



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA**

TAINÁ OSTERNO VASCONCELOS CUNHA

**AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DA EXPRESSÃO DE RECEPTOR DE
ESTRÓGENO β NO CARCINOMA DIFERENCIADO DE TIREOIDE.**

FORTALEZA

2017

TAINÁ OSTERNO VASCONCELOS CUNHA

AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DA EXPRESSÃO DE RECEPTOR DE
ESTRÓGENO β NO CARCINOMA DIFERENCIADO DE TIREOIDE.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestrado em Patologia
Área de concentração: Medicina II

Orientador: Prof. Dr. Manoel Ricardo Alves Martins.

Co-orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Carvalho de Almeida.

FORTALEZA

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

V451a Vasconcelos, Tainá.
AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DA EXPRESSÃO DE RECEPTOR DE ESTRÓGENO
NO CARCINOMA DIFERENCIADO DE TIREOIDE. / Tainá Vasconcelos. – 2018.
68 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Patologia, Fortaleza, 2018.

Orientação: Prof. Dr. Manoel Ricardo Alves Martins.

Coorientação: Prof. Dr. Paulo Roberto Carvalho de Almeida.

1. Câncer diferenciado de tireoide. 2. Estrógeno. 3. Metástase. I. Título.

CDD 571.9

TAINÁ OSTERNO VASCONCELOS CUNHA

AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DA EXPRESSÃO DE RECEPTOR DE
ESTRÓGENO β NO CARCINOMA DIFERENCIADO DE TIREOIDE.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Patologia. Área de concentração: Medicina II.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Manoel Ricardo Alves Martins (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. João Roberto Maciel Martins
Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP)

Prof^ª. Dr^ª. Ana Paula Negreiros Nunes Alves
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dr^ª. Margarida Maria de Lima Pompeu
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus pais, Sidney e Carmem.

Ao meu marido, Evandro.

E a minha amada filha, Athina.

AGRADECIMENTOS

À Deus por me dar saúde e força para que eu chegasse até aqui.

Ao Prof. Dr. Manoel Ricardo Alves Martins pela excelente orientação, dedicação e disposição de me ajudar no que fosse necessário.

Ao Prof. Dr. Paulo Roberto Carvalho de Almeida pela excelente co-orientação, valiosas sugestões, tempo e dedicação dispensados ao meu trabalho.

Aos professores participantes das bancas examinadoras Prof^ª. Dr^ª. Ana Paula Negreiros Nunes Alves, Prof^ª. Dr^ª. Margarida Maria de Lima Pompeu, Prof. Dr. João Roberto Maciel Martins, Prof^ª. Dr^ª. Maria Cecília Martins Costa pelo tempo dispensado em meu trabalho, pelas valiosas colaborações e sugestões.

Aos professores do departamento de patologia e medicina legal da UFC, que contribuíram para a minha formação.

Aos funcionários do DPML-UFC, em especial à Valéria Cordeiro, por sua dedicação e humanismo, fazendo de tudo para nos ajudar.

Aos colegas do grupo de pesquisa da Endocrinologia, pelas críticas e sugestões e pela ajuda constante durante todo o desenvolvimento desse trabalho.

Aos colegas da turma de mestrado, pelas reflexões, críticas e sugestões recebidas.

Aos meus pais, Sidney e Carmem, que sempre estiveram ao meu lado me apoiando em minhas decisões e acreditando em meu potencial.

Ao meu marido, Evandro, por toda ajuda, paciência, compreensão, amor e companheirismo.

A minha filha, Athina, por todo amor, carinho, compreensão e paciência.

Aos meus irmãos e cunhadas, Jansen, Thiara, Levi e Rebeca, por todo apoio.

Aos meus amigos e familiares que me ajudaram direta e indiretamente.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”

Arthur Schopenhauer

RESUMO

O câncer diferenciado de tireoide (CDT) é uma das neoplasias mais prevalentes e sua incidência tem aumentado nas últimas décadas. A maior incidência do CDT em mulheres na idade fértil sugere um possível envolvimento de fatores hormonais na sua fisiopatologia. O estrogênio influencia a proliferação de células neoplásicas através da ativação de seus receptores alfa ($RE\alpha$) e beta ($RE\beta$). O $RE\alpha$ promove a proliferação celular ao reduzir a apoptose, enquanto o $RE\beta$ tem efeito contrário. A relação entre a presença desses receptores no CDT e o comportamento tumoral é pouco conhecida. O presente estudo quantificou a expressão de receptores de estrogênio β no CDT e em tecido tireoidiano normal de pacientes de ambos os sexos, através de imuno-histoquímica, e testou a associação dessa expressão com características clínicas e tumorais. Foram analisados 79 tumores provenientes de 77 pacientes, dos quais 13 tiveram o tecido tireoidiano normal analisado. A expressão de $RE\beta$ foi positiva em 67% (53/79) dos tumores e em apenas 8% (1/13) dos tecidos tireoidianos normais ($p=0,002$). A expressão de $RE\beta$ esteve associada a risco maior de metástase linfonodal (84% vs 33%, $p=0,007$) e tendência a risco maior de metástase à distância (21% vs 0%, $p=0,14$). Não houve associação entre a expressão de $RE\beta$ e outras características clínicas e tumorais, incluindo idade (<55 anos 70% vs. ≥ 55 anos 63%, $p=0,53$), tamanho do tumor (≤ 1 cm 59% vs. > 1 cm 70%, $p=0,35$), tipo histológico (papilífero 68% vs. folicular 50%, $p=0,59$), variantes (clássica 68% vs. não clássica 74%, $p=0,63$), invasão de cápsula (ausência 69% vs. presença 64%, $p=0,69$) e invasão linfática (ausência 66% vs. presença 69%, $p=0,77$). Nossos dados sugerem que a expressão do $RE\beta$ no CDT pode favorecer a capacidade metastática das células tumorais tireoidianas.

Palavras-chave: Câncer diferenciado de tireoide. Estrogênio. Metástase.

ABSTRACT

Differentiated thyroid cancer (DTC) is one of the most prevalent neoplasms and its incidence has increased in the last decades. The higher incidence of DTC in women of childbearing age suggests a possible involvement of hormonal factors in their pathophysiology. Estrogen influences the proliferation of neoplastic cells through the activation of its alpha (RE α) and beta (RE β) receptors. RE α promotes cell proliferation by reducing apoptosis, whereas RE β has the opposite effect. The relationship between the presence of these receptors in the DTC and the tumor behavior is unclear. The present study quantified the expression of β -estrogen receptors in DTC and normal thyroid tissue of patients of both sexes by immunohistochemistry and tested the association of this expression with clinical and tumor characteristics. We analyzed 79 tumors from 77 patients, of which 13 also had normal thyroid tissue analyzed. RE β expression was positive in 67% (53/79) of the tumors and in only 8% (1/13) of the normal thyroid tissues (p=0.002). RE β expression was associated with a higher risk of lymph node metastasis (84% vs 33%, p=0.007) and tendency to a greater risk of distant metastasis (21% vs 0%, p=0.14). No association between RE β expression and other clinical and tumor characteristics was found, including age (<55 years 70% vs. \geq 55 years 63%, p=0.53), tumor size (\leq 1cm 59% vs. > 1cm 70% , p=0.35), histological type (papillary 68% vs. follicular 50%, p=0.59), variants (classical 68% vs. nonclassical 74%, p=0.63), capsule invasion 64%, p=0.69) and lymphatic invasion (absence 66% vs. presence 69%, p=0.77). Our data suggest that RE β expression in DTC may favor the metastatic capacity of thyroid tumor cells.

Keywords: Differentiated thyroid cancer. Estrogen. Metastasis.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Principais achados associados à malignidade no exame físico.....	18
Quadro 2 – Classificação sistema Bethesda para laudos citopatológicos de tireoide.....	23
Quadro 3 – Categorias e critérios T para tumor primário de CDT de acordo com classificação TNM.....	26
Quadro 4 – Categorias e critérios N para tumor primário de CDT de acordo com classificação TNM.....	27
Quadro 5 – Categorias e critérios M para tumor primário de CDT de acordo com classificação TNM.....	27
Quadro 6 – Estadiamento pós-operatório de acordo com classificação TNM.....	28
Quadro 7 – Principais estudos de RE β em carcinoma diferenciado de tireoide e tecido normal.....	32
Quadro 8 – Classificação dos resultados da imunoexpressão de RE β de acordo com o percentual de células marcadas.....	39

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição proporcional dos tipos de câncer mais incidentes no Brasil estimados para o ano de 2016.....	19
Figura 2 – Indicações de PAAF em pacientes com nódulo tireoidiano.....	23
Figura 3 – Abordagem de tratamento do paciente com nódulo tireoidiano segundo PAAF.....	24
Figura 4 – Vias de sinalização genômica e não genômica dependentes de estrógeno	31
Figura 5 – Demonstração de síntese de blocos <i>Tissue Microarray</i>	35
Figura 6 – Controles positivo e negativo de RE β utilizados no estudo.....	36
Figura 7 – Reação <i>Dako PT Link</i> [®] para recuperação antigênica.....	37
Figura 8 – Metodologia para análise imuno-histoquímica.....	38
Figura 9 – Grau de marcação da imunexpressão de RE β de acordo com o percentual de células marcadas.....	40
Figura 10 – Comparação ilustrativa do mesmo paciente com análise do tecido tireoidiano normal e neoplásico.....	49

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Comparação entre a expressão de RE β e a presença de metástase linfonodal.....	45
Gráfico 2 – Expressão de RE β em tecido neoplásico e normal do mesmo indivíduo.....	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Idade, tamanho tumoral, tempo de acompanhamento e dose radioterapia de pacientes com carcinoma diferenciado de tireoide.....	42
Tabela 2	– Tipos histológicos dos casos de carcinoma diferenciado de tireoide analisados.....	43
Tabela 3	– Tumores primários de acordo com 8ª edição da classificação TNM.....	44
Tabela 4	– Imunoexpressão de receptor de estrógeno β em carcinoma diferenciado de tireoide.....	46
Tabela 5	– Imunoexpressão de RE β em tumores primários de acordo com 8ª edição da classificação TNM.....	47
Tabela 6	– Percentual de positividade de expressão de RE β em tecido tireoidiano normal e neoplásico do mesmo indivíduo.....	49
Tabela 7	– Comparação entre características clínicas e tumorais e tamanho tumoral....	50
Tabela 8	– Comparação entre características clínicas e tumorais e a idade dos pacientes.....	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

16-OHE1	16 α -hidroxiestrone
2-OHE1	2-hidroxiestrone
CDT	Carcinoma Diferenciado de Tireoide
CEA	Antígeno Carcinoembrionário
CFT	Carcinoma Folicular de Tireoide
CPT	Carcinoma Papilífero de Tireoide
DPML	Departamento de Patologia e Medicina Legal
E1	Estrone
E2	17 β -estradiol
E3	Estriol
EUA	Estados Unidos da América
FN	Falso Negativo
FP	Falso Positivo
HE	Hematoxilina e Eosina
HUWC	Hospital Universitário Walter Cantídio
IHQ	Imuno-histoquímica
INCA	Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva
PAAF	Punção Aspirativa com Agulha Fina
RE β	Receptor de Estrógeno β
REm	Receptor de Estrógeno membrana
RIT	Radioiodoterapia
T3	Triiodotironina
T4	Tiroxina
TG	Tireoglobulina
TMA	<i>Tissue Microarray</i>
TSH	Hormônio Estimulante da Tireoide
UFC	Universidade Federal do Ceará
US	Ultrassonografia

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
%	Porcentagem
®	Marca Registrada
\geq	Maior ou igual
\leq	Menor ou igual
\pm	Mais ou menos

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
1.1	Tireoide e nódulos tireoidianos	18
<i>1.1.1</i>	<i>Epidemiologia</i>	18
<i>1.1.2</i>	<i>Classificação dos tumores tireoidianos</i>	20
<i>1.1.3</i>	<i>Diagnóstico</i>	21
<i>1.1.3.1</i>	<i>Ultrassonografia</i>	21
<i>1.1.3.2</i>	<i>Cintilografia com isótopos</i>	21
<i>1.1.3.3</i>	<i>Punção Aspirativa por Agulha Fina (PAAF)</i>	22
<i>1.1.4</i>	<i>Tratamento</i>	24
<i>1.1.5</i>	<i>Estadiamento</i>	25
<i>1.1.5</i>	<i>Marcadores moleculares</i>	28
1.2	Receptor de estrógeno	29
<i>1.2.1</i>	<i>Relação entre estrógeno e o câncer de tireoide</i>	29
2	OBJETIVOS	33
2.1	Objetivo geral	33
2.2	Objetivos específicos	33
3	MATERIAIS E MÉTODOS	34
3.1	Desenho do estudo	34
3.2	Aspectos éticos	34
3.3	Seleção de amostra	34
<i>3.3.1</i>	<i>Critérios de inclusão</i>	34
<i>3.3.2</i>	<i>Critérios de exclusão</i>	34
3.4	Análise das amostras histológicas	34
<i>3.4.1</i>	<i>Tissue microarray</i>	34
<i>3.4.2</i>	Controles	36
<i>3.4.2.1</i>	<i>Controle positivo</i>	36
<i>3.4.2.2</i>	<i>Controle negativo</i>	36
<i>3.4.3</i>	<i>Imuno-histoquímica</i>	37
3.5	Dados clínicos e patológicos	40
3.6	Análise estatística	41
4	RESULTADOS	42

