. Santiago Ramon y Cajal.

La tècnica del gangli sentinella combinada amb el sistema de diagnòstic molecular ràpid és, segons el Dr. Carles Zafón, adjunt del Servei d'Endocrinologia, *"un sistema quantitatiu que permet personalitzar la intervenció i decidir si cal extreure el gangli"*. El principi d'actuació és el mateix que el que s'aplica al **càncer de mama** i el **melanoma** per decidir si cal extirpar els ganglis limfàtics de l'aixel·la (**limfadectomia**). Gràcies als estudis realitzats, ha quedat demostrat que es pot utilitzar per determinar si el càncer detectat a la glàndula tiroide ha afectat als ganglis del coll i cal extreure'ls. A més, es tracta d'una tècnica més acurada que l'ecografia per detectar si hi ha metàstasi.

El gangli sentinella al càncer de tiroides

Els ganglis limfàtics del coll són els primers a rebre el drenatge del tumor situat a la glàndula tiroide. En el cas del **carcinoma papil·lar tiroïdal**, que representa més del 80% d'aquests tipus de càncers, en un percentatge molt als dels casos causa metàstasi no detectable als ganglis limfàtics. A l'hora de decidir el tractament, la tècnica utilitzada habitualment fa una valoració del risc, en funció de les seves dimensions i agressivitat. Per contra, la utilització del gangli sentinella permet *"fer una medicina més personalitzada i ser menys agressius en els casos que no cal ser-ho"*, explica el Dr. Mesa. En aquest sentit, el Dr. Oscar González, metge adjunt de la Unitat de Cirurgia Endocrina del Servei de Cirurgia General i un dels investigadors implicats, assegura que *"la biòpsia selectiva del gangli sentinella és la tècnica que, actualment, millor estadia l'afectació ganglionar del carcinoma papil·lar tiroïdal. Comença a aportar evidència científica a un terreny on només hi havia opinions"*.

El treball de l'equip de Vall d'Hebron ha estudiat 49 pacients en una prova pilot per analitzar el grau de precisió d'aquesta combinació de tècniques. En aquests casos, el dia anterior a la intervenció, l'ecografista localitza el tumor i hi injecta un isòtop radioactiu. Un cop al quiròfan, un detector de rajos gamma permet identificar i localitzar els ganglis limfàtics als quals drena el tumor i que el cirurgià pot extreure per la seva anàlisi. Després, en només 30', el Servei d'Anatomia Patològica, utilitzant el sistema OSNA, que es basa en l'amplificació de l'RNA missatger de proteïnes exclusives del tumor, confirma el diagnòstic. La Dra. Carmela Iglesias, metgessa adjunta d'aquest servei, i que també ha participat en la recerca sobre el gangli sentinella, ha destacat que *"la implementació de tècniques moleculars permet obtenir en el mateix acte quirúrgic un resultat definitiu, ràpid i precís sobre la presència de metàstasi al gangli, amb un marge d'error en el resultat inferior a l'obtingut amb les tècniques d'anàlisi anatomopatològiques clàssiques"*. A la vegada, la conjunció del gangli sentinella i el sistema OSNA permet *"adaptar l'actuació quirúrgica al que realment necessita el pacient"*.

Tot plegat, sense allargar la intervenció i de forma més fiable i reduint, en els casos que no es detecta metàstasi, els problemes derivats de l'extracció dels ganglis limfàtics, com ara l'hipoparatiroidisme, o de la mateixa intervenció, com l'afectació a nervis del coll que controlen la fonació.

En aquest sentit, els dies 1 i 2 de juny es va celebrar a l'Hospital el *Workshop avançat sobre càncer de tiroides: Gangli sentinella, Neuromonitorització i Ecografia cervical i Laringia*, que ha servit per analitzar els detalls d'aquesta tècnica i el treball multidisciplinari necessari per dur-la a terme.

10.4. DOCUMENT ANNEX D

L'annex D correspon al següent document:

Títol: «*Estudi exploratori de l'impacte de la recerca a l'Hospital Universitari Vall d'Hebron. Monogràfic del SARIS núm. 5. Sèrie sobre Recerca que Transforma*»

Autors: Solans-Domènech M, Gavalrà N, Permanyer-Miralda G, Radó N, Vizcaíno E, Adam P.

Dades de la publicació: Barcelona: Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya. Departament de Salut. Generalitat de Catalunya; 2019.



MONOGRÀFIC
SARIS núm. 5

SÈRIE SOBRE
RECERCA QUE
TRANSFORMA

Estudi exploratori de l'impacte de la recerca a l'Hospital Universitari Vall d'Hebron





AUTORS

Solans-Domènech M¹,
Gavaldà N²,
Permanyer-Miralda G³,
Radó-Trilla N¹,
Vizcaíno E¹,
Adam P¹


¹Agència de Qualitat i
Avaluació Sanitàries de
Catalunya (AQuAS)

²Vall d'Hebron Research
Institute (VHIR)

³Hospital Universitari
Vall d'Hebron

AGRAÏMENTS

S'agraeix la col·laboració
de tots els caps de grup
i investigadors que han
dedicat un temps per
facilitar tota la informació
necessària per poder fer
els estudis de casos. També
es vol agrair al personal del
VHIR, per la seva contribució
i participació en aquest
estudi exploratori.



Els monogràfics del SARIS estan destinats a actors, planificadors i decisors del sistema de recerca. Presenten anàlisis de temes d'actualitat al voltant de la recerca biomèdica per tal d'entendre com funciona el procés de recerca en salut i el seu ús a la societat.

ÍNDEX

Presentació	5
Resum executiu	6
Els hospitals que fan recerca tenen millors resultats?	7
Estudi exploratori de casos a l' Hospital del Vall d'Hebron	8
Quins factors comuns faciliten l'impacte de la recerca?	8
Quines implicacions pot tenir la recerca per l'hospital?	10
De la recerca a l'assistència sanitària: els casos de l'Hospital Universitari Vall d'Hebron	10
MILLORES EN LA PREVENCIÓ	10
– Recerca sobre els factors de risc de trastorns del neuropsicodesenvolupament faciliten un abordament del fracàs escolar a les escoles públiques de Catalunya	10
– Nou protocol per a l'administració preventiva i individualitzada d'antibiòtics en cirurgia instrumentada de columna	11
– Nou protocol en la majoria de centres catalans i nova recomanació per reduir parts prematurs	11
– Implementació d'un sistema de vigilància de la grip estacional i altres virus respiratoris sincítics	12
MILLORES EN EL DIAGNÒSTIC	12
– Nova eina diagnòstica de l'endocarditis infecciosa en pròtesis valvulars o en dispositius intracardíacs combinant tomografia per emissió de positrons (PET) i tomografia radiològica (TC i TCA)	12
– Introducció al catàleg de l'ICS d'una metodologia per dissenyar el tractament més adequat per l'hepatitis C	13
– Nova tècnica que facilita el diagnòstic precoç de miopaties inflamatòries en entorns menys tecnificats	13
– Nou protocol pel tractament amb hormona de creixement en funció de la prova d'estimulació de l'hormona de creixement	14
– Augment del rendiment diagnòstic mitjançant la tècnica d'array-CGH en pacients amb discapacitat intel·lectual, síndromes malformatives i trastorns de l'espectre autista (TEA)	14
– Millora de les eines diagnòstiques moleculars en el càncer d'endometri	15
– Nova tècnica permet un diagnòstic molecular ràpid i personalitzat en el càncer papil·lar de glàndula tiroide	15

