

## Mutação do promotor TERT no carcinoma anaplásico da tireoide: um relato de caso

### *TERT promoter mutation in anaplastic thyroid carcinoma: a case report*

Rafael Reis Campos da Matta<sup>1\*</sup>, Helton Estrela Ramos<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia – UFBA; <sup>2</sup>Doutor em Endocrinologia Clínica. Professor Associado do Instituto de Ciências da Saúde e do Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas. Instituto de Ciências da Saúde – UFBA

#### Resumo

**Introdução:** o gene TERT codifica a subunidade catalítica da telomerase responsável pelo alongamento dos telômeros no final dos cromossomos. Mutações na região promotora do gene TERT resultam em superexpressão da subunidade catalítica e promovem aumento da atividade da telomerase, fatos que levam ao aumento da incidência do câncer. No carcinoma anaplásico da tireoide, essas mutações são preditores de pior prognóstico e estão associadas a comportamento clínico agressivo, incluindo alta frequência de recidivas, metástases a distância e morte específica pela doença. **Objetivo:** relatar o caso de uma paciente idosa portadora de carcinoma anaplásico da tireoide, cujo teste de sequenciamento genético revelou a mutação do promotor TERT C228T. **Caso clínico:** mulher idosa, 66 anos, diagnosticada inicialmente com nódulo tireoidiano, o qual cresceu rapidamente em um curto período de tempo. Diante da suspeita de neoplasia maligna, a paciente foi submetida a tireoidectomia total, com realização de esvaziamento cervical. Os estudos anatomopatológico e imuno-histoquímico do tumor confirmaram o carcinoma. Estudos moleculares realizados a partir da tecnologia do sequenciamento de nova geração negaram a presença de fusões gênicas, porém detectaram a mutação TERT C228T. **Discussão:** a identificação da mutação no promotor TERT C228T reforça a hipótese de que mutações TERT são frequentes em tumores tireoidianos mais agressivos, como é o caso do carcinoma anaplásico da tireoide. **Conclusão:** os dados apresentados neste estudo reforçam a premissa de que mutações no promotor TERT são preditores de pior prognóstico e de comportamento clínico mais agressivo.

**Palavras-chave:** Carcinoma anaplásico da tireoide. Tireoidectomia. Mutação. Telomerase.

#### Abstract

**Introduction:** the TERT gene encodes the catalytic telomerase subunit responsible for elongating telomeres at the end of chromosomes. Mutations in the promoter region of the TERT gene result in overexpression of the catalytic subunit and promote increased telomerase activity, facts that lead to an increased incidence of cancer. In anaplastic thyroid carcinoma, these mutations are predictors of worse prognosis and are associated with aggressive clinical behavior, including a high frequency of relapses, distant metastases, and disease-specific death. **Objective:** to report the case of an elderly patient with anaplastic thyroid carcinoma, whose gene sequencing test revealed a TERT C228T promoter mutation. **Case report:** Elderly woman, 66 years old, initially diagnosed with a thyroid nodule, which grew rapidly in a short period of time. Given the suspicion of malignant neoplasm, the patient underwent total thyroidectomy, with neck dissection. The anatomopathological and immunohistochemical studies of the tumor confirmed the carcinoma. Molecular studies performed using next-generation sequencing technology denied the presence of gene fusions, but detected the TERT C228T mutation. **Discussion:** identification of the mutation in the TERT C228T promoter reinforces the hypothesis that TERT mutations are frequent in more aggressive thyroid tumors, such as anaplastic thyroid carcinoma. **Conclusion:** data presented in this study reinforce the premise that mutations in the TERT promoter are predictors of worse prognosis and more aggressive clinical behavior.

**Keywords:** Anaplastic Thyroid Carcinoma. Thyroidectomy. Mutation. Telomerase.

#### INTRODUÇÃO

O carcinoma anaplásico da tireoide (CAT) é uma malignidade endócrina rara que representa <2% de todos os cânceres de tireoide<sup>1</sup>. Apesar de raro, o CAT é extremamente agressivo e letal. O prognóstico desfavorável dessa doença repercute diretamente sobre a taxa de sobrevida média dos pacientes que é de cerca de 5 meses, com menos de 20%

sobrevivendo um ano<sup>2</sup>. Em razão da alta agressividade e pior desfecho clínico, o CAT é classificado no estágio IV (A, B ou C) pelo sistema TNM do American Joint Committee on Cancer (AJCC)<sup>3-5</sup>.