4.1	Variáveis clínicas e tumorais.....	42
4.2	Imunoexpressão de receptor de estrógeno β em CDT.....	45
4.3	Comparação entre a imunoexpressão de receptor de estrógeno β em tecido neoplásico e normal.....	48
4.4	Comparação entre características clínicas e tumorais e tamanho tumoral.....	50
4.5	Comparação entre características clínicas e tumorais e a idade dos pacientes.....	51
5	DISCUSSÃO.....	52
5.1	Estrógeno e potencial metastático.....	52
5.2	Expressão de RE β em tecido neoplásico e normal.....	53
5.3	Variáveis clínicas e tumorais.....	54
5.4	Tamanho tumoral.....	55
5.5	Limitações do estudo.....	55
6	CONCLUSÃO.....	56
	REFERÊNCIAS	57
	APÊNDICE I.....	63

1 INTRODUÇÃO

1.1 Tireoide e nódulos tireoidianos

A glândula tireoide é um dos maiores órgãos do sistema endócrino, pesando, aproximadamente, 15 a 20g em adultos saudáveis. Está localizada na região cervical anterior e constitui-se por dois lobos unidos por uma fina faixa de tecido denominada istmo. É responsável pela produção dos hormônios tireoidianos, T3 (triiodotironina) e T4 (tiroxina), fundamentais para regulação do metabolismo basal (Melmed *et al.*, 2015).

A presença de nódulos nessa glândula é bastante comum, cerca de 67% da população possui nódulo tireoidiano quando avaliado por ultrassonografia (Guth *et al.*, 2009). A maioria desses são lesões benignas, porém 5 a 10% tratam-se de neoplasias malignas (Rosário *et al.*, 2013). Por isso, é de grande relevância o manejo dos pacientes com nódulo tireoidiano, no intuito de distinguir entre lesões benignas e malignas. O Quadro 1 apresenta os principais achados associados à malignidade no exame físico (Bomeli *et al.*, 2010).

Quadro 1. Principais achados associados à malignidade no exame físico.

Principais achados associados à malignidade no exame físico.
Nódulos maiores que 4 cm
Firmeza à palpação
Fixação do nódulo aos tecidos adjacentes
Linfadenopatia cervical
Imobilidade das pregas vocais

Fonte: Adaptado de (Bomeli *et al.*, 2010).

1.1.1 Epidemiologia

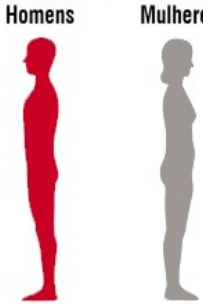
O carcinoma de tireoide é a neoplasia mais comum do sistema endócrino (Melmed *et al.*, 2015). Ao longo dos anos a incidência aumentou consideravelmente, passando de 4.9 por 100 mil habitantes em 1975 e chegando à 14.3 por 100 mil habitantes em 2002. Em contrapartida, a mortalidade global permanece estável, 98% de sobrevida em 5 anos no período de 2006 a 2012 (Davies e Welch, 2014).

Nos Estados Unidos, aproximadamente 63 mil novos casos foram previstos para serem diagnosticados em 2014, um aumento bastante expressivo quando comparado com apenas 37 mil casos previstos em 2009 (Siegel *et al.*, 2014).

Pode-se verificar na Figura 1 que essa neoplasia é a oitava mais incidente em indivíduos do sexo feminino no Brasil. Segundo o INCA (Instituto nacional de câncer José Alencar Gomes da Silva), em 2016, surgiram 5870 novos casos de câncer de tireoide em mulheres (risco estimado de 5,70 casos a cada 100 mil indivíduos do sexo feminino) e 1090 novos casos em homens (risco estimado de 1,08 casos a cada 100 mil indivíduos do sexo masculino) (INCA, 2016).

Esse aumento na incidência e mortalidade estável sugere uma maior detecção de doença subclínica, devido à modernização dos equipamentos de imagem, contribuindo para o diagnóstico de nódulos pequenos e não palpáveis. Visto que 25% das neoplasias tireoidianas diagnosticadas entre 1988 e 1989 eram ≤ 1 cm, comparado com 39% dos novos diagnósticos com dimensão semelhante dessa neoplasia em 2008-2009 (Leenhardt *et al.*, 2004; Davies e Welch, 2014).

Figura 1 - Distribuição proporcional dos tipos de câncer mais incidentes no Brasil estimados para o ano de 2016.

Localização primária	casos novos	%			Localização primária	casos novos	%
Próstata	61.200	28,6%			Mama Feminina	57.960	28,1%
Traqueia, Brônquio e Pulmão	17.330	8,1%		Cólon e Reto	17.620	8,6%	
Cólon e Reto	16.660	7,8%		Colo do Útero	16.340	7,9%	
Estômago	12.920	6,0%		Traqueia, Brônquio e Pulmão	10.890	5,3%	
Cavidade Oral	11.140	5,2%		Estômago	7.600	3,7%	
Esôfago	7.950	3,7%		Corpo do Útero	6.950	3,4%	
Bexiga	7.200	3,4%		Ovário	6.150	3,0%	
Laringe	6.360	3,0%		Glândula Tireoide	5.870	2,9%	
Leucemias	5.540	2,6%		Linfoma não Hodgkin	5.030	2,4%	
Sistema Nervoso Central	5.440	2,5%		Sistema Nervoso Central	4.830	2,3%	

Fonte: (INCA, 2016)

1.1.2 Classificação dos tumores tireoidianos

O carcinoma diferenciado de tireoide (CDT) representa cerca de 90% de todas as neoplasias tireoidianas. Fazem parte desse grupo os Carcinomas Papilífero (CPT) e Carcinomas Foliculares (CFT) derivados de células foliculares. Embora o manejo desses tumores tenham muitas semelhanças, existem importantes diferenças diagnósticas, terapêuticas e prognósticas entre esses dois tipos de tumores (Lang *et al.*, 2007; Sipos e Mazzaferri, 2010).

O CPT é considerado a neoplasia tireoidiana mais comum, constitui 50% a 90% de todos os CDT. Apresenta-se firme, não encapsulado ou parcialmente encapsulado. É caracterizado histologicamente devido a formação de papilas e por um conjunto de alterações nucleares. A presença de necrose e altas taxas de mitose, pouco frequentes no CPT, são associadas a um comportamento agressivo semelhante ao carcinoma anaplásico de tireoide (Melmed *et al.*, 2015).

São exemplos de subtipos de carcinoma papilífero a variante clássica, folicular, esclerosante difusa, colunar e de células altas. Dessas, as variantes colunar e de células altas são as que apresentam maior agressividade (Melmed *et al.*, 2015).

O CFT constitui 5% a 50% dos CDT e são mais comuns em áreas com deficiência de iodo. É caracterizado histologicamente por folículos bem formados, presença de invasão de cápsula, vasos sanguíneos e/ou invasão do tecido tireoidiano adjacente. Apresenta alguns subtipos histológicos, como o carcinoma folicular invasivo, minimamente invasivo, CFT de células claras e o tumor classificado como de células de Hürthle ou células oxifílicas (Melmed *et al.*, 2015).

Além do carcinoma diferenciado, também existe o carcinoma medular, um tumor proveniente de células C da tireoide que normalmente secreta calcitonina e antígeno carcinoembrionário (CEA), e o carcinoma anaplásico ou indiferenciado, que normalmente surge a partir do CDT e possui um pior prognóstico (Sherma, 2003; Sipos e Mazzaferri, 2010).

Em estudo realizado com mais de 15 mil pacientes, nos Estados Unidos (EUA), foi verificado que a sobrevida dos pacientes com neoplasia tireoidiana varia acentuadamente de acordo com o tipo histológico do tumor. Os pacientes com carcinoma papilífero apresentaram maior sobrevida relativa de 10 anos, seguidos por carcinoma folicular,

carcinoma medular e os tumores anaplásicos. O estadiamento e estado de diferenciação do tumor ao diagnóstico foram fortes fatores de pior prognóstico independentemente do tipo histológico (Gilliland *et al.*, 1997).

1.1.3 Diagnóstico

1.1.3.1 Ultrassonografia

A ultrassonografia (US) é o método de imagem mais utilizado no diagnóstico de nódulos tireoidianos, possui sensibilidade de aproximadamente 95%, superando métodos mais sofisticados como a ressonância magnética e a tomografia computadorizada (Hegedüs, 2001; Rosário *et al.*, 2013).

É capaz de identificar nódulos bem pequenos que não seriam detectados por exame físico, a presença de múltiplos nódulos, linfadenopatia central ou lateral do pescoço. Além disso, fornece medições precisas do diâmetro do nódulo para seu monitoramento (Bomeli *et al.*, 2010). É uma ferramenta importante na seleção do local para realização da punção aspirativa por agulha fina (PAAF) (Papini *et al.*, 2002).

Além disso, permite a caracterização dos nódulos tireoidianos. Alguns achados na US são associados a maior risco de malignidade, tais como hipocogenicidade (aparência sólida), microcalcificação, vascularização, margens irregulares e encontro de linfonodos cervicais com características suspeitas (Rosário *et al.*, 2013; Alexander *et al.*, 2016). Porém, os achados da US isoladamente não permitem a distinção entre lesões benignas e malignas (Rosário *et al.*, 2013).

1.1.3.2 Cintilografia com isótopos

A cintilografia com isótopos tem o objetivo de analisar a funcionalidade do nódulo tireoidiano. Esse procedimento deve ser realizado com iodo radioativo (^{131}I ou ^{123}I) ou $^{99\text{m}}\text{Tc}$ pertecnetado (Bomeli *et al.*, 2010; Rosário *et al.*, 2013). Sendo preferível a utilização do iodo radioativo, uma vez que algumas amostras aparentemente hipercaptantes quando analisadas com $^{99\text{m}}\text{Tc}$, apresentam-se hipocaptantes com iodo radioativo (Shambaugh *et al.*, 1974).

A cintilografia é indicada na suspeita de nódulo funcionante (indivíduos com TSH normal baixo ou diminuído) ou quando a citologia seja sugestiva de lesão folicular (Rosário *et al.*, 2010). A partir da análise por cintilografia, os nódulos tireoidianos podem ser classificados como hipercaptante (nódulo quente) ou hipocaptante (nódulo frio). Os nódulos hipocaptantes sugerem malignidade (Melmed *et al.*, 2015).

Aproximadamente 80% dos nódulos da tireoide apresentam-se frios, desses 10% representam malignidade, enquanto apenas 5% de todos os nódulos são classificados como quentes e a probabilidade de malignidade é inferior a 1% para esses nódulos. (Bomeli *et al.*, 2010).

Outros métodos diagnósticos devem ser utilizados, uma vez que a sensibilidade diagnóstica da cintilografia para câncer de tireoide é de aproximadamente 90%, a especificidade é de 5% e o valor preditivo positivo de malignidade é de apenas 10% (Cases e Surks, 2000).

1.1.3.3 Punção Aspirativa por Agulha Fina (PAAF)

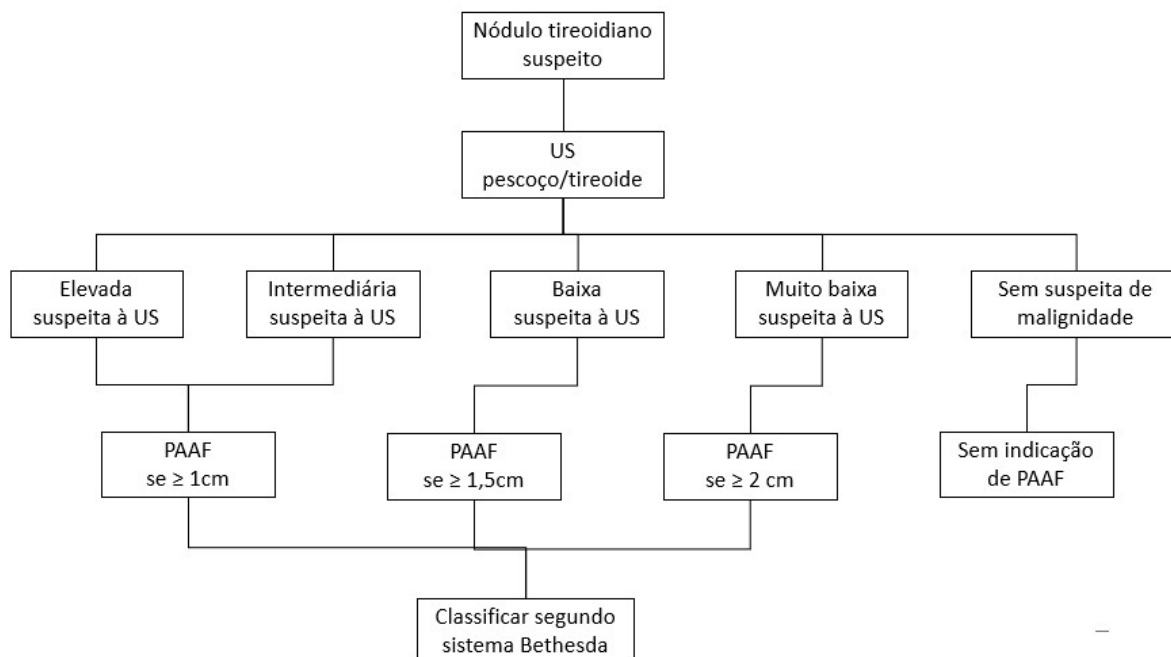
É a etapa mais importante no manejo da doença tireoidiana nodular é a PAAF. Trata-se de um método de baixo custo, fácil execução e com reduzido risco de complicações (Bomeli *et al.*, 2010).