MILLORES EN EL TRACTAMENT	16
– Millora de l'alimentació durant l'estada hospitalària a pacients ingressats a la planta d'oncologia i hematologia pediàtrica	16
– Nou protocol pel maneig perioperatori dels pacients tractats amb fàrmacs antitrombòtics	16
– Canvi en el tipus de cirurgia en pacients de càncer de recte de més de 75 anys	16
– Cirurgia assistida per ordinador a les operacions maxil·lofacials	17
– App per acompanyar els exercicis de telerehabilitació de l'íctus	18
– Nou possible tractament de la distensió abdominal amb biofeedback	18
Conclusions i recomanacions	19
Consideracions metodològiques	19
Bibliografia	20
Annex. Evidència científica dels estudis de casos	22

I PRESENTACIÓ

Històricament els científics ens hem acostumat a treballar per generar coneixement i per demostrar-ne els avenços. Les revistes científiques, els òrgans finançadors i la mateixa societat ens ha avaluat sempre amb aquesta òptica. Quant coneixement generem i el grau d'excel·lència. Tanmateix, en el present i el futur que ens espera vivim un canvi que no podem ignorar, i que ha estat fortament promogut per les polítiques científiques europees: cada vegada més la ciència serà avaluada per la seva capacitat de transformar i de contribuir a millorar la societat en què vivim. Per tant, cal que ens anem preparant, malgrat que és públic i conegut que la metodologia per avaluar l'impacte o la rellevància de la recerca és encara un repte obert.

La capacitat de mesurar o demostrar l'impacte de la recerca pot ser un repte fenomenal en alguns àmbits científics tradicionalment més tancats. Però en teoria ha de ser menys difícil en un entorn hospitalari que tracta diàriament amb pacients. Tanmateix, demostrar, explicar i fomentar l'impacte de la recerca és quelcom que no ve donat, sinó que s'aprèn.

És per això que com a director del Vall d'Hebron Institut de Recerca he volgut convidar l'Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya (AQuAS) a dur a terme un estudi exploratori que faci aflorar casos de recerca que han tingut impacte en el mateix Hospital Universitari Vall d'Hebron.

Joan Xavier Comella

Director

Vall d'Hebron Institut de Recerca

L'Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya (AQuAS) té un compromís històric amb el foment de l'impacte de la recerca en salut que es duu a terme en la nostra societat. Des dels seus inicis és i ha estat un dels seus pilars i raons de ser. És per això que ha buscat un posicionament internacional a través de la cofundació de la International School on Research Impact Assessment, per tal d'aprofundir en l'aprenentatge mutu amb experiències internacionals que permetessin una millor capacitació i posicionament en l'àmbit català de les nostres institucions que duen a terme recerca en salut. Aquest posicionament és, en el dia d'avui, una necessitat cada vegada més gran si volem ser competitius en captació de fons i pioners en trobar noves maneres de fer ciència que siguin més transformadores i més orientades a contribuir a una societat millor. L'Institut de Recerca de la Vall d'Hebron és, sense cap dubte, un dels centres de recerca en salut més madurs i preparats per afrontar el canvi cultural que suposa ser avaluats i jutjats per la contribució a la rellevància social, a més de l'excel·lència, a la qual no s'ha de renunciar mai.

És per això que des de l'AQuAS celebrem la voluntat del VHIR per formar part d'aquest estudi exploratori que ha d'ajudar a madurar el procés de canvi encetat en tots els països europeus referents per a nosaltres.

César Velasco

Director

Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya (AQuAS)

RESUM EXECUTIU

Les polítiques científiques europees i dels països del nostre entorn donen cada vegada més importància a l'impacte demostrable de la recerca que es duu a terme. Cal, doncs, que les organitzacions i els hospitals es vagin preparant per al canvi cultural que això suposa. En aquest document s'aborda de manera exploratòria la capacitat que té la recerca que es fa a l'Hospital Universitari Vall d'Hebron (HUVH) de transcendir en millores assistencials i sanitàries. Es presenta un estudi exploratori on s'han recollit disset casos identificats com a bons exemples de recerca duta a terme en les dependències de l'HUVH que han portat a millores en la prevenció, en el diagnòstic i en el tractament de malalties. També s'identifiquen, de manera exploratòria, una sèrie de factors facilitadors de l'èxit en els resultats assistencials deguts a la recerca duta a terme i les possibles implicacions per a l'hospital. L'estudi exploratori ha posat llum (de manera no exhaustiva) sobre casos significatius i descriu alguns factors en comú entre ells. D'altra banda, també es descriuen algunes noves accions i direccions que es poden dur a terme per reforçar les capacitats, l'estratègia i el lideratge en aquest aspecte.

Els missatges clau del document són:

- Les polítiques científiques europees i dels països del nostre entorn donen cada vegada més importància a l'impacte demostrable de la recerca que es duu a terme.
- Malgrat que estudis internacionals demostren que els hospitals que fan recerca tenen millors resultats assistencials, cal ser capaços de demostrar aquesta contribució i millorar-ne l'organització, les capacitats i l'orientació estratègica cap a l'impacte.
- S'ha fet una prova exploratòria per escoltar les experiències dels investigadors de l'Hospital Universitari Vall d'Hebron. En tractar-se d'una prova exploratòria, és possible que hi hagi casos interessants que han quedat fora de l'estudi.
- En molts casos no es pot parlar d'atribució directa, però sí de contribució de la recerca en la pràctica assistencial.
- En general, els casos estudiats suggereixen que quan més 'obert' és l'estudi a enfocaments pràctics, necessitats dels usuaris, a altres equips o altres disciplines, més fàcil és que l'estudi hagi tingut una contribució en la pràctica assistencial.
- Per tal de millorar l'orientació a l'impacte de la recerca que es fa a l'hospital, es poden seguir diverses estratègies en els terrenys formatiu i estratègic.
- L'HUVH compleix les condicions òptimes per ser motor de canvi cap a un sistema de recerca transformador.

ELS HOSPITALS QUE FAN RECERCA TENEN MILLORS RESULTATS?

Aquesta és una pregunta que no disposa d'evidència científica que hi pugui donar resposta en el nostre entorn (català o espanyol). Una raó per la manca d'evidència és la **dificultat metodològica** inherent a la pregunta. Entre d'altres, un repte metodològic important és com tractar la causalitat. Es poden **atribuir** algunes millores assistencials a la recerca duta a terme? Com aïllar els altres factors determinants? Al Regne Unit s'han fet estudis¹ amb rigor científic que demostren que la implicació de professionals clínics o organitzacions sanitàries en recerca millora els resultats sanitaris del National Health Service (NHS). Altres estudis britànics s'apliquen a l'Academic Health Science Networks (AHSN)², NIHR Collaborations for Leadership in Applied Health Research and Care (CLAHRCs)³ i l'avaluació dels deu anys del NIHR (National Institute of Health Research)⁴, on es conclou que el desenvolupament de la recerca del NIHR en el nucli del NHS portava a tractaments més segurs, menys invasius i més centrats en la qualitat de vida dels pacients, els quals podien arribar a una àmplia gamma de pacients (des de càncer fins a malalties rares).