Quanto à sua patogênese, evidências científicas sugerem que CAT pode representar estágio final de diferenciação de um tumor bem diferenciado da tireoide pré-existente<sup>1,6</sup>. Todavia, não está descartada a possibilidade de essa doença surgir a partir de mutações *de novo*<sup>3</sup>. As alterações moleculares envolvidas na patogênese do CAT ainda não foram completamente elucidadas, entretanto, os estudos realizados têm demonstrado que as vias de sinali-

**Correspondente/Corresponding:** \*Rafael Reis Campos da Matta – Instituto de Ciências da Saúde, Sala 325, Universidade Federal da Bahia – End.: Av. Reitor Miguel Calmon, s/n, Vale do Canela – 40.110-902 – Salvador, BA – Tel.: +55 (75) 98187-7725 – E-mail: rafael.matta@ufba.br

zação RAS-BRAF-MEK e PI3K-AKT-mTOR estão diretamente envolvidas no surgimento e progressão dessa malignidade<sup>7</sup>. As mutações frequentemente encontradas no CAT são as mutações no gene supressor tumoral TP53 e no gene TERT<sup>7</sup>.

O gene TERT (do inglês *human telomerase reverse transcriptase*) codifica a subunidade catalítica da telomerase responsável pelo alongamento dos telômeros no final dos cromossomos<sup>8</sup>. Mutações na região promotora do gene TERT resultam em expressão da subunidade catalítica e promovem aumento da atividade da telomerase, eventos que desempenham um papel importante na tumorigênese humana<sup>9</sup>. As mutações C228T e C250T, correspondendo a -124 C>T e -146 C>T do local de início da tradução no promotor do TERT, vêm sendo frequentemente relatadas em diversos cânceres humanos<sup>9-11</sup>. No câncer de tireoide, essas mutações são preditores de pior prognóstico e estão associadas a comportamento clínico agressivo, incluindo maior tamanho do tumor, extensão extratireoidiana, estágio tumoral avançado, metástases a distância e morte específica pela doença<sup>12-14</sup>.

No presente artigo, relatamos o caso de uma paciente idosa portadora de CAT, atendida na clínica IT – Endocrinologia Especializada LTDA, instituição privada localizada na cidade de Salvador, Bahia, cujo teste de sequenciamento genético revelou a mutação C228T no promotor do gene TERT.

## CASO CLÍNICO

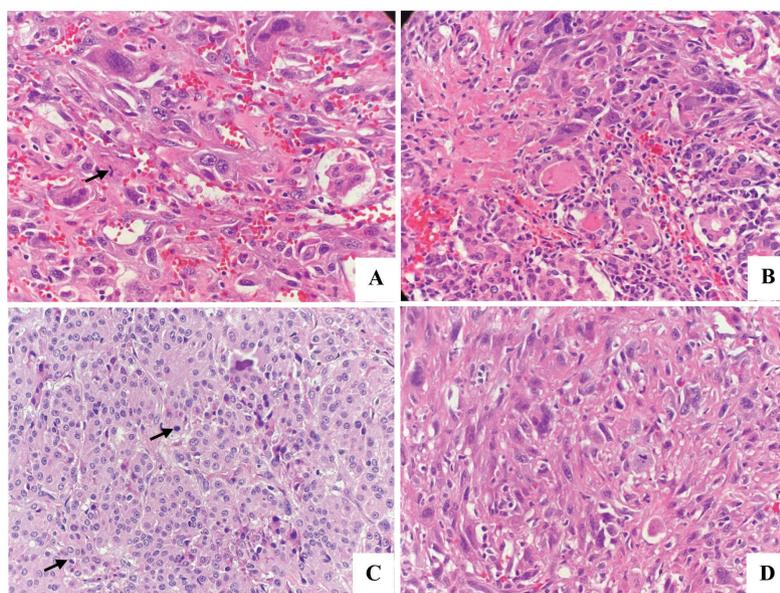
Mulher idosa de 66 anos foi matriculada na clínica IT Endocrinologia Especializada LTDA para avaliação por CAT, com histórico de diagnóstico de nódulo tireoidiano em junho de 2020. O curso clínico da doença se deu por crescimento rápido do nódulo, após um período de dois meses.