O exame citológico realizado a partir da PAAF apresenta especificidade e sensibilidade diagnóstica de 99% e 93%, respectivamente. Desse modo, é considerada a melhor técnica para distinguir lesões benignas e malignas (Abu-Salem, 2002; Hegedüs, 2004).

Esse tipo de aspiração pode ser realizado com ou sem orientação por imagem. Porém, é aconselhável a PAAF guiado por US, devido a melhor visualização e seleção do local a ser puncionado, diminuindo a ocorrência de resultado falso negativo (Danese *et al.*, 1998).

A PAAF é indicada em nódulos de acordo com a história clínica do indivíduo, o tamanho do nódulo, funcionalidade e os achados ultrassonográficos (Figura 2) (Rosário *et al.*, 2013; Alexander *et al.*, 2016).

Figura 2. Indicações de PAAF em pacientes com nódulo tireoidiano.



Fonte: Adaptado de (Alexander *et al.*, 2016)

Após realizada a aspiração do nódulo tireoidiano, o material é encaminhado para análise citopatológica e classificada segundo sistema Bethesda (Quadro 2) (Cibas e Ali, 2009).

Quadro 2. Classificação sistema Bethesda para laudos citopatológicos de tireoide.

Categoria diagnóstica	Resultado citológico	Risco de malignidade, %
I	Amostra não diagnóstica/ Insatisfatória	1-4
II	Benigno	0-3
III	Atipias/Lesão folicular de significado indeterminado	5-15
IV	Neoplasia Folicular/ Suspeito para neoplasia folicular	15-30
V	Suspeito de malignidade	60-75
VI	Maligno	97-99

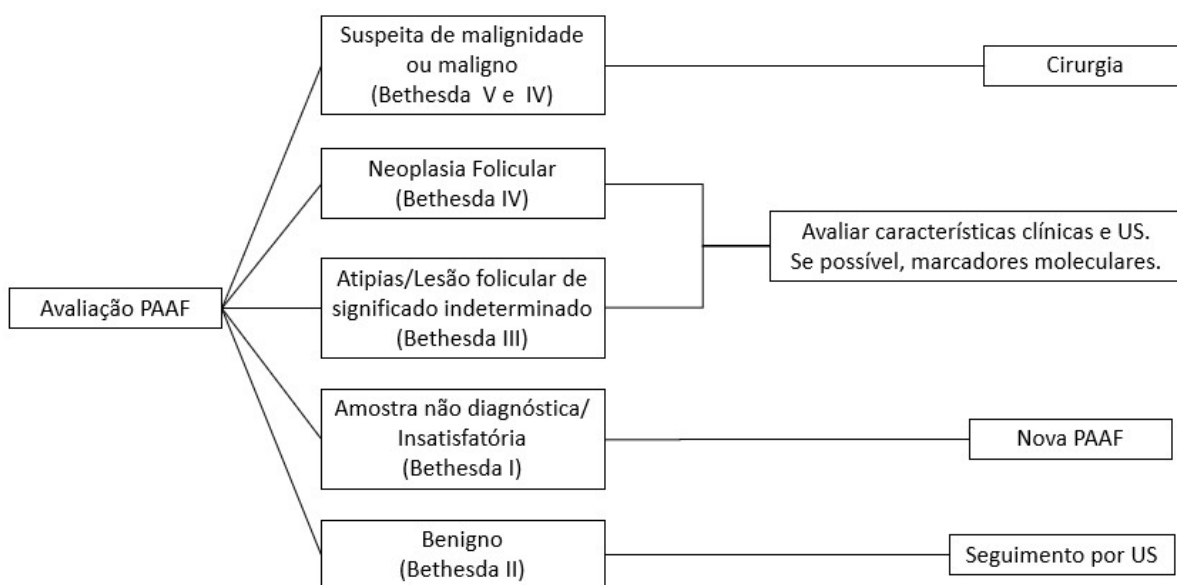
Fonte: Adaptado de (Cibas e Ali, 2009).

1.1.4 Tratamento

A escolha do tratamento do nódulo tireoidiano baseia-se no resultado dos exames realizados (Figura 3). Após diagnóstico de CDT, o tratamento mais indicado é a retirada do carcinoma por meio de cirurgia total ou parcial da tireoide. A lobectomia, retirada de um dos lobos da tireoide, é indicada em doença nodular unilateral se nódulo ≤ 4 cm, laudo citológico indeterminado, baixa suspeita clínica e ultrassonográfica de malignidade (Rosário *et al.*, 2013).

A tireoidectomia total é recomendada em casos de doença nodular bilateral, quando está associada à radiação, laudo citológico com suspeita de malignidade, citologia indeterminada com nódulo > 4 cm ou nódulo ≤ 4 cm com forte suspeita clínica ou ultrassonográfica (Rosário *et al.*, 2013). A retirada total da tireoide facilita a ablação remanescente pós-operatória com ^{131}I e facilita a detecção de recorrência da neoplasia (Melmed *et al.*, 2015).

Figura 3. Abordagem de tratamento do paciente com nódulo tireoidiano segundo PAAF.



Fonte: Adaptado de (Alexander *et al.*, 2016)

A ablação pós-operatória com ^{131}I é indicada para indivíduos com alto ou intermediário risco de recidiva tumoral e, em indivíduos de baixo risco, a terapia com ^{131}I é dispensada quando apresentam tireoglobulina (TG) estimulada ≤ 1 ng/ml após a cirurgia e US pós-operatória sem anormalidades (Rosário *et al.*, 2013; Alexander *et al.*, 2016).

Em pacientes de baixo risco ou de risco intermediário com características de menor risco (Metástases nodais no pescoço de baixo volume com nenhuma outra doença residual bruta conhecida ou qualquer outra característica indicativa pior prognóstico) é indicado a terapia de iodo radioativo em doses de 30 mCi de ^{131}I . Em indivíduos com risco intermediário com características de maior risco ou os pacientes de alto risco, é indicado a administração de doses até 150 mCi de ^{131}I . Não se sabe se o uso rotineiro de doses >150 mCi para esses casos reduzirá a recorrência da doença (Alexander *et al.*, 2016).

1.1.5 Estadiamento

A classificação TNM baseia-se no tamanho tumoral, invasão extra tireoidiana, metástases de linfonodos e a distância. Há a categorização do tumor de acordo com critérios pré-estabelecidos de acordo com os quadros 3, 4 e 5. Após essa classificação é realizado o estadiamento de cada indivíduo (Quadro 6) (Tuttle *et al.*, 2017).

O estadiamento pós-operatório criado pela *American Joint Committee on Cancer/International Union against Cancer (AJCC/UICC)* é amplamente utilizado no intuito de estimar o risco de mortalidade, determinar o risco de recorrência, avaliar o sucesso da cirurgia realizada e auxiliar na escolha do tratamento pós-operatório (Tuttle *et al.*, 2017).

Apesar de amplamente utilizado, esse sistema possui limitada capacidade de prever persistência e recorrência desses tumores, sendo mais utilizado para avaliar a mortalidade relacionada à doença (Rosário *et al.*, 2013; Alexander *et al.*, 2016).

Quadro 3. Categorias e critérios T para tumor primário de CDT de acordo com classificação TNM.

Categorias T	Crítérios T
TX	Tumor primário não pode ser avaliado
T0	Sem evidência de tumor primário
T1	Tumor ≤ 2 cm em sua maior dimensão, limitado a tireoide
T1a	Tumor ≤ 1 cm em sua maior dimensão, limitado a tireoide
T1b	Tumor > 1 e ≤ 2 cm em sua maior dimensão, limitado a tireoide
T2	Tumor > 2 e ≤ 4 cm em sua maior dimensão, limitado a tireoide
T3	Tumor > 4 em sua maior dimensão, limitado a tireoide ou invasão macroscópica extratireoidiana acometendo apenas os músculos infra-hioideos.
T3a	Tumor > 4 em sua maior dimensão, limitado a tireoide
T3b	Invasão macroscópica extratireoidiana acometendo apenas os músculos infra-hioideos de tumor de qualquer tamanho.
T4	Invasão macroscópica extratireoidiana acometendo estruturas do pescoço.
T4a	Invasão macroscópica tumoral em tecido mole subcutâneo, laringe, traqueia, esôfago ou nervo laríngeo recorrente de tumor de qualquer tamanho.
T4b	Invasão macroscópica tumoral na fáscia pré-vertebral ou em artéria carótida e vasos mediastinais de tumor de qualquer tamanho.

Fonte: adaptado de (Tuttle *et al.*, 2017)

Quadro 4. Categorias e critérios N para tumor primário de CDT de acordo com classificação TNM.

Categorias N	Crítérios N
NX	Linfonodo regional não pode ser avaliado
N0	Sem evidências de metástase em linfonodo regional
N0a	Um ou mais evidências citológica ou histológica confirmando linfonodo benigno.
N0b	Sem evidência clínica ou radiológica de metástase em linfonodo regional.
N1	Metástase em linfonodo regional
N1a	Metástase nível VI ou VII (pré-traqueal, paratraqueal e pré-laríngea) em linfonodos. Podendo ser doença unilateral ou bilateral.
N1b	Metástase unilateral, bilateral ou colateral em linfonodo do pescoço (Nível I, II, III, IV ou V) ou em retrofaringe.

Fonte: adaptado de (Tuttle *et al.*, 2017)

Quadro 5. Categorias e critérios M para tumor primário de CDT de acordo com classificação TNM.

Categorias M	Crítérios M
M0	Ausência de metástase distante
M1	Metástase distante

Fonte: adaptado de (Tuttle *et al.*, 2017)

Quadro 6. Estadiamento pós-operatório de CDT de acordo com classificação TNM

Estadiamento	Idade	T	N	M
I	< 55 anos	Qualquer T	Qualquer N	M0
II		Qualquer T	Qualquer N	M1
I	≥ 55 anos	T1	N0/NX	M0
II		T1	N1	M0
I		T2	N0/NX	M0
II		T2	N1	M0
II		T3a/T3b	Qualquer N	M0
III		T4a	Qualquer N	M0
IVA		T4b	Qualquer N	M0
IVB		Qualquer T	Qualquer N	M1

Fonte: adaptado de (Tuttle *et al.*, 2017)

1.1.5 Marcadores moleculares

A intervenção cirúrgica é comumente recomendada para nódulos com resultado de citologia indeterminado (Bethesda III e IV), embora a maioria dos pacientes tenham uma doença benigna. Para evitar cirurgias desnecessárias, evitando expor o indivíduos a riscos desnecessários e um excessivo gasto em serviços de saúde, estudos visando a descoberta, desenvolvimento e validação de testes diagnósticos alternativos são necessários (Melmed *et al.*, 2015).

Marcadores como HBME, galectina-3, e TPO podem ser utilizados como complemento para nódulos tireoidianos indeterminados (Faroux *et al.*, 1997; Saggiorato *et al.*, 2005; Bartolazzi *et al.*, 2008; Franco *et al.*, 2009; Fadda *et al.*, 2011). Mais recentemente, uma série de 17 mutações ou translocações de genes como o BRAF, RAS, RET/PTC e PAX8/PPAR γ também estão sendo estudados para detectar malignidade nos nódulos tireoidianos (Nikiforov *et al.*, 2009; Cantara *et al.*, 2010; Moses *et al.*, 2010; Nikiforov *et al.*, 2011).

1.2 Receptor de estrogênio

Estrógeno é um hormônio esteroide que desempenha um papel fundamental na regulação não só do crescimento, diferenciação e função dos órgãos reprodutivos, mas também do sistema cardiovascular e imune de mulheres e homens (Heldring *et al.*, 2007).