El que demostren els estudis britànics és que una **més bona coordinació de la participació en la**

Malgrat no haver-hi evidència en el cas català, estudis britànics demostren una millora en els resultats clínics i sanitaris en els hospitals on es fa recerca ben coordinada

recerca pot millorar l'eficàcia de la pròpia recerca, incloent-hi el desenvolupament de xarxes d'investigació o noves col·laboracions entre sistemes d'investigació i sistemes de prestació de serveis sanitaris. A més a més, participar en la recerca ha estat conceptualitzat com una manera d'incrementar la capacitat i la disposició de diferents decisors a utilitzar la recerca. Això és el que s'anomena **'capacitat d'absorció'**, i que explica com pel fet que una organització realitzi recerca pot ajudar que aquesta organització desenvolupi i mantingui unes majors capacitats per assimilar i explotar resultats de la recerca (tant interns com externs).

La 'capacitat d'absorció' consisteix en el fet que els professionals tenen una actitud més orientada a millorar els resultats assistencials pel simple fet de posar-se preguntes de recerca

ESTUDI EXPLORATORI DE CASOS A L'HOSPITAL UNIVERSITARI VALL D'HEBRON

El present monogràfic avalua de manera exploratòria l'impacte de la recerca realitzada a les dependències de l'HUVH sobre l'assistència sanitària. S'han seleccionat de manera no exhaustiva disset 'casos d'èxit' de recerca que hagin implicat algun canvi de procés en la pràctica assistencial. En tractar-se d'una prova pilot, és possible que hagin quedat casos molt interessants fora del grup seleccionat. La manera com s'ha recollit la informació i les experiències és a través d'entrevistes a investigadors que han explicat l'aplicació en el mateix hospital on han dut a terme la recerca.

S'ha fet una prova exploratòria per escoltar les experiències dels investigadors

Demostrar una associació directa entre recerca i pràctica assistencial és complexa, ja que hi ha molts factors que poden haver intervingut en la seva apli-

No es pot parlar d'atribució directa, però sí de contribució de la recerca en la pràctica assistencial

ció. En aquesta avaluació no s'aborda la qüestió de la causalitat i, per tant, si bé no es podrà atribuir la totalitat del canvi a la recerca descrita, sí que es pot afirmar la seva contribució a aquest canvi. Això permet identificar factors facilitadors que han promogut l'adopció dels resultats de recerca a la pràctica assistencial, i identificar possibles implicacions per a l'hospital que poden ser avaluades.

En tractar-se d'una prova exploratòria, és possible que hi hagi casos interessants que han quedat fora de l'estudi.

QUINS FACTORS COMUNS FACILITEN L'IMPACTE DE LA RECERCA?

Perquè la recerca es vinculi més als problemes actuals (envelliment, autosuficiència, participació del pacient...) es requereix una implicació entre els proveïdors de salut, els centres de recerca, les autoritats locals i les organitzacions de pacients. La implicació és necessària per formular preguntes de recerca que

siguin rellevants per a la pràctica, per arribar a les poblacions necessàries per tal de respondre aquestes preguntes, i per assegurar que els coneixements adquirits s'apliquin a la pràctica i fins i tot per trobar les respostes als problemes de salut de manera conjunta.

Els casos seleccionats en aquest estudi exploratori presenten alguns factors comuns que podrien ajudar a la translació de la recerca a la pràctica:

PROJECTES AMB UN CLAR ENFOCAMENT PRÀCTIC (RESOLUCIÓ DE PROBLEMES)

Sovint són projectes enfocats a la translació a la pràctica clínica, on el seu principal interès en fer la recerca és augmentar el coneixement sobre el qual es basa l'actuació assistencial diària.

LA PARTICIPACIÓ EN EL GRUP DE RECERCA DE POSSIBLES 'USUARIS' DELS RESULTATS

Un factor d'èxit és la confecció d'equips investigadors que incloguin futurs 'usuaris' de les troballes científiques, professionals relacionats amb l'aplicació, com són els mateixos investigadors o part de l'equip (assistencial-investigador).

EQUIPS MULTIDISCIPLINARIS

Equips amb varietat de disciplines de dins de l'hospital, en la majoria de casos.

ESTUDIS COL-LABORATIUS

La majoria dels estudis no són solament locals, sinó que s'han fet amb la col·laboració d'altres centres

(estatals o internacionals); segurament, però, el fet de realitzar l'estudi a l'hospital en facilita l'aplicació

IMPLICACIÓ PER PART DE DECISORS DEL SISTEMA ASSISTENCIAL.

Tot i que no queden explícitament descrits, s'intueix que l'èxit de l'aplicació de la recerca també és gràcies a la intervenció d'altres actors institucionals necessaris per prendre una sèrie de decisions, com, per exemple, per aplicar un protocol a l'hospital, perquè una prova formi part del catàleg de l'ICS (Institut Català de la Salut), per introduir un *checklist* al SAP... Aquest facilitador, però, també ha estat interpretat per alguns dels investigadors de manera oposada, per la seva absència. És a dir, la no col·laboració o manca d'implicació dels decisors del sistema assistencial pot ser una **barrera** que impliqui que els resultats d'una recerca no arribin a la seva aplicació.

Aquests factors coincideixen amb els que s'han trobat en estudis realitzats al Regne Unit⁵. El Regne Unit és, sense cap dubte, el país on s'ha generat més evidència i s'han explorat amb més rigor els factors que contribueixen a afavorir o millorar l'impacte de

la recerca en la salut. L'evidència conclou que per assolir més impacte cal la implicació (*engagement*) les 'parts interessades' en la priorització, l'execució i l'avaluació de la recerca.

En general, els casos estudiats suggereixen que com més 'obert' és l'estudi a enfocaments pràctics, necessitats dels usuaris, a altres equips o altres disciplines, més fàcil és que l'estudi hagi tingut una contribució en la pràctica assistencial

QUINES IMPLICACIONS POT TENIR LA RECERCA PER A L'HOSPITAL?

El primer que cal destacar és que tot i que la majoria de la recerca és intramural, també hi ha casos de recerca extramural, és a dir, amb aplicació dels resultats en l'àmbit comunitari. Tot i que no s'ha pogut fer cap avaluació de quin és el resultat final d'aquests casos, en la majoria s'estimen uns beneficis, més llunyans, conseqüència de l'aplicació en la pràctica diària dels resultats i que podrien portar d'una manera genèrica a:

- Més diagnòstics veritables positius
- Menys exploracions innecessàries
- Menys intervencions innecessàries
- Menys complicacions
- Menys ingressos injustificats
- Menys estades injustificades
- Menys despesa innecessària

DE LA RECERCA A L'ASSISTÈNCIA SANITÀRIA: ELS CASOS DE VALL D'HEBRON

A continuació s'esmenten disset casos on, gràcies a la recerca feta a l'HUVH, s'han pogut fer canvis en la pràctica assistencial, que es classifiquen segons si es tracta de millores en la prevenció en la diagnosi o en el tractament dels pacients.

LLEGENDA

- El cas s'ha aplicat a l'HUVH.
- El cas s'ha aplicat en altres llocs o està en procés de ser aplicat.
- ⊗ El cas ha ajudat a identificar barreres.