Foi realizada uma Punção Aspirativa por Agulha Fina (PAAF) da tireoide, cujo resultado indicou suspeita de neoplasia de células de Hürthle, categoria IV do Sistema Bethesda. O exame ultrassonográfico da região cervical, realizado no mesmo período, revelou que o nódulo palpável tinha origem no lobo esquerdo tireoidiano, apresentava textura mista, predominantemente sólidas, e bordas irregulares, medindo 3,9 x 3,3 x 3,3 cm nos seus maiores eixos e volume de 19,28 cm<sup>3</sup>.

Entre os meses de agosto a outubro de 2020, o crescimento nodular intensificou-se, levando a um aumento do volume da região cervical anterior da paciente. Diante do rápido crescimento do nódulo tireoidiano e dos indicativos de presença de neoplasia maligna apontados pelos exames realizados até aquele momento, a paciente foi julgada clinicamente ressecável, sendo submetida a tireoidectomia total com realização de esvaziamento cervical em dezembro do mesmo ano.

O produto da tireoidectomia total foi encaminhado para estudo anatomopatológico que indicou a presença de neoplasia de células epitelioides, fusiformes e pleomórficas de diferenciação não determinada. O subtipo morfológico sarcomatoide foi o predominante, embora áreas foliculares diferenciadas tenham sido identificadas (Figura 1). Macroscopicamente, tratava-se de um tumor unifocal medindo 5,2 x 5,0 x 4,5 cm, com extensão extratireoidiana e invasão angiolinfática, cujas margens cirúrgicas não foram avaliadas devido à fragmentação prévia da amostra. Apesar dos achados anatomopatológicos iniciais serem compatíveis com o CAT, foi solicitada a realização do estudo imuno-histoquímico para confirmar a classificação da neoplasia, bem como para afastar a possibilidade de um carcinoma medular.

Figura 1 – Achados histopatológicos da paciente.



Fonte: Dados da pesquisa: caso clínico.

Legenda: (A) Células pleomórficas, fusiformes em padrão sarcomatoide, com figura atípica de mitose (seta) e hemácias dispersas em espaços sinusoidais. (B) Áreas sarcomatoides (metade superior) e áreas focais diferenciadas foliculares (metade inferior). (C) Componente folicular bem diferenciado, com alta contagem mitótica <20% da neoplasia (setas). (D) Área sarcomatoide predominante.

A análise imuno-histoquímica foi conclusiva para CAT ao demonstrar positividade para o marcador Citoqueratina AE1/AE3. Posteriormente, novo estudo anatomopatológico foi realizado, revelando outros importantes achados sobre a neoplasia da paciente, a saber: contagem mitótica de 14 mitoses por 2mm<sup>2</sup>; extensão extratireoidiana para o tecido adiposo extracapsular e para o tecido muscular estriado do lobo esquerdo; e presença de metástases para um de três linfonodos regionais à esquerda. O estadiamento final da neoplasia foi definido como pT3bpN1aM1, estágio IVB, segundo os critérios definidos pelo sistema TNM do American Joint Committee on Cancer<sup>5</sup>.

A fim de garantir o direcionamento mais adequado da escolha terapêutica, foi solicitada a realização de testes moleculares para investigação das alterações genéticas associadas à neoplasia. O primeiro sequenciamento de nova geração (NGS, do inglês *Next Generation Sequencing*), realizado em fevereiro de 2021, investigou a presença de fusões gênicas para os principais *drivers* oncogênicos envolvidos na tumorigênese tireoidiana, entre eles: AKT3, BRAF, NTRK1, NTRK2, NTRK3, PPAR- $\gamma$  e RET. Entretanto, nenhuma fusão gênica foi identificada. Em abril do mesmo ano, um segundo NGS (FoundationOne CDx) foi realizado, onde detectou-se a mutação C228T (-124C>T) na região promotora do gene TERT. O FoundationOne CDx é um painel de análise abrangente do perfil genômico de tumores sólidos, que utiliza NGS em diagnósticos *in vitro*, com uma abordagem de enriquecimento de alvo, baseada em captura híbrida e construção de biblioteca *shotgun* de genoma completo para detectar substituições, inserções e deleções (*indels*), alterações do número de cópias e rearranjos, em um total de 324 genes relacionados ao câncer<sup>15</sup>. Assim como no primeiro teste molecular, este segundo NGS não encontrou alterações nos genes BRAF e RET.

## DISCUSSÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o CAT é definido como uma doença maligna da tireoide altamente agressiva, composta por células foliculares da tireoide indiferenciadas<sup>4</sup>. É um tumor de rápida progressão que, macroscopicamente, se apresenta como uma massa grande e firme da tireoide, capaz de se infiltrar facilmente nos tecidos extratireoidianos<sup>16</sup>. A maioria dos pacientes com CAT apresenta rápido aumento da massa cervical<sup>1,6</sup> sendo esta a característica mais comum desse tipo de câncer. Disfagia, rouquidão, disфонia, dispneia e cervicálgia são sintomas comumente relatados<sup>1,6</sup> e parece estarem associados à compressão mecânica resultante do aumento da massa tireoidiana<sup>6</sup>.

O CAT é uma doença que acomete principalmente idosos. O pico de incidência é atingido na sexta e sétima década de vida (idade média do diagnóstico 55-65 anos) e as mulheres são mais afetadas correspondendo a 55-77% de todos os pacientes<sup>17</sup>.

A idade avançada e a rápida progressão tumoral apresentadas pela paciente deste estudo são características que fazem deste um caso clássico de CAT. Somam-se a estas características, os achados histopatológicos da paciente que são típicos dessa neoplasia, tendo em vista que o CAT apresenta citologia complexa incluindo células gigantes fusiformes (aparência sarcomatoide), pleomórficas e escamosas, com frequentes misturas desses tipos celulares, além de múltiplas figuras mitóticas atípicas<sup>1,3</sup>. Além disso, a imunorreatividade para a citoqueratina A1/A3 é outro achado que pode ser associado ao CAT, uma vez que esse tumor tende a ser imuno-histoquimicamente positivo para queratina<sup>6,16</sup>.

Embora o CAT seja uma neoplasia rara, uma quantidade consistente de informações sobre alterações genéticas envolvidas no desenvolvimento e progressão dessa doença vêm sendo produzida nas últimas décadas. Os estudos demonstram que as mutações nos *drivers* oncogênicos BRAF e RAS representam os eventos iniciais da carcinogênese da tireoide<sup>3</sup> e podem ser encontrados, tanto em tumores bem diferenciados, quando nos tumores indiferenciados. Entretanto, nos tumores indiferenciados a carga mutacional é maior devido a ocorrência de alterações genéticas tardias como, por exemplo, as mutações TP53 e TERT, as quais contribuem para o comportamento mais agressivo do CAT<sup>4,6,7</sup>.

O gene TERT codifica a subunidade catalítica que compõe a telomerase, uma ribonucleoproteína polimerase, responsável pelo alongamento dos telômeros no final dos cromossomos<sup>8</sup>. Em células normais, o silenciamento da telomerase ocasiona o encurtamento dos telômeros e, conseqüentemente, leva à interrupção do crescimento e senescência<sup>8,18</sup>. Entretanto, em células tumorais, a reativação da telomerase exerce papel fundamental no desencadeamento da imortalidade celular e tumorigênese<sup>8</sup>.

Os estudos têm demonstrado que as mutações na região promotora do gene TERT representam uma assinatura molecular encontrada em vários tipos de cânceres humanos. Vinagre *et al.*<sup>10</sup> encontraram mutações somáticas no promotor TERT em cânceres do sistema nervoso central (43%), bexiga (59%), tireoide (derivada de células foliculares, 10%) e pele (melanoma, 29%). Mutações TERT também foram encontradas por Huang *et al.*<sup>18</sup> no glioblastoma (83,9%), carcinoma urotelial (64,5%), oligodendroglioma (70,0%), meduloblastoma (33,3%) e carcinoma hepatocelular (31,4%).

As mutações do promotor TERT mais frequentes nos cânceres humanos estão localizadas nos pontos de acesso CHR, 1.295.228 C>T (C288T) e CHR, 1.295.250 C>T (C250T) e correspondem a alterações de nucleotídeos, nas posições – 124 e 146 pares de base a montante do local de início da tradução de TERT<sup>9,11,18</sup>. Essas mutações ocorrem de maneira mutuamente exclusiva, sendo C288T mais frequente nos cânceres humanos, enquanto que C250T é um evento raro<sup>11</sup>. Os mecanismos pelos quais as mutações TERT desencadeiam o processo de carcinogênese ainda permanecem pouco compreendidos, entretanto, já se

sabe que as mutações C228T e C250T conferem aumento da transcrição de TERT ao criar sítios de ligação para os fatores de transcrição E-vinte seis (ETS, do inglês *E-twenty-six*) na região promotora do gene TERT, desencadeando a superexpressão de TERT<sup>14</sup>.