O estrogênio consiste em um grupo de três hormônios bioquimicamente distintos, estrona (E1), 17 β -estradiol (E2) e estriol (E3), que são produzidos naturalmente pelo corpo e são metabolizados em 2-hidroxiestrona (2-OHE1) e 16 α -hidroxiestrona (16-OHE1) (Lord *et al.*, 2002). Esses metabólitos têm capacidade estrogênica mais forte (16-OHE1) ou mais fraca (2-OHE1) e sua concentração relativa nas mulheres pode aumentar o risco de câncer de mama, útero entre outros (Rajoria *et al.*, 2012).

Para desempenhar suas funções o estrogênio liga-se a receptores específicos. O 17 β -estradiol (E2) é o mais potente no corpo humano, devido à sua maior afinidade por receptores de estrogênio (Kuiper *et al.*, 1997; Heldring *et al.*, 2007).

A presença de receptores de estrogênio na tireoide foi relatada pela primeira vez no início dos anos 80 (Molteni *et al.*, 1981), desde então diversos grupos têm demonstrado a presença desses receptores em tecido normal, neoplásico maligno e benigno (Vaiman *et al.*, 2010; Magri *et al.*, 2012; Heikkila *et al.*, 2013; Huang *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2014; Ahn *et al.*, 2015; Magri *et al.*, 2015).

Os receptores de estrogênio estão localizados no núcleo e são capazes de traduzir sinais extracelulares em respostas transcricionais (Levin, 2001). Esse receptores são sintetizados em muitos tipos de células como duas formas de proteína, o RE α e RE β , oriundos de diferentes genes (Greene *et al.*, 1984; Mosselman *et al.*, 1996).

1.2.1 Relação entre estrogênio e o câncer de tireoide

Os tumores tireoidianos são 3-4 vezes mais prevalentes em mulheres (Dean e Gharib, 2008; Li *et al.*, 2013; Moleti *et al.*, 2017). Sabe-se que em crianças pré-púberes o câncer de tireoide ocorre na mesma proporção em relação ao sexo, porém com o início da puberdade, a incidência aumenta 14 vezes no sexo feminino e após a menopausa, a incidência diminui novamente (Farahati *et al.*, 1997; Li *et al.*, 2013).

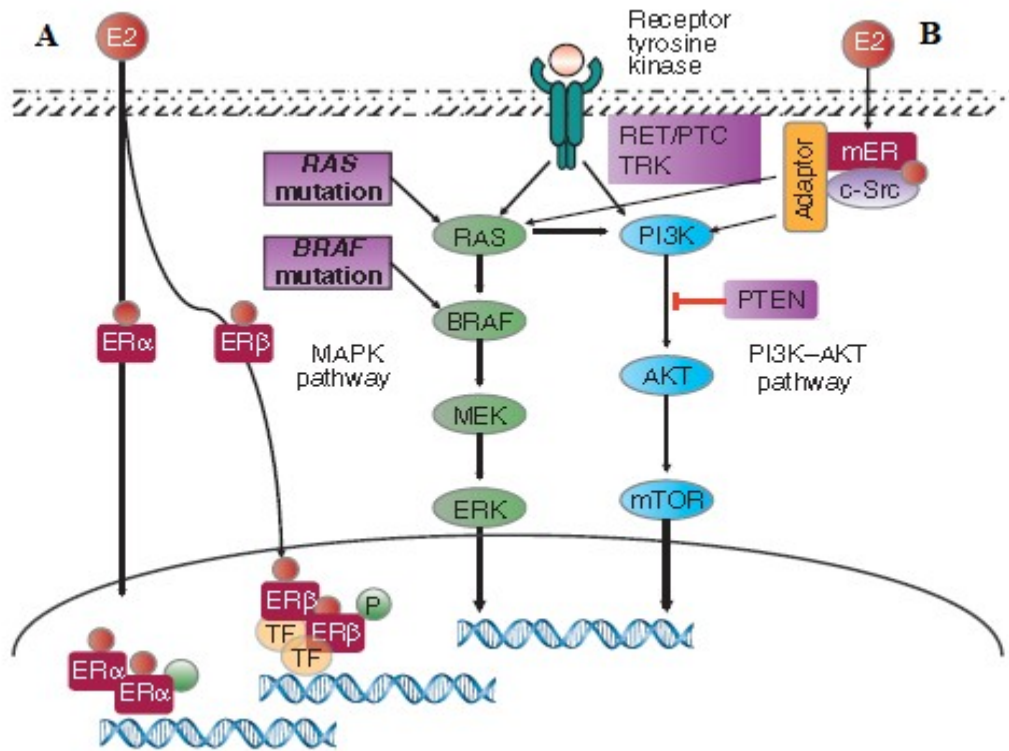
Estudos mostram que a gravidez está associada a um maior risco ao desenvolvimento de neoplasia tireoidiana (Rossing *et al.*, 2000; Sakoda e Horn-Ross, 2002; Horn-Ross *et al.*, 2011). Em contraste, o uso de contraceptivos orais e o tratamento de reposição hormonal não aumentam o risco de câncer de tireoide (Kabat *et al.*, 2012).

Devido à maior incidência de neoplasia tireoidiana em mulheres em idade reprodutiva, acredita-se que o estrógeno pode estar envolvido na patogênese do câncer de tireoide.

A ação do estrógeno ocorre por 2 vias (Figura 4), uma genômica e a outra não genômica (Nilsson *et al.*, 2001). A via genômica é mediada a partir dos receptores estrogênicos α e β , que são receptores membros da família de fatores de transcrição nuclear Bcl-2. Para a ativação da via genômica, o estrógeno entra na célula e liga-se aos receptores RE α e RE β , formando um complexo que sofre uma translocação nuclear, homo ou heterodimerização e se liga a um elemento responsivo ao estrógeno na região promotora de diferentes genes alvo (Nilsson *et al.*, 2001). A sinalização não genômica ocorre por meio do receptor de estrógeno associado à membrana (REm), o qual estimula a ativação de MAP quinase e as vias de sinalização da PI3K, cuja atividade nas células tumorais da tireoide é principalmente controlada por fatores de crescimento (Nilsson *et al.*, 2001).

No câncer, pode ocorrer ativação aberrante dessas vias de tirosina quinase por rearranjo cromossômico do receptor TRK de tirosina quinase, por rearranjo RET/PTC, por mutação do *BRAF* ou *RAS* (Ciampi e Nikiforov, 2007). Além disso, a via PI3K/AKT também pode ser ativada por inativação mutacional ou diminuída do *PTEN*, um gene supressor tumoral (Bruni *et al.*, 2000).

Figura 4. Vias de sinalização genômica e não genômica dependente de estrógeno.



A ação do estrógeno ocorre por 2 vias, genômica e não genômica. A via genômica é mediada a partir dos receptores estrogênicos α e β . Para a ativação da via genômica, o estrógeno entra na célula e liga-se aos receptores RE α e RE β , formando um complexo que sofre uma translocação nuclear, homo ou heterodimerização e se liga a um elemento responsivo ao estrógeno na região promotora de diferentes genes alvo (esquerda). A sinalização não genômica ocorre por meio do receptor de estrógeno associado à membrana (REm), o que estimula a ativação de MAP quinase e as vias de sinalização da PI3K, cuja atividade nas células tumorais da tireoide é principalmente controlada por fatores de crescimento (direita) (Nilsson *et al.*, 2001). Em CDT com ativação aberrante dessas vias de tirosina quinase por rearranjo cromossômico do receptor de tirosina quinase ou por uma mutação BRAF ou RAS, E2 estimula sinergicamente estas vias (Ciampi e Nikiforov, 2007). Além disso, no câncer de tireoide, a via PI3K /AKT também pode ser ativada por inativação mutacional ou diminuída do PTEN, um gene supressor de tumor (Bruni *et al.*, 2000).

Fonte: (Derwahl e Nicula, 2014)

Foi demonstrado que o tratamento com estrógeno favorece a expressão de RE α em relação ao RE β , causando desequilíbrio entre esses receptores em pelo menos dois tipos de células de câncer de tireoide, papilífero e anaplásico. Esse desequilíbrio pode mudar o comportamento celular, proporcionando-lhes a capacidade de proliferar e sobreviver. No mesmo estudo foi demonstrado que o RE α aumenta a proliferação celular e a expressão da proteína Bcl-2 (ação anti-apoptótica), já o RE β diminui a taxa de proliferação celular e aumenta a expressão da proteína BAX (ação pró-apoptótica) (Zeng *et al.*, 2007).

Estudos mostram que uma característica importante do RE β é sua capacidade de modular a atividade biológica de RE α , onde o RE α é neutralizado pelo RE β (Weihua *et al.*, 2000). Além de seu papel como modulador negativo das atividades de RE α , estudos indicam que o RE β direciona os efeitos antiproliferativos do estrógeno, sustentando as funções de supressão tumoral desse receptor. Os efeitos opostos de estrógeno em células que coexistem RE α e RE β podem depender do equilíbrio entre os sinais originados por cada isoforma (Acconcia *et al.*, 2005).

A expressão desses receptores no tecido tireoidiano neoplásico e normal é bastante variável (Quadro 7) (Vaiman *et al.*, 2010; Magri *et al.*, 2012; Heikkila *et al.*, 2013; Huang *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2014; Ahn *et al.*, 2015; Magri *et al.*, 2015).

Quadro 7. Principais estudos de RE β em carcinoma diferenciado de tireoide e tecido normal.

	<i>CDT</i>		<i>TECIDO NORMAL</i>		<i>METODOLOGIA</i>
	RE β +	<i>TOTAL</i>	RE β +	<i>TOTAL</i>	
(Vaiman <i>et al.</i> , 2010)	64 (66%)	96	-	-	IHQ
(Magri <i>et al.</i> , 2012)	49 (54%)	91	61 (67%)	91	IHQ
(Heikkila <i>et al.</i> , 2013)	25 (59%)	42	-	-	IHQ
(Liu <i>et al.</i> , 2014)	77 (48%)	149	40 (67%)	60	IHQ
(Huang <i>et al.</i> , 2014)	48 (96%)	50	-	-	IHQ
(Ahn <i>et al.</i> , 2015)	36 (44%)	81	-	-	IHQ
(Magri <i>et al.</i> , 2015)	64 (50%)	127	82 (65%)	127	IHQ

CDT: Carcinoma diferenciado de tireoide; IHQ: Imuno-histoquímica; RE β : Receptor de estrógeno β ;
- Não analisado.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Verificar a expressão de receptores de estrógeno β em carcinomas diferenciados de tireoide.

2.2 Objetivos específicos

- Identificar e quantificar a expressão de receptores de estrógeno β no carcinoma diferenciado de tireoide.
- Identificar e quantificar a expressão de receptores de estrógeno β no tecido tireoidiano normal.
- Comparar a expressão de receptores de estrógeno β em tecido neoplásico e normal
- Correlacionar expressão dos receptores de estrógeno β em carcinoma diferenciado de tireoide com características clínicas e tumorais.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo analítico e transversal em pacientes com CDT. Foi realizado utilizando-se tumores removidos a partir de tireoidectomias realizadas no período de 2010 a 2014 no Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC). Esses materiais foram fixados em formalina neutra a 10%, processadas e incluídas em parafina. Os blocos de parafina contendo os tumores de tireoide foram registrados e integrados no arquivo do serviço do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Universidade Federal do Ceará (DPML-UFC).

3.2 Aspectos Éticos

O presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará, sob o número do CAAE 39389514.1.0000.5054, e aprovado em 30 de abril de 2015, número do parecer 1.044.047.

3.3 Seleção de amostra

3.3.1 Critérios de inclusão

Foram incluídos no estudo pacientes diagnosticados com CDT que realizaram tireoidectomia no HUWC no período de 2010 a 2014. Dentre esses indivíduos, foram selecionados aqueles com disponibilidade de dados clínicos e patológicos, ao seu diagnóstico e durante acompanhamento.

3.3.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo todos os casos com amostras insuficientes, mal fixadas, malconservadas ou inadequadas.