MILLORES EN LA PREVENCIÓ

✉ mcasas@vhebron.net



Miquel Casas



Recerca sobre els factors de risc de trastorns del neuropsicodesenvolupament faciliten un abordament del fracàs escolar a les escoles públiques de Catalunya

Grup de recerca en Psiquiatria, Addiccions i Salut Mental

Gràcies a l'experiència i la recerca prèvia del grup de recerca en estudis sobre TDAH, drogodependències i trastorns de la personalitat, s'han pogut formular les hipòtesis necessàries per determinar els factors de risc de trastorns del neuropsicodesenvolupament, com ara les causes del fracàs escolar i el baix rendiment o la conducció de risc. Això ha portat al fet que, per exemple, en el

cas del fracàs escolar es treballi conjuntament amb els Departaments d'Ensenyament i de Salut de la Generalitat per fer **un nou abordament del fracàs escolar a les escoles públiques de Catalunya**. Aquesta recerca s'ha portat tant dintre de les instal·lacions de l'hospital (intramural) com fora (extramural) i, per tant, dona un valor i un apropament comunitari a l'hospital.

✉ ferran.pellise@vhir.org



Ferran Pellisé



Nou protocol per a l'administració preventiva i individualitzada d'antibiòtics en cirurgia instrumentada de columna

Grup de Recerca de la Columna Vertebral

La recerca feta des del 2009 per un equip multidisciplinari de les unitats de columna vertebral i de malalties infeccioses va permetre la **implementació d'un protocol en pacients pendents de cirurgia** instrumentada de columna i en situació de risc, en el qual es detecten preoperatòriament infeccions del tracte urinari i, d'acord amb els resultats del cultiu d'orina, s'ajusta la profilaxi amb antibiòtics. Això permet reduir significativament la infecció de l'empelt vertebral. Tot i que no s'ha fet cap estudi de cost-benefici, tractar una infecció d'aquestes

característiques s'estima extremadament costosa per a l'hospital (des dels antibiòtics fins a una nova cirurgia per extreure l'implant, o estades hospitalàries). Actualment, l'hospital està planejant introduir un *checklist* al sistema SAP. Molts hospitals actualment fan servir protocols similars, per exemple l'Hospital de Getafe o l'Hospital Jiménez Díaz i, avui dia, els cirurgians són conscients que s'han de vigilar les infeccions del tracte urogenital, específicament en dones adultes (>50 anys).

✉ ecarreras@vhebron.net



Elena Carreras



Nou protocol en la majoria de centres catalans i nova recomanació per reduir parts prematurs

Grup de recerca en Medicina Materna i Fetal

En col·laboració amb cinc hospitals espanyols (Hospital Materno-Infantil de Les Palmes de Gran Canària, Hospital de Fuenlabrada, Hospital Sant Joan de Reus, Hospital Son Llàtzer i l'Institut Universitari Dexeus), la recerca feta al Vall d'Hebron ha demostrat una **reducció significativa del part prematur** (des de quasi un 30% entre les dones sense pessari fins a només un 6% de reducció entre les que sí que el portaven) abans de la setmana 34 de gestació. Per aquest motiu, s'ha implementat un protocol a l'hospital, en el qual s'incorpora el pessari cervical com a eina de prevenció del part prematur en un grup de risc, com són les gestants (úniques i bessons) amb cèrvix curt asimptomàtiques, és a dir, amb alt risc de part prematur. El pessari cervical és un mètode escassament invasiu, no

dependent de professional i de fàcil maneig. La seva col·locació i extracció és relativament senzilla, pot realitzar-se en la consulta sense requeriment d'anestèsia i està ben tolerat per la pacient. El pessari amb prou feines presenta efectes adversos, són poques les pacients que refereixen descomfort vaginal i augment del flux. La conseqüència d'aquesta aplicació és una reducció en la taxa de part prematur i en la morbiditat dels nounats. Aquesta recomanació també s'ha implementat en els protocols de la Societat Catalana d'Obstetrícia i Ginecologia i en el de la Societat Espanyola d'Obstetrícia i Ginecologia. S'ha implementat en la major part dels centres catalans i a un percentatge elevat de centres espanyols.

✉ tpumarola@vhebron.net



Tomas Pumarola



Implementació d'un sistema de vigilància de la grip estacional i altres virus respiratoris sincítics

Grup de recerca en Microbiologia

La recerca feta (juntament amb l'Hospital Sant Joan de Déu) ha permès crear un sistema de vigilància en l'HUVH que permet determinar els mecanismes patogènics de la malaltia greu produïda pels virus respiratoris, i **desenvolupar un model de vigilància de la grip estacional**, del virus respiratori sincític i altres virus respiratoris. Gràcies a un indicador hospitalari (diagnòstics microbiològics dels virus respiratoris a les visites ateses dia a dia), el grup

de recerca pot determinar amb molta sensibilitat l'inici i final dels brots epidèmics causats per aquests virus. Això permet, per tant, que l'hospital tingui, amb més d'una setmana d'antelació, la predicció d'inici d'epidèmia i, per tant, el temps necessari per buscar una estratègia d'atenció que minori l'impacte assistencial sobre el Servei d'Urgències i l'hospitalització de pacients.

MILLORES EN EL DIAGNÒSTIC

✉ nuria.fernandez@vhir.org



Nuria Fernández



Nova eina diagnòstica de l'endocarditis infecciosa en pròtesis valvulars o en dispositius intracardíacs combinant tomografia per emissió de positrons (PET) i tomografia radiològica (TC i TCA)

Grup de Recerca d'Imatge Mèdica Molecular

Gràcies a la recerca feta per un equip multidisciplinari (unitats de cardiologia, radiologia, malalties infeccioses, medicina nuclear, microbiologia, cirurgia cardíaca i neurologia) es va introduir a l'hospital, de manera rutinària, l'**ús de la tomografia per emissió de positrons utilitzant fluorodeoxiglucosa combinada amb tomografia radiològica** per a tots els pacients sota sospita d'endocarditis infecciosa en pròtesis valvulars o en dispositius in-

tracardíacs. Els investigadors estan, actualment, avaluant l'impacte d'aquesta aplicació en la pràctica hospitalària, la qual pot influir en diagnòstics més ràpids. A més, aquesta tècnica pot ajudar substancialment a resoldre un problema diagnòstic molt difícil i que representa un greu dilema per al malalt: o risc de lesions amb molt mal pronòstic, o tractament llarg, complex i costós, però innecessari.

✉ resteban@vhebron.net



Rafael Esteban



Introducció al catàleg de l'ICS d'una metodologia per dissenyar el tractament més adequat per l'hepatitis C

Grup de recerca en Malalties Hepàtiques

Amb la recerca s'ha pogut desenvolupar una metodologia d'alta resolució basada en seqüenciació massiva en paral·lel, que permet la classificació del virus de l'hepatitis C que infecta cada pacient (dins dels 67 subtipus aprovats) i que permet, per tant, dissenyar el tractament més adient per a cada pacient. Un error en el subtipat pot resultar en un tractament subòptim, tant en la combinació d'antivirals com en la durada del tractament, la qual cosa pot conduir al fracàs terapèutic. Aquest fracàs sol anar acompanyat de l'aparició de mutacions de resistència, que di-

ficulden futurs tractaments. La Comissió de Diagnòstic In Vitro de l'HUVH va recomanar en el seu moment la inclusió d'aquesta prova al catàleg assistencial i ara ja forma part del catàleg ICS. Aquesta metodologia **se centralitza a l'HUVH per donar servei a tot el sistema de salut català**. A més, s'ha format gent de l'Hospital Virgen de Valme de Sevilla on també es dona servei i s'està treballant en un projecte que permeti crear punts estratègics a tot el territori espanyol per donar servei a Espanya.