No caso descrito neste estudo, dois testes moleculares foram realizados para investigar a presença de mutações associadas ao CAT. O primeiro NGS investigou a presença de fusões gênicas, envolvendo os principais drivers oncogênicos associados à tumorigênese tireoidiana, entretanto, nenhuma fusão foi detectada. Tuin *et al.*<sup>19</sup>, ao analisarem amostras tumorais de 132 holandeses com carcinoma de tireoide avançado, refratário ao iodo radioativo, verificaram que as fusões gênicas foram mais comuns nos carcinomas bem diferenciados da tireoide, principalmente nos carcinomas papilíferos, do que em relação aos outros subtipos histológicos. Yakushina *et al.*<sup>20</sup> também constataram baixa prevalência de fusões gênicas em casos de carcinoma pouco diferenciado da tireoide (CPDT) e CAT.

A detecção de TERT C288T, após realização do segundo NGS, reforça a hipótese de que mutações TERT são frequentes em tumores tireoidianos mais agressivos, como é o caso do CAT. Landa *et al.*<sup>21</sup> encontraram essas mutações em 40 de 78 (51%) cânceres de tireoide avançados (CPDT + CAT). Shi *et al.*<sup>13</sup>, ao analisar um total de 106 amostras de CAT, oriundas de pacientes americanos e chineses, detectaram 37 (34,9%) casos da mutação TERT C228T e 4 (3,8%) casos de TERT C250T. Já no estudo de Liu *et al.*<sup>9</sup>, a mutação C288T foi encontrada em 23 dos 54 (42,6%) CAT analisados.

Certos estudos<sup>12-14</sup> demonstraram a existência de uma forte associação entre as mutações TERT e características clínico-patológicas agressivas em diferentes tipos de câncer de tireoide derivado de células foliculares. Melo *et al.*<sup>12</sup> demonstraram que a presença de mutações no promotor TERT em tumores tireoidianos bem diferenciados estava associada à idade mais avançada no diagnóstico, tumores maiores, maior frequência de metástases a distância e estágio tumoral mais alto. Achados semelhantes foram obtidos por Liu *et al.*<sup>14</sup> que ainda constataram a presença de extensão extratireoidiana nos carcinomas papilíferos da tireoide mutados para TERT investigados. Shi *et al.*<sup>13</sup> concluíram que a presença da mutação TERT C228T no CAT está associada à idade mais avançada do paciente, coexistência com a mutação BRAF V600E e metástase a distância.

Os estudos supracitados fornecem elementos que ajudam a compreender a relação das características clínico-patológicas apresentadas pela paciente com a mutação TERT detectada e, simultaneamente, justificam o estadiamento tumoral determinado para a neoplasia. Considerando os resultados de Shi *et al.*<sup>13</sup>, em particular a forte associação da mutação TERT C288T e metástases a distância no CAT, torna-se fundamentalmente importante o monitoramento de metástases e demais manifestações clínicas da doença, bem como a adoção imediata de

estratégias terapêuticas para involução da proliferação tumoral.

## CONCLUSÃO

O CAT é uma doença rara de prognóstico sombrio que, na maioria dos casos, determina um curto tempo de sobrevivência. Alterações genéticas tardias, como as mutações TP53, TERT e  $\beta$ -catenina, colaboram para o comportamento mais agressivo dessa doença. No presente estudo, foi relatado o caso de uma paciente com CAT, cujo teste molecular indicou a presença da mutação TERT C228T. Os dados apresentados neste estudo reforçam a premissa de que mutações no promotor TERT são preditores de pior prognóstico e de comportamento clínico mais agressivo.