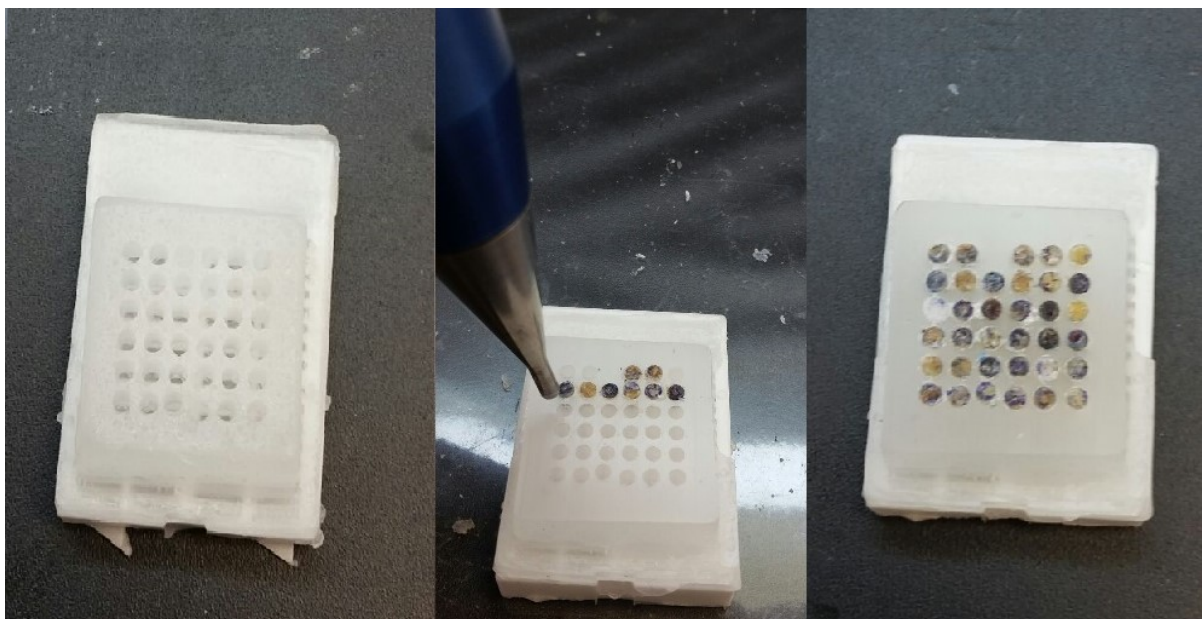
3.4 Análise das amostras histológicas

3.4.1 Tissue Microarray

Para a análise das amostras selecionadas foi realizada a construção de blocos *tissue microarray*, de acordo com técnica modificada de Kononen e colaboradores (Kononen *et al.*, 1998).

Trata-se de uma técnica que permite avaliar várias amostras de tecidos em um único bloco de parafina, economizando reagente e tempo de leitura. Nessa técnica são utilizados blocos de parafina pré-moldados e vazados (bloco receptor), para que possam ser inseridos cilindros de áreas selecionadas dos blocos de parafina contendo os tumores a serem analisados (bloco doador) (Figura 5).

Figura 5. Demonstração de síntese de bloco *Tissue Microarray*.



Fonte: Próprio autor

Os blocos doadores foram analisados por lâminas coradas pelo método de Hematoxilina e Eosina (HE), no intuito de delimitar a melhor área representativa do material em cada lâmina. Em seguida, essas regiões foram marcadas nos blocos para que fossem retirados os cilindros no local exato. Os tecidos foram retirados do bloco doador com o auxílio de um *punch* de biópsia de 2 mm de diâmetro (*BiopsyPunch – Miltex*) e inseridos em área previamente selecionada do bloco receptor.

Após o preenchimento de todo o bloco receptor, foi despejada uma fina camada de parafina derretida sobre o bloco, posteriormente submetido a aquecimento em estufa a 60°C durante 15 minutos e, logo após, resfriado a temperatura ambiente, no intuito de obter uma melhor aderência dos cilindros inseridos.

Foram confeccionados 3 blocos de *tissue microarray* para análise dos tecidos tumorais, com 6 linhas e 10 colunas, totalizando 60 amostras por bloco. Cada bloco é constituído por 28 amostras em duplicata, 2 amostras de controle positivos e 2 amostras de

controle negativo. Para análise dos tecidos normais peritumorais foram selecionados os segmentos mais distante possível do tumor, em seguida foram confeccionados 2 blocos de *tissue microarray*, com 6 linhas e 6 colunas, totalizando 36 amostras por bloco.

Os blocos confeccionados para estudo foram cortados em micrótomo Leica® RM2234, com 4 µm de espessura, e colocados em lâminas silanizadas para a realização da reação de imuno-histoquímica.

3.4.2 Controles

Os controles positivos e negativos foram processados juntos com as amostras estudadas para assegurar resultados confiáveis na técnica de imuno-histoquímica.

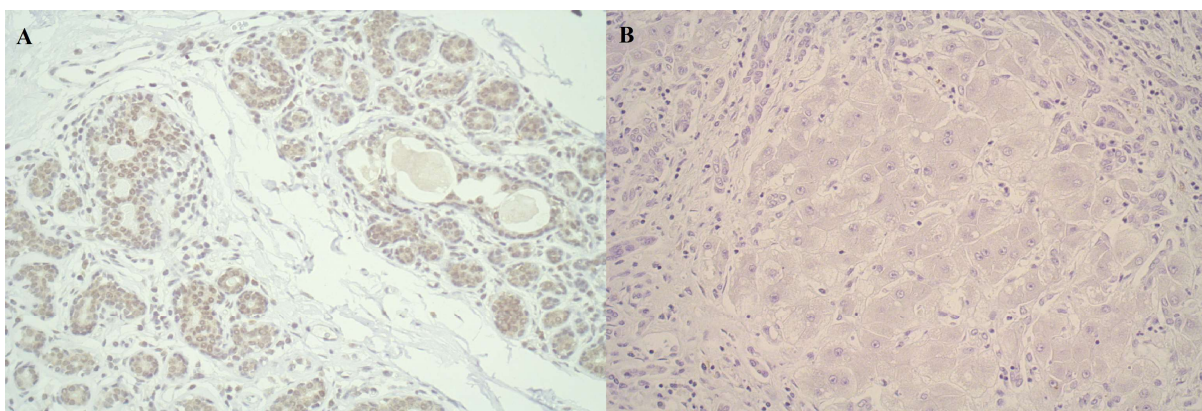
3.4.2.1 Controle Positivo

Segundo orientação do fabricante, foram utilizadas como controle positivo amostras de tecido mamário normal, proveniente de mamoplastia, devido a conhecida presença desse receptor nesse tecido (Figura 6).

3.4.2.2 Controle Negativo

Segundo orientação do fabricante, foram utilizadas como controle negativo amostras de tecido hepático (Figura 6), devido a conhecida ausência desse receptor nesse tecido e também amostra do controle positivo sem etapa de adição do anticorpo primário

Figura 6. Controles positivo e negativo de REβ utilizados no estudo.



A: Controle positivo de REβ, tecido de mama normal, aumento de 200X; B: Controle negativo de REβ, tecido hepático, aumento de 200X

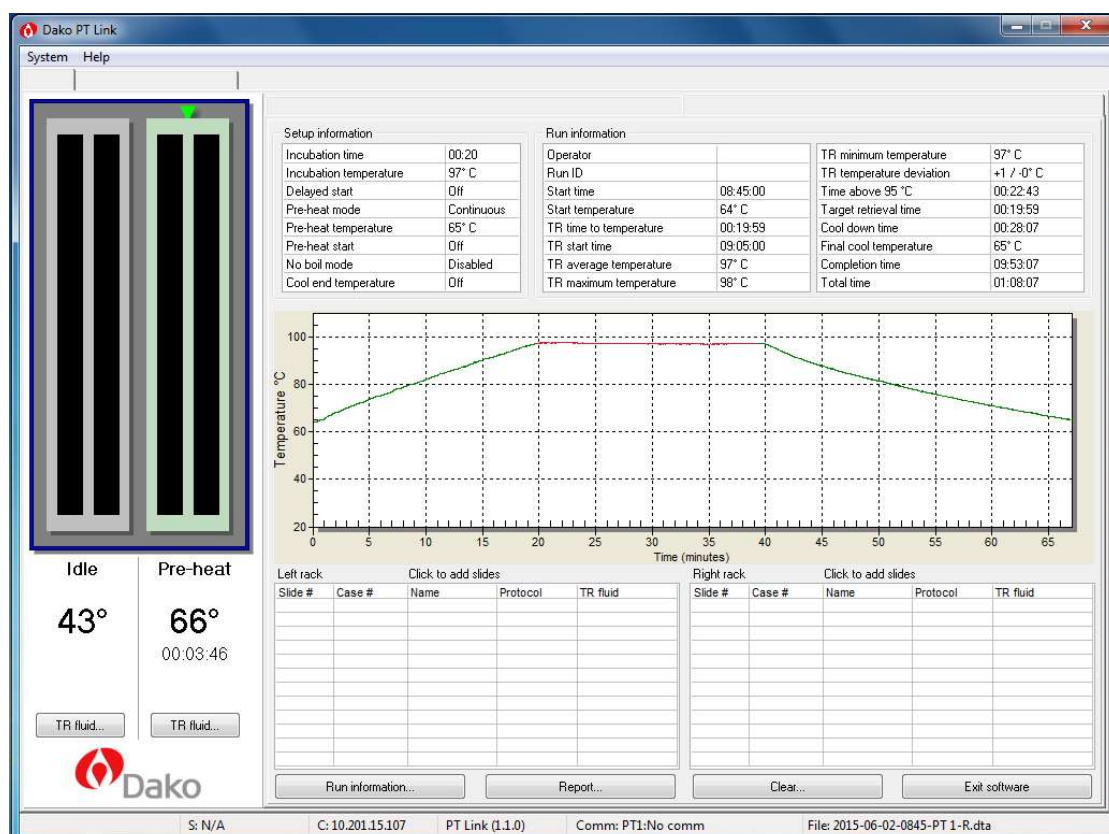
3.4.3 Imuno-histoquímica

As lâminas silanizadas contendo o material para análise foram colocadas em estufa, à temperatura de 60°C, durante uma hora, a fim de derreter o excesso de parafina e, assim, melhorar a aderência dos tecidos à lâmina. Posteriormente, foram desparafinizadas, por meio de 3 imersões em xilol, durante 5 minutos cada, e 3 banhos rápidos em álcool absoluto.

Simultaneamente, iniciou-se a preparação do tampão de recuperação antigênica, tampão *Envision Flex Target Retrieval Solution, Low pH*, código de referência K800521-2 - Dako®, na diluição 1:50. As lâminas desparafinizadas foram colocadas juntamente com o tampão de recuperação gênica em tanque do módulo de pré-tratamento *Dako PT Link*®, o qual foi previamente aquecido durante 30 minutos até 65°C. Esse equipamento proporciona um banho maria fechado, com monitoramento de temperatura.

Primeiramente houve o aquecimento até a temperatura de 97°C, permanecendo nessa temperatura por 20 minutos. Em seguida, foi novamente resfriado até 65°C, com o tempo total do processo de aproximadamente 1 hora e 30 minutos (Figura 7). Desse modo, proporcionando a recuperação dos epítomos antigênicos e a reidratação dos cortes histológicos, permitindo, assim, uma melhor ligação dos anticorpos aos epítomos.

Figura 7. Reação *Dako PT Link*® para recuperação antigênica.



O material foi retirado do tanque e inserido em borrel contendo tampão de lavagem, *Wash Buffer Envision Flex*, pH=7,6, *Dako*[®], na diluição de 1:20. Após etapa de lavagem, as lâminas foram marcadas com caneta especial hidrofóbica, *Dako*[®] *Pen*, referência S2002, que delimita a área a ser analisada, impedindo o escoamento das soluções.

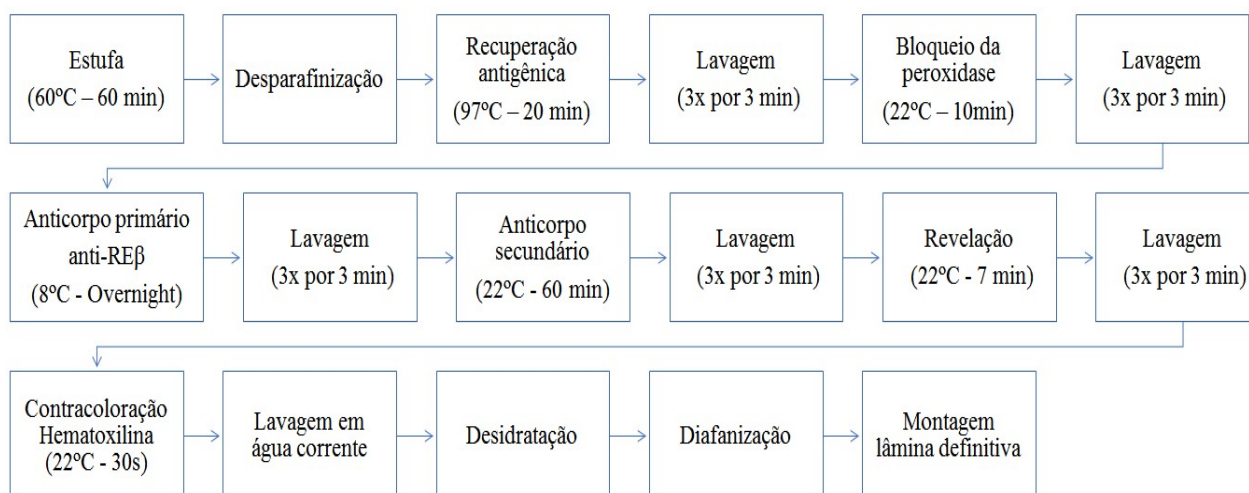
As amostras foram submetidas a peróxido de hidrogênio 5%, durante 10 minutos, com o objetivo de bloquear a peroxidase dos tecidos e, assim, evitar reação de fundo durante etapa de coloração.