✉ aselva@vhebron.net



Albert Selva



Nova tècnica que facilita el diagnòstic precoç de miopaties inflamatòries en entorns menys tecnificats

Grup de recerca en Malalties Sistèmiques

Les miopaties inflamatòries són un grup heterogeni de malalties rares que tenen en comú la presència de debilitat muscular. La biòpsia del múscul mostra l'existència d'un infiltrat inflamatori que és característic d'aquestes malalties. La miopatia necrosant immunomediada, una nova forma de miositis que cursa amb necrosi i trastorns de la immunitat, s'ha relacionat amb el tractament amb estatines. El diagnòstic i pronòstic d'aquestes malalties és complex. El grup de recerca, en col·laboració amb el departament d'immunologia, ha descrit un nou patró

d'immunofluorescència sobre triple teixit de rata (tècnica utilitzada en el cribratge d'autoimmunitat en la majoria de laboratoris), que correspon a l'anticòs anti-HMGCR, **la qual cosa facilita el diagnòstic precoç en entorns menys tecnificats**. Aquest fet comporta millores per al pacient, ja que permet iniciar el tractament a l'espera de la confirmació definitiva mitjançant tècniques més sofisticades com ara el blot o la immunoprecipitació. En aquesta recerca també han participat l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau i l'Hospital Clínic de Barcelona.



Nou protocol per al tractament amb hormona de creixement en funció de la prova d'estimulació de l'hormona de creixement

Grup de recerca en Creixement i Desenvolupament

Gràcies a la recerca feta en col·laboració amb altres hospitals catalans i espanyols i proposada a partir del Consell per al Tractament amb Hormona de Creixement, s'ha conclòs que els estímuls secretors d'hormona de creixement (utilitzats a la pràctica clínica per decidir un tractament amb hormona de creixement) no són un factor decisiu i no cal realitzar-los. Això va comportar, el 2011, l'**abolició de la valoració clínica de la secreció fisiològica de l'hormona del creixement** per decidir si un nen amb retard de creixement i talla baixa idiopàtica s'havia de

tractar o no amb hormona del creixement. Actualment, hi ha implementada la prova d'estimulació de l'hormona de creixement. L'impacte d'aquest canvi no s'ha avaluat però té un conseqüent benefici per als pacients (pot provocar efectes secundaris com hipoglucèmia insulínica o hipotensió). A més, aquesta prova es realitzava en hospitalització de dia i implicava una alta despesa econòmica (hospitalització i determinacions bioquímico-hormonals al laboratori). Aquest protocol s'està aplicant en altres hospitals pediàtrics de Catalunya, Espanya i l'estranger.



Augment del rendiment diagnòstic mitjançant la tècnica d'array-CGH en pacients amb discapacitat intel·lectual, síndromes malformatives i trastorns de l'espectre autista (TEA)

Grup de recerca en Medicina Genètica

El cariotip ha estat considerat tradicionalment el mètode per al diagnòstic d'anomalies genètiques, com ara la discapacitat intel·lectual i/o retard de desenvolupament (amb una incidència del 3%) o el trastorn de l'espectre autista (amb una incidència del 0,7%). El grup de recerca ha aconseguit mitjançant l'ús dels array-CGH (hibridació genòmica comparada) la detecció d'anomalies patogèniques en un 18,9% dels pacients amb discapacitat intel·lectual, 13,7% amb malformacions congènites, 9,76% amb patologies psiquiàtriques, 7,02% amb epilèpsia i 13,3% amb talla baixa (enfrent del 3% de diagnòstics

que aconsegueix l'estudi cromosòmic). La recerca ha determinat la substitució de les tècniques de cariotip i MLPA (amplificació de sondes per múltiple dependent del lligand d'ADN) en pacients postnatsals (2012-) i prenatsals (2016-), **reduint el nombre de proves diagnòstiques i multiplicant entre dos i sis el rendiment diagnòstic en funció del context**. Els pacients estudiats es deriven des de diversos grups de l'HUVH (medicina clínica i molecular, neurologia pediàtrica, endocrinologia pediàtrica, diagnòstic prenatal, medicina fetal, etc.) i d'altres hospitals (Hospital Arnau de Vilanova).



Millora de les eines diagnòstiques moleculars en el càncer d'endometri

Grup de Recerca Biomèdica en Ginecologia

La recerca feta per l'equip multidisciplinari format per la Unitat de Recerca Biomèdica en Ginecologia del VHIR, la Unitat d'Oncologia Ginecològica i el Servei de Ginecologia de l'HUVH ha impulsat la **implementació d'eines moleculars per al diagnòstic del càncer d'endometri per tal de millorar l'actual procés diagnòstic**, el qual es basava principalment en paràmetres clínics i histològics. En concret, actualment s'aplica una signatura de cinc gens, que són la base que formen el *kit* diagnòstic GynEC-DX (R), comercialitzat actualment per Reig Jofre SL. Aquest *kit* incrementa el poder diagnòstic de l'aspirat

uterí, ja que complementa l'examen patològic que ja es feia habitualment, amb el nou diagnòstic molecular. La combinació d'aquests resultats redueix el nombre de proves diagnòstiques més invasives (histeroscòpies), que s'han de realitzar quan l'examen patològic no ha estat conclouent. La implementació d'aquest *kit* no s'ha acabat fent en les dependències de l'HUVH, ja que el seu cost-benefici va ser molt discutit. En canvi, sí que s'està utilitzant en altres hospitals de l'Estat com en l'Hospital 12 de Octubre (Madrid).



Nova tècnica permet un diagnòstic molecular ràpid i personalitzat en el càncer papil·lar de glàndula tiroide

Grup de recerca en Patologia Molecular Translacional

Un equip multidisciplinari (serveis d'Endocrinologia, d'Anatomia Patològica, Medicina Nuclear, Radiologia, Unitat de Cirurgia Endocrina, Metabòlica i Bariàtrica, i d'Anestesiologia i personal d'infermeria) ha liderat un estudi sobre el grau de precisió de la combinació de la tècnica del gangli sentinella amb el sistema OSNA per tal de fer el **diagnòstic molecular ràpid personalitzat** que permet decidir sobre l'extirpació o no dels ganglis limfàtics. Aquesta tècnica nova només es fa a l'HUVH (des del 2013, després de la seva validació). La implementació de tècniques moleculars permet obtenir en el mateix

acte quirúrgic un resultat definitiu, ràpid i precís sobre la presència de metàstasi al gangli, amb un marge d'error en el resultat inferior a l'obtingut amb les tècniques d'anàlisi anatomopatològiques clàssiques. D'aquesta manera, aquesta combinació del gangli sentinella i el sistema OSNA permet adaptar l'actuació quirúrgica i fer una medicina més personalitzada i ser menys agressius en els casos que no cal ser-ho. També s'eviten tant les reintervencions per falsos negatius com l'infradiagnòstic de l'estat ganglionar. Per tant, permet millorar-ne el tractament i reduir la morbiditat quirúrgica.