## REFERÊNCIAS

1. KEUTGEN, X. M.; SADOWSKI, S. M.; KEBEBEW, E. Management of anaplastic thyroid cancer. **Gland Surgery**, [s.l.], v. 4, n. 1, p. 44-51, 2015.
2. SMALLRIDGE, R. C.; COPLAND, J. A. Anaplastic thyroid carcinoma: pathogenesis and emerging therapies. **Clinical Oncology**, London, v. 22, n. 6, p. 486-497, 2010.
3. O'NEILL, J. P.; SHAHA, A. R. Anaplastic thyroid cancer. **Oral Oncology**, Oxford, v. 49, n. 7, p. 702-706, 2013.
4. BIBLE, K. C. *et al.* American thyroid association guidelines for management of patients with anaplastic thyroid cancer. **Thyroid**, New York, v. 31, n. 3, p. 337-386, 2021.
5. AMIN, M. B. *et al.* **AJCC Cancer Staging Manual**. 8. ed. New York: Springer, 2017.
6. CHINTAKUNTLAWAR, A. V. *et al.* Diagnosis and management of anaplastic thyroid cancer. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, Philadelphia, v. 48, n. 1, p. 269-284, 2019.
7. ABE, I.; LAM, K. Anaplastic thyroid carcinoma: Current issues in genomics and therapeutics. **Current Oncology Reports**, Philadelphia, v. 23, n. 31, p. 1-14, 2021.
8. MAGGISANO, V. *et al.* Silencing of hTERT blocks growth and migration of anaplastic thyroid cancer cells. **Molecular and Cellular Endocrinology**, Limerick, v. 448, p. 34-40, 2017.
9. LIU, X. *et al.* Highly prevalent TERT promoter mutations in aggressive thyroid cancers. **Endocrine-Related Cancer**, [s.l.], v. 20, n. 4, p. 603-610, 2013.
10. VINAGRE, J. *et al.* Frequency of TERT promoter mutations in human cancers. **Nature Communications**, [s.l.], v. 4, n. 2185, p. 1-6, 2013.
11. LIU, R.; XING, M. TERT promoter mutations in thyroid cancer. **Endocrine-Related Cancer**, [s.l.], v. 23, n. 3, p. 143-155, 2016.
12. MELO, M. *et al.* TERT Promoter Mutations Are a Major Indicator of Poor Outcome in Differentiated Thyroid Carcinomas. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, [s.l.], v. 99, n. 5, p. 754-765, 2014.
13. SHI, X. *et al.* Association of TERT promoter mutation 1,295,228 C>T With BRAF V600E mutation, older patient age, and distant metastasis in anaplastic thyroid cancer. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, [s.l.], v. 100, n. 4, p. 632-637, 2015.
14. LIU, X. *et al.* TERT Promoter mutations and their association with BRAF V600E mutation and aggressive clinicopathological characteristics of thyroid cancer. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**,

[s.l.], v. 99, n. 6, p. 1130-1136, 2014.

15. TAKEDA, M. Clinical application of the FoundationOne CDx assay to therapeutic decision-making for patients with advanced solid tumors. **The Oncologist**, [s.l.], v. 26, n. 4, p. 588-596, 2021.

16. RAGAZZI, M. *et al.* Update on anaplastic thyroid carcinoma: Morphological, molecular, and genetic features of the most aggressive thyroid cancer. **International Journal of Endocrinology**, [s.l.], v. 2014, p. 1-13, 2014.

17. CHIACCHIO, S. Anaplastic thyroid cancer: prevalence, diagnosis and treatment. **Minerva Endocrinology**, [s.l.], v. 33, n. 4, p. 341-357, 2008.

18. HUANG, D. S. *et al.* Recurrent TERT promoter mutations identified in a largescale study of multiple tumour types are associated with increased

TERT expression and telomerase activation. **European Journal of Cancer**, Oxford, v. 51, n. 8, p. 969-976, 2015.

19. TUIN, V. D. K. *et al.* Targetable gene fusions identified in radioactive iodine refractory advanced thyroid carcinoma. **European Journal of Endocrinology**, Oslo, v. 180, n. 4, p. 235-241, 2019.

20. YAKUSHINA, V. D. *et al.* Gene Fusions in Thyroid Cancer. **Thyroid**, New York, v. 28, n. 2, p. 158-167, 2018.

21. LANDA, I. *et al.* Frequent somatic TERT promoter mutations in thyroid cancer: Higher prevalence in advanced forms of the disease. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, [s.l.], v. 98, n. 9, p. 1562-1566, 2013.

---

**Submetido em:** 19/11/2021

**Aceito em:** 20/11/2021