Após bloqueio da peroxidase, foi efetuada nova lavagem com tampão. Em seguida, as lâminas foram colocadas em câmara para aplicação do anticorpo primário e posterior incubação *overnight* (mínimo de 14 horas). Foi utilizado o *Anticorpo Monoclonal Mouse Anti-Human Estrogen β Receptor* *Dako*[®], em diluição de 1:20.

A etapa seguinte se deu através da incubação com o anticorpo secundário, *Dako*[®] *Envision + Dual Link System – HRP*, durante 1 hora. Em seguida, foram realizadas mais 3 lavagens com o tampão, durante 3 minutos cada. Logo após, foi feita a revelação por meio de incubação com cromógeno *Dako*[®] *DAB*, durante 7 minutos e posterior lavagem com tampão.

Em seguida, foi feita a contra coloração com hematoxilina de Harris (*EnVision Flex Hematoxylin*), durante 30 segundos, lavagem em água corrente, desidratação em álcool absoluto e passagens em xilol, para diafanização. Por último, foram realizadas as montagens das lâminas permanentes utilizando Bálsamo do Canadá (Figura 8).

Figura 8. Metodologia para análise imuno-histoquímica.



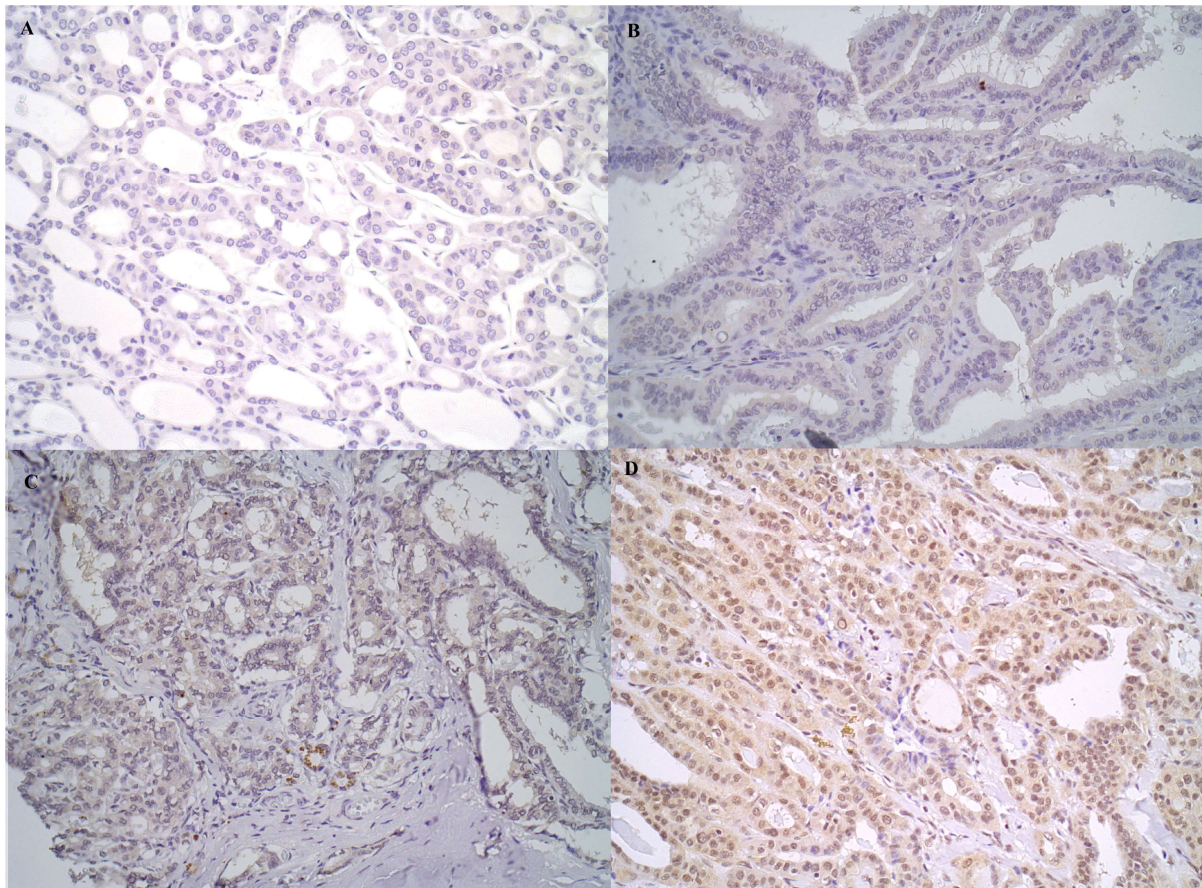
Fonte: Próprio autor

Os preparos histológicos para RE β foram analisados, em microscópio Olympus BXR1®, pelo autor do trabalho e por patologista experiente que era cego em relação aos dados dos pacientes. Foi realizada a leitura e classificados dos casos positivos de acordo com a reatividade da amostra (Quadro 8). Foram consideradas como amostra positiva aquelas com imunomarcção nuclear superior a 25% das células (grau de marcação 3).

Quadro 8. Classificação dos resultados da imunoexpressão de RE β de acordo com o percentual de células marcadas.

Grau de marcação	Percentual de células marcadas
0	Ausente
1	1-5%
2	5-25%
3	>25%

Figura 9. Grau de marcação da imunexpressão de RE β de acordo com o percentual de células marcadas.



A: Tecido de carcinoma de tireoide, aumento 200X, RE β C=0 N=0; B: Tecido de carcinoma de tireoide, aumento 200X, RE β C=1 N=1; C: Tecido de carcinoma de tireoide, aumento 200X, RE β C=2 N=1; D: Tecido de carcinoma de tireoide, aumento 200X, RE β C=3 N=3; RE β : Receptor de estrógeno β ; C: Marcação citoplasmática; N: Marcação nuclear.

3.5 Dados clínicos e patológicos

Os dados clínicos e tumorais, como idade, sexo, tamanho tumoral, tipo histológico, invasão extratireoidiana, tireoidite de Hashimoto, metástase linfonodal e à distância, RIT (radioiodoterapia), recidiva e período de seguimento foram obtidos a partir dos prontuários médicos dos pacientes que eram acompanhados pelo serviço de cabeça e pescoço e endocrinologia do HUWC.

Para analisar as características clínicas e patológicas de acordo com o efeito da idade, dividimos as mulheres em dois grupos com valor de corte de 55 anos (Nixon *et al.*, 2016)

Os tumores primários foram classificados segundo o estadiamento TNM 8ª edição. No caso de tumores multicêntricos, foi selecionado para o estudo o carcinoma de maior tamanho. Foi incluído no estudo mais de um tumor do mesmo paciente, quando a glândula tireoidiana apresentava casos de neoplasias de diferentes tipos histológicos.

Em relação as variantes, foram consideradas como clássicos os subtipos histológicos clássicos e microcarcinomas, por se tratarem de variantes de melhor prognóstico. Foram considerados como microcarcinoma todos aqueles com tamanho tumoral ≤ 1 cm.

A análise de metástase linfonodal foi considerada quando no prontuário médico havia laudo patológico comprovando investigação de infiltração neoplásica em linfonodo. Em relação a metástase à distância, foram considerados apenas aqueles pacientes que realizaram pesquisa de corpo inteiro.

A ausência de doença foi definida como nenhuma evidência de tumor em avaliações clínicas, de imagem e laboratoriais com níveis séricos de Tg $<0,2$ ng/mL durante a supressão do TSH <1 ng/mL na ausência de anticorpos interferente, de acordo com as orientações da Associação Americana de Tireoide (Alexander *et al.*, 2016).

3.6 Análise Estatística

Os dados contínuos foram descritos como média \pm desvio padrão e os dados de frequência foram descritos como percentuais. Para a análise estatística utilizamos o programa *IBM SPSS Statistics* versão 23. A normalidade da distribuição dos dados foi testada usando o teste de Kolmogorov-Smirnov. As diferenças entre grupos de variáveis categóricas não pareados foram testadas através do teste exato de Fisher ou do teste do qui-quadrado, conforme apropriado, e os grupos de variáveis categóricas pareados foram testadas através do teste de McNemar. As diferenças entre grupos de variáveis paramétricas quantitativas foram analisadas por meio do teste T de *Student*, pareado ou não pareado conforme a situação. Já as variáveis não paramétricas quantitativas foram analisadas por teste de Mann-Whitney. O nível de significância estatística considerado para todas as análises foi $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1. Variáveis clínicas e tumorais

Foram analisados 79 tumores provenientes de 77 pacientes. A maioria dos indivíduos foram do sexo feminino (88%, 68/77), com idade <55 anos (65%, 50/77), apresentando tumores unicêntricos (62%, 45/73), com tamanho tumoral >1cm (72%, 57/79), tipo histológico papilífero (95%, 75/79) e variante não clássica (58%, 31/53) (Tabela 1 e 2).

Os tumores não apresentavam tireoidite de Hashimoto (72%, 57/79), adenoma concomitante (66%, 52/79), invasão capsular (68%, 54/79) e linfática (67%, 53/79).

Tabela 1. Idade, tamanho tumoral, tempo de acompanhamento e dose radioterapia de pacientes com carcinoma diferenciado de tireoide.

	N	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo
Idade (anos)	77	48,5	15,6	7	85
Tamanho tumoral (cm)	78	2,0	1,5	0,3	8,0
Tempo de acompanhamento (anos)	57	4,1	1,7	1	7
Dose RIT (mCi)	22	157,9	104,7	100	614

N: Número de amostras analisadas.

Mantiveram acompanhamento no serviço 74% (57/77) dos pacientes, onde foi possível verificar que 44% (37/57) realizaram RIT, 64% (20/31) apresentaram metástase linfonodal, 13% (5/38) metástase à distância e em 5% (3/57) dos indivíduos foi detectada recidiva da doença.

Tabela 2. Tipos histológicos dos casos de carcinoma diferenciado de tireoide analisados.

	<i>N</i>	%
TIPO (n= 79)		
Papilífero	75	95%
Folicular	4	5%
SUBTIPOS (PAPILÍFERO) (n=75)		
Microcarcinoma	22	29%
Clássico	22	29%
Folicular	21	28%
Células Altas	6	8%
Células Colunares	1	1%
Cibriforme-morular	1	1%
Esclerosante difusa	1	1%
Céls Oxifílicas (Hurtlhe)	1	1%

N: Número de amostras analisadas;

Os tumores primários foram classificados de acordo com a 8ª edição da classificação TNM. De acordo com a Tabela 3, podemos verificar que 35% (27/77) dos tumores são T1b, 65% (20/31) N1 e 87% (33/77) M0.

Tabela 3. Tumores primários de acordo com 8ª edição da classificação TNM.

	Tecido primário CDT
Idade (n=77)	
<55 anos	50 (65%)
≥55 anos	27 (35%)
Sexo (n=77)	
Feminino	68 (88%)
Masculino	9 (12%)
Estadiamento (n=77)	
I	66 (86%)
II	9 (12%)
III	-
IVA	-
IVB	2 (2%)
IVC	-
T: tumor primário (n=77)	
T1a	21 (27%)
T1b	27 (35%)
T2	15 (20%)
T3a	8 (10%)
T3b	5 (7%)
T4a	-
T4b	1 (1%)
N: metástase linfonodal (n=31)	
0	11 (35%)
1	20 (65%)
M: metástase à distância (n=38)	
0	33 (87%)
1	5 (13%)
Média tumoral em cm (n=78)	2,3 ±1,6

4.2 Imunoexpressão de receptor de estrógeno β em CDT

Houve expressão de RE β em 67% (53/79) dos tumores analisados. Não foi identificada diferença entre a expressão nuclear e citoplasmática desse receptor (67% vs 73%, $p=0,12$).