✉ fbosch@vhebron.net



Francesc Bosch



Millora de l'alimentació durant l'estada hospitalària a pacients ingressats a la planta d'oncologia i hematologia pediàtrica

Servei d'Hematologia HUVH

La recerca ha permès detectar punts de millora de l'alimentació, de manera que s'han canviat els menús que s'ofereixen als pacients ingressats, s'ha ajustat l'horari dels àpats i se n'ha canviat la forma de dispensació. Així mateix, s'ha canviat la manera en què es registra la dieta

que té permesa cada pacient per tal de minimitzar-ne els errors de transcripció. No s'ha avaluat l'impacte d'aquests canvis, però en alguns pacients **la millora de la ingesta oral es traduirà en menys durada del tractament amb nutrició parenteral.**

✉ ag@icf.uab.es



Maria Antònia Agustí



Nou protocol pel maneig perioperatori dels pacients tractats amb fàrmacs antitrombòtics

Grup de recerca en Farmacologia Clínica

Un equip multidisciplinari de l'hospital (Farmacologia Clínica, Anestèsia i Reanimació, Farmàcia, Hematologia i Hemostàsia, Ortopèdia i Traumatologia, Medicina Interna i el Banc de Sang i Teixits) va elaborar **un protocol multidisciplinari sobre el maneig perioperatori dels pacients tractats crònicament amb antitrombòtics**, que es va difondre amb sessions als serveis, amb un curs semipresencial i es va incorporar a la intranet de l'hospital. Posteriorment, es van mesurar els canvis de maneig dels tractaments en el cas dels pacients amb fractura de maluc

i cirurgia programada. Els canvis detectats han estat una major tendència a no retirar certs tractaments antitrombòtics com l'àcid acetilsalicílic, a substituir l'acenocumarol en el moment adequat, i una pauta més adequada d'heparines de baix pes molecular durant el perioperatori. En canvi, encara no es retira el clopidogrel a menys dies de la cirurgia ni, en general, els antitrombòtics es reinicien en els temps recomanats després de les intervencions quirúrgiques. Els canvis observats no s'han associat a una major tendència de sagnat.

✉ eespin@vhebron.net



Eloy Espín



Canvi en el tipus de cirurgia en pacients de càncer de recte de més de 75 anys

Grup de recerca en Cirurgia General

La recerca ha avaluat l'impacte de la cirurgia oberta *versus* la laparoscòpia en el tractament de càncer de recte en pacients de més de 75 anys. Els resultats han trobat que en pacients de més de 85 anys que han de ser tractats per càncer de recte, la cirurgia laparoscòpica comporta més complicacions cardiopulmonars. Com a resultat, s'ha arribat al consens que, quan es prevegi que

la cirurgia laparoscòpica durarà molt més que la cirurgia oberta, s'ofereix al pacient aquesta última. Per tant, aquests canvis podrien disminuir la morbiditat d'aquests pacients. És molt recent, però s'està avaluant en altres centres adscrits a l'AECP (Associació Espanyola de Coloproctologia).

✉ cbescos@vhebron.net



Coro Bescós



Cirurgia assistida per ordinador a les operacions maxil·lofacials

Grup de recerca en Noves Tecnologies i Microcirurgia Craniofacial. CIBBIM-Nanomedicine

Gràcies a l'experiència i recerca prèvia del grup de recerca, l'HUVH ha estat el primer centre català que ha incorporat la cirurgia assistida per ordinador a les operacions maxil·lofacials. Aquesta aplicació **augmenta la qualitat de l'assistència** que es dona als pacients, ja que fa més fiable i exacta la cirurgia. A més, es pot emprar per rea-

litzar biòpsies en llocs de difícil accés (amb control de la posició en temps real), reduir fractures facials, realitzar resections tumorals (millora la noció d'eliminar tot el tumor quan es tracta de territoris molt profunds) o marcar els marges del tumor com a ajuda a la radioteràpia.

✉ mribo@vhebron.net



Marc Ribó



App per acompanyar els exercicis de telerehabilitació de l'ictus

Grup de recerca en Malalties Neurovasculars

Gràcies a l'experiència del grup de recerca de Malalties Neurovasculars del VHIR, juntament amb la participació de la Unitat d'Ictus, el Servei de Rehabilitació de l'HUVH i la Fundación Vodafone España, s'ha dissenyat una plataforma de rehabilitació (Mefacilyta) adaptada a les necessitats de les persones que han patit un ictus. El seu objectiu és complementar el tractament rehabilitador i que els pa-

cients puguin realitzar des de casa activitats de manteniment que ja han après a l'hospital, els quals són avaluats pel terapeuta ocupacional per tal que aquest pugui fer-ne el seguiment corresponent. Per als pacients és essencial continuar amb aquestes activitats per tal de no perdre les habilitats apreses durant el tractament a l'hospital.

✉ fazpiroz@vhebron.net



Fernando Azpiroz



Nou possible tractament de la distensió abdominal amb *biofeedback*

Grup de recerca en Fisiologia i Fisiopatologia Digestiva

Gràcies a l'experiència del grup de recerca, realitzada per tal d'investigar els mecanismes de la distensió abdominal, s'ha vist que aquesta distensió es podia reduir amb una teràpia de *biofeedback*, guiada per electromiografia. Aquesta tècnica de *biofeedback* resulta actualment molt complexa en la seva actuació, i tot i que s'està intentant

buscar una tècnica més senzilla amb els mateixos resultats, això ha fet que encara no s'hagi pres cap decisió, per part dels decisors, quant a la seva aplicació. Un terç dels pacients que acudeixen de visites al servei d'aparell digestiu tenen aquesta afectació, la qual no té actualment cap tractament disponible.

CONCLUSIONS I RECOMANACIONS

L'escenari ideal en tot hospital universitari és que la recerca duta a terme contribueixi localment i globalment a millorar la salut dels pacients i prevenir la malaltia o els problemes de salut. Els casos que s'han identificat en aquest informe són exemples de recerca duta a terme en el si del sistema de salut, per al sistema i amb el sistema. Alguns han contribuït a tenir un impacte en la pràctica assistencial, altres han servit per identificar elements de millora. En tots els casos, s'ha identificat una aproximació 'oberta' (en els equips, l'organització, les col·laboracions, les disciplines) i 'orientada' a la resolució de problemes de salut. Un estudi exhaustiu podria donar llum a més casos d'interès, i sense cap dubte en un futur serà interessant dur-lo a terme per donar a conèixer els factors facilitadors que han ajudat a la translació, així com per identificar punts de millora en l'àmbit orga-

nitzatiu i de capacitats de la institució i les persones que la formen. A banda de la identificació d'importants contribucions en el si de l'hospital, també s'ha detectat en general un coneixement i una orientació modestos a l'impacte de la recerca.

Això és de vital importància ja que les estratègies de finançament i planificació de la recerca nacionals i internacionals cada vegada posen més èmfasi en l'impacte demostrable de la recerca que es fa, sobretot aquella que conviu dins del sistema nacional de salut. En els països del nostre entorn europeu s'estan duent a terme importants esforços per a la capaciació i gestió del canvi que suposa aquesta nova orientació de les polítiques científiques. L'HUVH compleix les condicions òptimes per ser motor de canvi cap a un sistema de recerca transformador i més orientat a l'impacte.

CONSIDERACIONS METODOLÒGIQUES

En aquest estudi exploratori s'han recollit casos on la recerca ha implicat una modificació/aplicació en la pràctica assistencial durant els últims cinc anys (2011-2015) i que anomenem 'casos d'èxit'. La metodologia emprada és la mateixa de l'estudi dels deu anys del NIHR⁶. Es tracta d'un estudi exploratiu, que no més té l'objectiu d'identificar i sintetitzar impactes en la pràctica assistencial a l'HUVH.

La informació s'ha recollit a través d'un formulari enviat als caps de grup dels cinquanta grups de recerca que formen part del VHIR durant el mes de març de 2016. Per a aquells grups que no van poder contestar el formulari, s'han realitzat durant el mes d'octubre de 2016 entrevistes breus (presencials o telefòniques)

per tal de poder recollir tota la informació. Només s'ha seleccionat un cas per grup investigador i, per tant, els casos poden no (necessàriament) ser representatius del conjunt de recerca que es duu a terme a l'HUVH, i és possible que hi hagi casos significatius que hagin quedat fora de l'estudi. A més, s'ha de considerar que per falta de disponibilitat i temps, no s'ha pogut incorporar un cas per cada grup de recerca del VHIR. Tanmateix, la selecció feta dona visibilitat a una gran varietat del conjunt de grups de recerca.

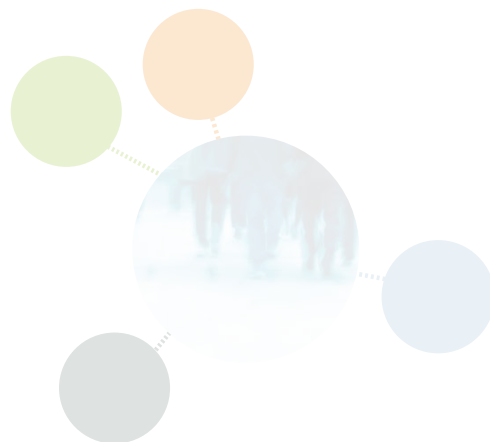
Els estudis de casos seleccionats s'han explorat en profunditat i aquells en què es disposava de poca evidència sobre el benefici per a l'hospital han estat descartats. També s'ha descartat aquella recerca en

la qual els investigadors han confós els resultats de la mateixa recerca amb canvis en la pràctica, i aquells on l'aplicació a la pràctica rutinària encara no s'havia fet realitat en el moment de l'estudi. Sempre que ha estat possible, s'han identificat les fonts que confirmen els impactes descrits. Tanmateix, en la majoria de casos això no ha estat possible i, per aquest motiu, els impactes estan basats en la informació aportada pels investigadors implicats directament en els estudis de casos.

Els casos s'han sintetitzat en un breu resum a partir d'una varietat de fonts, incloent-hi els formularis emplenats, els articles científics publicats de la recerca i les entrevistes realitzades als caps de grup o amb investigadors rellevants. S'ha realitzat una anàlisi de contingut de totes les fitxes seleccionades ('casos d'èxit'), s'ha endreçat la informació significativa i s'han generat les categories que s'han considerat rellevants.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Boaz A, Hanney S, Jones T, et al. Does the engagement of clinicians and organizations in research improve healthcare performance: a three-stage review. *BMJ Open*. 2015;5(12):e009415
- 2 Department of Health. *Innovation health and wealth, accelerating adoption and diffusion in the NHS*. London, 2011.
- 3 Walshe K, Davies HT. Health research, development and innovation in England from 1988 to 2013: from research production to knowledge mobilization. *J Health Serv Res Policy* 2013;18(3 Suppl):1-12.
- 4 Morgan M, Kamenetzky A, Manville C, Ghiga I, MacLure C, Harte E, Spisak A, Kirtley A and Grant J. *The National Institute for Health Research at 10 Years: An impact synthesis: 100 Impact Case Studies*. Santa Monica, CA: RAND Corporation, 2016. http://www.rand.org/pubs/research_reports/RR1574.html
- 5 Wooding S, Hanney SR, Pollitt A, Grant J, Buxton MJ; Project Retrosight Team. Understanding factors associated with the translation of cardiovascular research: a multinational case study approach. *Implement Sci*. 2014 Apr 21;9(1):47.
- 6 Morgan M, Kamenetzky A, Manville C, Ghiga I, MacLure C, Harte E, Spisak A, Kirtley A and Grant J. *The National Institute for Health Research at 10 Years: An impact synthesis: 100 Impact Case Studies*. Santa Monica, CA: RAND Corporation, 2016. http://www.rand.org/pubs/research_reports/RR1574.html



ANNEX. EVIDÈNCIA CIENTÍFICA DELS ESTUDIS DE CASOS

- Alfirevic Z, Owen J, Carreras Moratonas E, *et al.* Vaginal progesterone, cerclage or cervical pessary for preventing preterm birth in asymptomatic singleton pregnant women with a history of preterm birth and a sonographic short cervix. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2013 Feb;41(2):14651.
- Alvarado-Cardenas M, Marin-Sánchez A, Martínez MA, *et al.* Statin-associated autoimmune myopathy: A distinct new IFL pattern can increase the rate of HMGCR antibody detection by clinical laboratories. *Autoimmun Rev.* 2016 Sep 15. pii: S1568-9972(16)30197-5.
- Barba E, Burri E, Accarino A, Cisternas D, Quiroga S, Monclus E, Navazo I, Malagelada JR, Azpiroz F. Abdominothoracic mechanisms of functional abdominal distension and correction by biofeedback. *Gastroenterology.* 2015 Apr;148(4):732-9.
- Carrascosa A, Audí L, Fernández-Cancio M, *et al.* Growth hormone secretory status evaluated by growth hormone peak after two pharmacological growth hormone release stimuli did not significantly influence the two-year catch-up growth induced by growth hormone therapy in 318 prepubertal short children with idiopathic growth retardation. *Horm Res Paediatr.* 2011 Feb;75(2):106-14.
- Carrascosa A, Fernández Longás A, *et al.* [Idiopathic short stature. A literature review and update]. *An Pediatr (Barc).* 2011 Sep;75(3):204.e1-11.
- Carreras E, Arévalo S, BelloMuñoz JC, *et al.* Arabin cervical pessary to prevent preterm birth in severe twintotwin transfusion syndrome treated by laser surgery. *Prenat Diagn.* 2012 Dec;32(12):11815.
- Colas E, Pérez C, Cabrera S, *et al.* Molecular markers of endometrial carcinoma detected in uterine aspirates. *Int J Cancer.* 2011 Nov 15;129(10):2435-44.
- del Carmen S, Gatiús S, Franch-Arcas G, *et al.* Concordance study between one-step nucleic acid amplification and morphologic techniques to detect lymph node metastasis in papillary carcinoma of the thyroid. *Hum Pathol.* 2016 Feb;48:132-41.
- García-Burillo A, Roca Bielsa I, González O, *et al.* SPECT/CT sentinel lymph node identification in papillary thyroid cancer: lymphatic staging and surgical management improvement. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2013 Oct;40(11):1645-55.
- Gimferrer L, Andrés C, Campins M, *et al.* Circulation of a novel human respiratory syncytial virus Group B genotype during the 2014–2015 season in Catalonia (Spain). *Clin Microbiol Infect.* 2016 Jan;22(1):97.e5-8.
- Gimferrer L, Campins M, Codina MG, *et al.* Molecular epidemiology and molecular characterization of respiratory syncytial viruses at a tertiary care university hospital in Catalonia (Spain) during the 2013-2014 season. *J Clin Virol.* 2015 May;66:27-32
- González O, Iglesias C, Zafón C, *et al.* Detection of Thyroid Papillary Carcinoma Lymph Node Metastases Using One Step Nucleic Acid Amplification (OSNA): Preliminary Results. *J Invest Surg.* 2015 Jun;28(3):153-9.
- Goya M, Cabero L. Cervical pessary placement for prevention of preterm birth in unselected twin pregnancies: a randomized controlled trial. *Am J Obstet, Gynecol.* 2016 Feb;214(2):3012.
- Goya M, de la Calle M, Pratcorona L, *et al.* Cervical pessary to prevent preterm birth in women with twin gestation and sonographic short cervix: a multicenter randomized controlled trial (PECEPTwins). *Am J Obstet Gynecol.* 2016 Feb;214(2):14552.