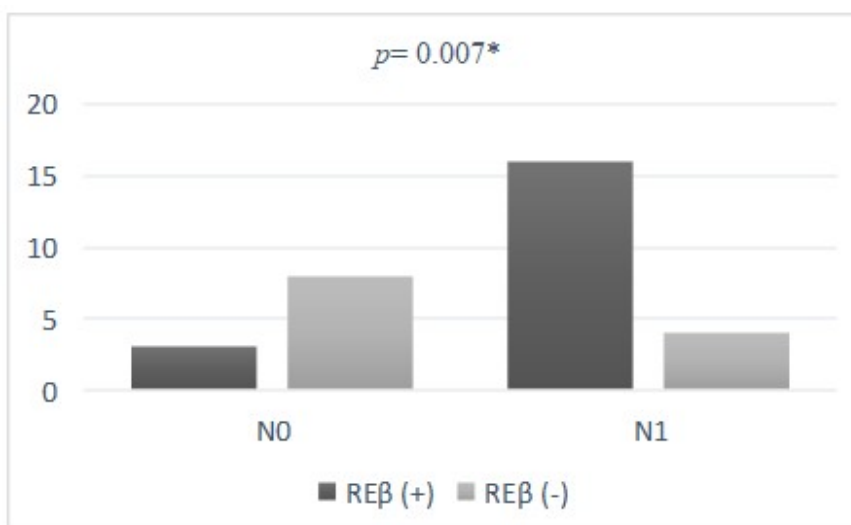
Em relação aos dois indivíduos que tiveram os tumores de tipos histológicos diferentes analisados, foi observado em um deles a expressão de RE β no tumor papilar e ausência no tumor folicular, e no outro foi verificada expressão de RE β nos dois tumores analisados.

Foi realizada a comparação da imunoexpressão de RE β nas variáveis clínicas e tumorais tais como: sexo, idade, tempo de acompanhamento, tipo histológico, variante clássica e não clássica, dimensão do tumor (<1 cm e ≥ 1 cm), multicentricidade, presença de adenoma concomitante, invasão linfática, invasão de cápsula, presença de Tireoidite de Hashimoto, realização de radioiodoterapia e recidiva da doença (Tabela 4).

Conforme tabela 4, podemos observar semelhança na expressão de RE β em relação as variáveis clínicas e tumorais analisadas, não apresentando diferença estatística.

A imunoexpressão de RE β foi também comparada à classificação TNM e seu estadiamento (Tabela 5). Foi verificado uma maior expressão de RE β em tumores que apresentaram metástase linfonodal (84% vs 33%, $p=0,007$) (Gráfico 1), esse resultado foi estatisticamente significativo, e uma tendência a maior expressão de RE β em tumores com metástase à distância (21% vs 0%, $p=0,14$).

Gráfico 1. Comparação entre a expressão de RE β e a presença de metástase linfonodal.



RE β : Receptor de estrógeno β ; p : diferença entre as médias; *Valor significativo $p<0.05$

Tabela 4. Imunoexpressão de receptor de estrógeno β em carcinoma diferenciado de tireoide.

	CDT			<i>p</i>
	RE β (-)	RE β (+)	Total	
Sexo (n=77)				0,46
Feminino	21 (31%)	47 (69%)	68	
Masculino	4 (44%)	5 (56%)	9	
Média de idade em anos (n=77)	51,2 \pm 13,7	47,3 \pm 16,4	46,8 \pm 15,9	0,31
Tempo Acompanhamento em anos (n=57)	4,3 \pm 2,1	4,0 \pm 1,4	4,3 \pm 1,9	0,49
Tipo histológico (n= 79)				0,59
Papilífero	24 (32%)	51 (68%)	75	
Folicular	2 (50%)	2 (50%)	4	
Variantes (n=53)				0,63
Clássica	7 (32%)	15 (68%)	22	
Não clássica	8 (26%)	23 (74%)	31	
Microcarcinoma (n=79)				0,35
Sim	9 (41%)	13 (59%)	22	
Não	17 (30%)	40 (70%)	57	
Multicêntrico (n=73)				0,08
Sim	13 (46%)	15 (54%)	28	
Não	12 (27%)	33 (73%)	45	
Adenoma (n=79)				0,95
Sim	9 (33%)	18 (67%)	27	
Não	17 (33%)	35 (67%)	52	
Invasão Linfática (n=79)				0,77
Sim	8 (31%)	18 (69%)	26	
Não	18 (34%)	35 (66%)	53	
Invasão capsular (n=79)				0,69
Sim	9 (36%)	16 (64%)	25	
Não	17 (31%)	37 (69%)	54	
Tireoidite de Hashimoto (n=79)				0,35
Sim	9 (41%)	13 (59%)	22	
Não	17 (30%)	40 (70%)	57	
RIT (n=57)				0,17
Sim	14 (38%)	23 (62%)	37	
Não	4 (20%)	16 (80%)	20	
Recidiva (n=57)				1,00
Sim	1 (33%)	2 (67%)	3	
Não	17 (31%)	37 (69%)	54	

CDT: Carcinoma Diferenciado de Tireoide; RE β : Receptor de Estrógeno β ; RIT: Radioiodoterapia; *p*: diferença entre as médias.

Tabela 5. Imunoexpressão de RE β em tumores primários de acordo com 8ª edição da classificação TNM.

	Tecido neoplásico			<i>p</i>
	RE β (-)	RE β (+)	Total	
Idade (n=77)				0,53
<55 anos	15 (30%)	35 (70%)	50	
\geq 55 anos	10 (37%)	17 (63%)	27	
Sexo (n=77)				0,46
Feminino	21 (31%)	47 (69%)	68	
Masculino	4 (44%)	5 (56%)	9	
Estadiamento (n=77)				1,00
I	22 (33%)	44 (67%)	66	
II	3 (33%)	6 (67%)	9	
III	-	-	-	
IVA	-	-	-	
IVB	-	2 (100%)	2	
IVC	-	-	-	
T: tumor primário (n=77)				0,19
T1a	9 (43%)	12 (57%)	21	
T1b	7 (26%)	20 (74%)	27	
T2	5 (33%)	10 (67%)	15	
T3a	5 (63%)	3 (37%)	8	
T3b	-	5 (100%)	5	
T4a	-	-	-	
T4b	-	1 (100%)	1	
N: metástase linfonodal (n=31)				0,007*
0	8 (73%)	3 (27%)	11	
1	4 (20%)	16 (80%)	20	
M: metástase à distância (n=38)				0,14
0	14(42%)	19 (58%)	33	
1	-	5 (100%)	5	
Diâmetro tumoral (cm) (n=78)	2,0 \pm 2,4	2,5 \pm 0,9	2,3 \pm 1,6	0,86

RE β : Receptor de estrógeno β ; *p*: diferença entre as médias;

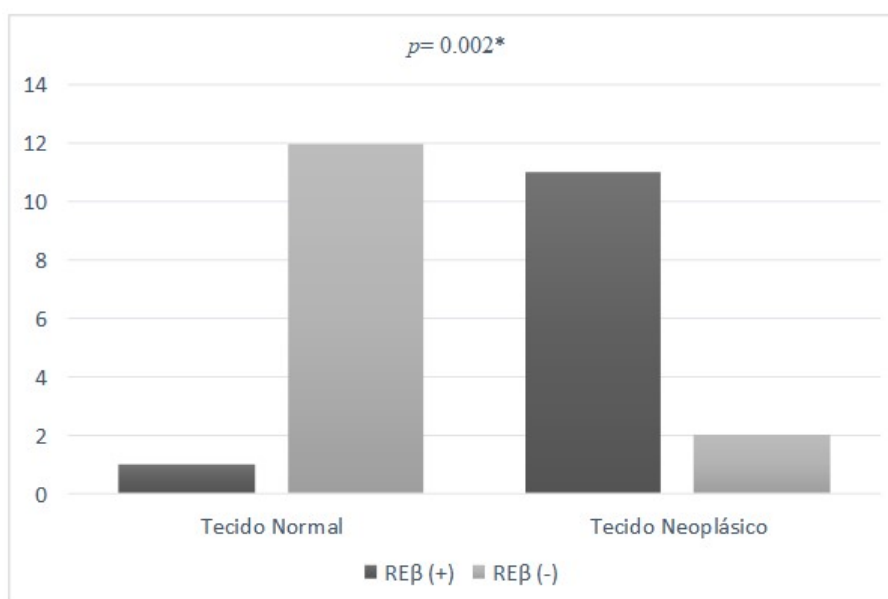
*Valor significativo $p < 0.05$

4.5 Comparação entre a imunexpressão de receptor de estrógeno β em tecido neoplásico e normal

Foram escolhidos aleatoriamente 13 peças de tireoidectomia, dentre as 77 incluídas no estudo, para a análise simultânea da expressão de RE β no tecido normal. Observamos que 92% (12/13) das amostras foram classificadas como negativas para expressão de RE β . Quando comparada a imunexpressão de RE β do tecido normal e neoplásico foi verificado que há uma maior expressão do RE β em tecido neoplásico do que no tecido normal.

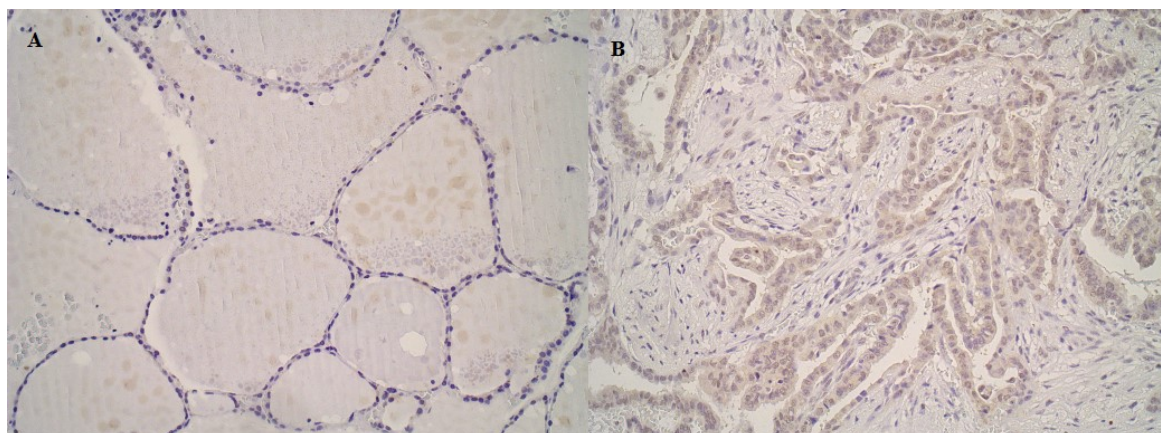
Pode-se observar na comparação entre o tecido tireoidiano neoplásico e normal do mesmo indivíduo um maior grau de expressão do tecido neoplásico em relação ao tecido normal ($p=0,002$) (Gráfico 2) (Tabela 6). Na figura 10 demonstramos uma comparação ilustrativa do tecido neoplásico e tecido normal adjacente do mesmo indivíduo.

Gráfico 2. Expressão de RE β em tecido neoplásico e normal do mesmo indivíduo.



RE β : Receptor de estrógeno β ; p : diferença entre as médias; *Valor significativo $p<0.05$

Figura 10. Comparação ilustrativa do mesmo paciente com análise do tecido tireoidiano normal e neoplásico.



A: Tecido tireoidiano normal, aumento 200X, RE β C=0 N=0; B: Tecido tireoidiano neoplásico, aumento 200X, RE β C=3 N=3; RE β : Receptor de estrógeno β ; C: Marcação citoplasmática; N: Marcação nuclear.

Tabela 6. Percentual de positividade de expressão de RE β em tecido tireoidiano normal e neoplásico do mesmo indivíduo.

Pacientes	Tecido neoplásico		Tecido normal	
	RE β	Grau de expressão	RE β	Grau de expressão
1	Positivo	> 25	Negativo	5-25
2	Positivo	> 25	Negativo	0
3	Positivo	> 25	Negativo	0
4	Positivo	> 25	Negativo	0
5	Negativo	1-5	Negativo	0
6	Positivo	> 25	Negativo	1-5
7	Positivo	> 25	Negativo	0
8	Positivo	> 25	Negativo	5-25
9	Negativo	5-25	Negativo	0
10	Positivo	> 25	Negativo	0
11	Positivo	> 25	Negativo	0
12	Positivo	> 25	Positivo	> 25
13	Positivo	> 25	Negativo	0

RE β : Receptor de estrógeno β ; Foram considerados como positivo aqueles com expressão superior a 25% de células marcadas.

4.4 Comparação entre características clínicas e tumorais e tamanho tumoral.

Foi realizada a comparação do tamanho tumoral com as variáveis clínicas e tumorais do estudo, tais como: sexo, idade, tempo de acompanhamento, multicentricidade, presença de adenoma concomitante, invasão linfática, invasão de cápsula, presença de Tireoidite de Hashimoto, realização de radioiodoterapia, metástase linfonodal, metástase à distância, recidiva da doença, expressão de RE β em tecido tumoral e peritumoral.

Como podemos verificar na tabela 7, os tumores de maior tamanho (>1cm) tiveram mais episódios de invasão capsular (42% vs 5%, p=0,005) e de invasão linfática (42% vs 9%, p=0,001), com significância estatística.

Tabela 7. Comparação entre características clínicas e tumorais e tamanho tumoral.