- Goya M, Pratcorona L, Higuera T, *et al.* Sonographic cervical length measurement in pregnant women with a cervical pessary. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2011 Aug;38(2):2059.
- Goya M, Pratcorona L, Merced C, *et al.* Cervical pessary in pregnant women with a short cervix (PECEP): an open label randomized controlled trial.
- Iavecchia L, Safiya A, Salat D, *et al.* Impact of Implementing a Protocol on the Perioperative Management in Patients Treated with Antithrombotics Admitted for Hip Fracture Surgery: an Observational Study. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2016 Nov;119(5):476-484.
- Landi F, Vallribera F, Rivera JP, *et al.* Morbidity after laparoscopic and open rectal cancer surgery: a comparative analysis of morbidity in octogenarians and younger patients. *Colorectal Dis.* 2016 May;18(5):459-67
- Lloveras E, Vendrell T, Fernández A, *et al.* Intrachromosomal 3p insertion as a cause of reciprocal pure interstitial deletion and duplication in two siblings: further delineation of the emerging proximal 3p deletion syndrome. *Cytogenet Genome Res.* 2014;144(4):290-3.
- Nevado J, Rosenfeld JA, Mena R, *et al.* PIAS4 is associated with macro/microcephaly in the novel interstitial 19p13.3 microdeletion/microduplication syndrome. *Eur J Hum Genet.* 2015 Dec;23(12):1615-26.
- Núñez-Pereira S, Pellisé F, Rodríguez-Pardo D, *et al.* Implant survival after deep infection of an instrumented spinal fusion. *Bone Joint J.* 2013 Aug;95-B(8):1121-6.
- Núñez-Pereira S, Pellisé F, Rodríguez-Pardo D, *et al.* Individualized antibiotic prophylaxis reduces surgical site infections by gram-negative bacteria in instrumented spinal surgery. *Eur Spine J.* 2011 Aug;20 Suppl 3:397-402.
- Núñez-Pereira S, Rodríguez-Pardo D, Pellisé F, *et al.* Postoperative urinary tract infection and surgical site infection in instrumented spinal surgery: is there a link? *Clin Microbiol Infect.* 2014 Aug;20(8):768-73.
- Perez-Sanchez C, Colas E, Cabrera S, *et al.* Molecular diagnosis of endometrial cancer from uterine aspirates. *Int J Cancer.* 2013 Nov 15;133(10):2383-91.
- Pizzi MN, Roque A, Fernández-Hidalgo N, *et al.* Improving the Diagnosis of Infective Endocarditis in Prosthetic Valves and Intracardiac Devices With 18F-Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography/Computed Tomography Angiography: Initial Results at an Infective Endocarditis Referral Center. *Circulation.* 2015 Sep 22;132(12):1113-26.
- Plaja A, Castells N, Cueto-González AM, *et al.* A Novel Recurrent Breakpoint Responsible for Rearrangements in the Williams-Beuren Region. *Cytogenet Genome Res.* 2015;146(3):181-6.
- Plaja A, Lloveras E, Martínez-Bouzas C, *et al.* Trisomy 18p caused by a supernumerary marker with a chromosome 13/21 centromere: a possible recurrent chromosome aberration. *Am J Med Genet A.* 2013 Sep;161A(9):2363-8.
- Quer J, Gregori J, Rodríguez-Frias F, *et al.* High-Resolution Hepatitis C Virus Subtyping Using NS5B Deep Sequencing and Phylogeny, an Alternative to current methods. *J Clin Microbiol.* 2015 Jan;53(1):219-26.
- Trallero-Araguás E, Grau-Junyent JM, Labirua-Iturburu A, *et al.* Clinical manifestations and long-term outcome of anti-Jo1 antisynthetase patients in a large cohort of Spanish patients from the GEAS-IIM group. *Semin Arthritis Rheum.* 2016 Oct;46(2):225-31.
- Yeste D, Tomasini R, Dodino G, *et al.* Hypoglycaemia-insulin test: discordant growth hormone and cortisol response in paediatric patients regarding recovery from hypoglycaemia with or without oral glucose solution. *Horm Res.* 2007;67(1):42-5



L'Agència d'Avaluació i Qualitat Sanitàries de Catalunya (AQuAS) és una entitat adscrita al Departament de Salut. La seva missió és generar el coneixement rellevant per contribuir a la millora de la qualitat, la seguretat i sostenibilitat el sistema de salut de Catalunya, posant l'enfocament en l'avaluació i utilitzant com a instruments principals la informació, el coneixement i les tecnologies de la informació i les comunicacions. L'AQuAS és membre fundador de la International Network of Agencies for Health Technology Assessment (INAHTA), membre corporatiu de la Health Technology Assessment International (HTAi), membre fundador de la International School on Research Impact Assessment (ISRIA) i membre del grup Reference site "quatre estrelles" de l'European Innovation Partnership on Active and Healthy Ageing de la Comissió Europea. També forma part del CIBER d'Epidemiologia i Salut Pública (CIBERESP), del grup de Recerca en Avaluació de Serveis i Resultats de Salut (RAR) reconegut per la Generalitat de Catalunya i de la Red de Investigación en Servicios Sanitarios en Enfermedades Crónicas (REDISSEC).

Es recomana que aquest document sigui citat de la manera següent: Solans-Domènech M, Gavalda N, Permanyer-Miralda G, Radó N, Vizcaíno E, Adam P. Estudi exploratori de l'impacte de la recerca a l'Hospital Universitari Vall d'Hebron. Monogràfic del SARIS núm. 5. Sèrie sobre Recerca que Transforma. Barcelona: Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya. Departament de Salut. Generalitat de Catalunya; 2019.

Les persones interessades en aquest document poden adreçar-se a: <http://aquas.gencat.cat>

Edita: Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya (AQuAS) Primera edició: Barcelona, gener 2019

Disseny: Joana López-Cordiente

Il·lustració de portada: Ondeuev

Alguns drets reservats:
© 2019, Generalitat de Catalunya. Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya



Els continguts d'aquesta obra estan subjectes a una llicència de Reconeixement-NoComercial-SenseObresDerivades 4.0 Internacional.

La llicència es pot consultar a:

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.ca>

10.5. DOCUMENT ANNEX E

L'annex E correspon al Full de Sol·licitud com a nova tecnologia no farmacològica de la tècnica OSNA per a l'estudi intraoperatori del GS en CPT, per part de la *Unitat de Millora de la Pràctica Clínica de l'Hospital Vall d'Hebron*.

DOCUMENT NO CONSULTABLE