	Tamanho tumoral			<i>p</i>
	>1cm	≤1cm	Total	
Idade <55 anos (n=77)	37 (67%)	13 (59%)	50 (65%)	0,50
Sexo Feminino (n=77)	48 (87%)	20 (91%)	68 (88%)	1,00
Média de idade em anos (n=77)	47,0 ±16,7	52,4 ± 13,4	46,8 ±15,9	0,17
Acompanhamento em anos (n=57)	4,2 ±1,6	3,7 ±1,7	4,3 ±1,9	0,28
Multicêntrico (n=73)	23 (43%)	5 (25%)	28 (38%)	0,15
Adenoma (n=79)	20 (35%)	7 (32%)	27 (34%)	0,78
Invasão Linfática (n= 79)	24 (42%)	2 (9%)	26 (33%)	0,005*
Invasão capsular (n=79)	24 (42%)	1 (5%)	25 (32%)	0,001*
Tireoidite de Hashimoto (n=79)	16 (28%)	6 (27%)	22 (28%)	0,94
RIT (n=57)	33 (79%)	4 (27%)	37 (65%)	0,000*
Recidiva (n=57)	3 (7%)	-	3 (5%)	0,56
Metástase à distância (n=38)	5 (15%)	-	5 (13%)	1,00
Metástase linfonodal (n=31)	18 (67%)	2 (50%)	20 (64%)	0,60
REβ – Tecido tumoral (=79)	40 (70%)	13 (59%)	53 67%)	0,35

RE β : Receptor de estrógeno β ; RIT: Radioiodoterapia; *p*: diferença entre as médias;

*Valor significativo p<0.05

4.5 Comparação entre características clínicas e tumorais e a idade dos pacientes.

Foi realizada a comparação da idade dos pacientes com as variáveis clínicas e tumorais do estudo, tais como: sexo, tamanho tumoral, tempo de acompanhamento, tipo histológico, variantes, multicentricidade, presença de adenoma concomitante, invasão linfática, invasão de cápsula, presença de Tireoidite de Hashimoto, realização de radioiodoterapia, metástase linfonodal, metástase à distância, recidiva da doença, expressão de RE β em tecido tumoral e peritumoral (Tabela 8).

Analisando a tabela 8 podemos verificar que não houve diferença significativa entre a idade das pacientes e características clínicas e tumorais.

Tabela 8. Comparação entre características clínicas e tumorais e a idade dos pacientes.

	Idade			<i>p</i>
	<55 anos	\geq 55 anos	Total	
Sexo Feminino (n=77)	43 (86%)	25 (93%)	68 (88%)	0,48
Média tumoral em cm (n=78)	2,1 \pm 1,1	3,0 \pm 2,7	2,3 \pm 1,6	0,50
Acompanhamento em anos (n=57)	4,3 \pm 1,6	3,6 \pm 1,8	4,3 \pm 1,9	0,12
Carcinoma Papilífero (n=77)	49 (98%)	26 (96%)	75 (97%)	1,00
Variantes Clássica (n=53)	17 (47%)	5 (29%)	22 (42%)	0,22
Microcarcinoma (n=77)	13 (26%)	9 (33%)	22 (29%)	0,50
Multicêntrico (n=71)	17 (35%)	10 (43%)	27 (38%)	0,51
Adenoma (n=77)	16 (32%)	11 (41%)	27 (35%)	0,44
Invasão Linfática (n=77)	16 (32%)	9 (33%)	25 (32%)	0,90
Invasão capsular (n=77)	17 (34%)	7 (26%)	24 (31%)	0,46
Tireoidite de Hashimoto (n=77)	14 (28%)	8 (30%)	22 (29%)	0,88
RIT (n=56)	25 (68%)	11 (58%)	36 (64%)	0,47
Recidiva (n=56)	2 (5%)	1 (6%)	3 (5%)	1,00
Metástase à distância (n=37)	2 (8%)	3 (25%)	5 (14%)	0,16
Metástase linfonodal (n=31)	15 (71%)	5 (50%)	20 (65%)	0,42
REβ – Tecido tumoral (=77)	35 (70%)	17 (63%)	52 (68%)	0,53

RE β : Receptor de estrógeno β ; RIT: Radioiodoterapia; *p*: diferença entre as médias;

*Valor significativo $p < 0.05$

5 DISCUSSÃO

5.1 Estrógeno e potencial metastático.

A patogênese dos tumores benignos e malignos da tireoide é caracterizada por um processo complexo que envolve tanto fatores genéticos quanto ambientais. Além disso, a tumorigênese pode estar sob influência endócrina, particularmente pelo estrógeno (Horn-Ross *et al.*, 2011; Derwahl e Nicula, 2014; Moleti *et al.*, 2017). Esse fato é sugerido devido a maior incidência de câncer tireoidiano em mulheres de idade fértil (Moleti *et al.*, 2017) e pela expressão dos receptores de estrógeno nesses tumores, da mesma forma que em outros carcinomas dependentes de estrógeno, como os mamários e uterinos (Dickson e Lippman, 1995; Wolff *et al.*, 2013).

Um papel bem definido do estrógeno é seu efeito proliferativo nas células neoplásicas, mediante a regulação de genes envolvidos no controle do crescimento celular, como o bcl-2 e bax (Zeng *et al.*, 2007). Em contraste, pouco se sabe a respeito da relação entre o estrógeno e a metástase nas neoplasias da tireoide.

Segundo o estudo de Rajoria *et al.*, o receptor de estrógeno participa nos processos celulares que contribuem para aumentar as propriedades migratórias e invasivas das células neoplásicas da tireoide (Rajoria *et al.*, 2012). Ele demonstrou que as células tireoidianas na presença de E2 migram 80-85% mais, e na presença de antagonista desse receptor a migração é anulada, sugerindo que a capacidade migratória dessas células é estimulada pela ação do estrógeno. Nesse mesmo estudo foi realizada a análise da expressão proteica de α -catenina e β -catenina na presença de estrógeno. Observou-se uma diminuição significativa na expressão da proteína β -catenina, sem alteração na expressão de α -catenina. Após a incubação com antagonista do receptor de estrógeno, foi observada a restauração dos níveis de β -catenina

Esses achados sugerem um possível papel da β -catenina na migração e invasão de células tireoidianas, uma vez que o complexo E-caderina-catenina é responsável pela manutenção da adesão celular e da integridade dos tecidos, formando um complexo transmembranar com o citoesqueleto de actina. A perturbação da integridade desse complexo ou a diminuição de suas proteínas está diretamente associada a progressão da proliferação e metástase do câncer (Berx e Van Roy, 2001; Baranwal e Alahari, 2009).

Por outro lado, outro estudo mostrou associação entre metástase linfonodal e a falta de expressão de RE β (Ahn *et al.*, 2015).

Corroborando com o estudo de Rajoria *et al.*, em nosso estudo foi demonstrada uma associação entre a expressão de RE β em tumores que apresentaram metástase linfonodal (84% vs 33%, $p=0,007$), e uma tendência a maior expressão de RE β em tumores com metástase à distância (21% vs 0%, $p=0,14$).

Nossos dados mostraram uma associação entre o RE β e o aumento da capacidade metastática das células tumorais tireoidianas. Estudos sugerem que o estrógeno medeia a estabilização das células endoteliais e a montagem de vasos (Soares *et al.*, 2003). Em estudo realizado por Ceresini *et al* foi demonstrado que o RE β , mas não o RE α , está presente no endotélio das estruturas vasculares do tecido da tireoide, sugerindo que qualquer ação exercida pelo estrógeno nos vasos tireoidianos é mediada pelo RE β (Ceresini *et al.*, 2006).

5.2 Expressão de RE β em tecido neoplásico e normal.

Nossos dados mostraram maior expressão do RE β em tecido neoplásico em comparação com tecido tireoidiano normal. No nosso estudo a expressão de RE β em tecido neoplásico foi de 67% (53/79), resultado semelhante a outros estudos (Vaiman *et al.*, 2010; Heikkila *et al.*, 2013), e em tecido tireoidiano normal foi de 8% (1/13), resultados discordantes da literatura (Magri *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2014; Magri *et al.*, 2015)

A expressão desses receptores na tireoide varia entre 44% e 96% em tecido neoplásico e entre 65% e 67% em tecido normal e todos os estudos que compararam a expressão de RE β nesses tecidos encontraram uma maior expressão no tecido tireoidiano normal. (Vaiman *et al.*, 2010; Magri *et al.*, 2012; Heikkila *et al.*, 2013; Huang *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2014; Ahn *et al.*, 2015; Magri *et al.*, 2015).

Uma vez que o receptor de estrógeno é nuclear, consideramos apenas a sua expressão no núcleo. Porém também foram observadas expressões citoplasmáticas, assim como em outros estudos (Vaiman *et al.*, 2010; Huang *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2014).

A variabilidade nos resultados da expressão de RE β por imuno-histoquímica pode ser devido a diferenças metodológicas, uso de anticorpos monoclonais com diferentes sensibilidades e especificidades, diferenças na técnica de fixação ou processamento de tecido ou diferenças nos critérios de interpretação.

5.3 Variáveis clínicas e tumorais

Estudos anteriores observaram que o desenvolvimento do câncer tireoidiano está relacionado com o sexo e a idade dos indivíduos, sugerindo que os hormônios sexuais e seus receptores podem estar envolvidos na patogênese dessa doença (Dean e Gharib, 2008; Horn-Ross *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2013; Moleti *et al.*, 2017).

Porém o padrão de expressão de RE β não diferiu significativamente quando os pacientes foram estratificados de acordo com sexo e idade reprodutiva. Corroborando com outros estudos (Vaiman *et al.*, 2010; Magri *et al.*, 2012; Heikkila *et al.*, 2013; Huang *et al.*, 2014; Magri *et al.*, 2015). Esses dados sugerem que o possível efeito do estrógeno no CDT depende mais da expressão dos REs do que dos níveis séricos hormonais. Além disso, as concentrações séricas de estrógeno não parecem influenciar a expressão dos REs.

Em relação a presença de invasão linfática, em nosso estudo não houve diferença significativa entre esse parâmetro e a expressão de RE β . Os dados na literatura são discordantes, uma vez que foi visto uma associação entre a expressão negativa de RE β com a presença de invasão linfática (Magri *et al.*, 2012; Magri *et al.*, 2015).

Nossos dados não encontraram relação entre a expressão de RE β com recidiva da doença. Resultado diferente do encontrado em estudo prévio o qual sugere que a perda de expressão desse receptor está associada com a recorrência da doença (Ahn *et al.*, 2015).

Em relação aos dados tumorais como tipo histológico, variante clássica e não clássica, diâmetro tumoral, multicentricidade, presença de adenoma concomitante, invasão de cápsula e presença de Tireoidite de Hashimoto, nossos dados não mostraram diferenças em relação a expressão do RE β .

5.4 Tamanho tumoral

O tamanho tumoral é um fator de risco bastante utilizado em sistemas desenvolvidos para estimar o prognóstico dos pacientes. Acredita-se que um maior tamanho tumoral está associado à pior prognóstico e aumento da mortalidade (Gillanders e O'Neill, 2017; Tuttle *et al.*, 2017).

Alguns estudos demonstram que o paciente com CDT >1 cm são mais frequentemente associados à extensão extratireoidiana, invasão vascular, invasão linfática e invasão de linfonodos cervicais do que aqueles ≤ 1 cm (Gomez *et al.*, 2011). Foi verificado também que mais de 99% dos pacientes com microcarcinoma não estão em risco de propagação à distante ou mortalidade por esse tipo de câncer (Hay *et al.*, 2008).

Nossos dados corroboram com a literatura, uma vez que encontramos que os tumores de maior tamanho (>1cm) tiveram mais episódios de invasão capsular (42% vs 5%, $p=0,005$) e de invasão linfática (42% vs 9%, $p=0,001$), do que os microcarcinomas.

5.5 Limitações do estudo

Entre as limitações do nosso estudo estão o número reduzido de tumores avaliados, a falha no seguimento clínico desses pacientes, incluindo em relação ao rastreamento com imagem e laboratório de metástases linfonodais e à distância. Em relação a avaliação de metástases linfonodais, decidimos incluir apenas os pacientes que apresentavam essa avaliação no anátomo-patológico.

6 CONCLUSÃO

Em nosso estudo foi observada a presença de RE β em grande parte dos CDT e uma menor expressão desse receptor em tecido tireoidiano normal. Foi verificado que a expressão de RE β esteve associada com maior risco de metástase linfonodal e uma tendência a maior risco de metástase à distância. Esses achados são relevantes para o estudo da progressão desses tumores e possivelmente para apontar um alvo terapêutico nos pacientes com doença metastática.

REFERÊNCIAS

- ABU-SALEM, O. FNAB thyroid gland: comparison study between pre-and post-operative histological diagnosis. **Archives de l'Institut Pasteur de Tunis**, v. 80, n. 1-4, p. 57-60, 2002. ISSN 0020-2509.
- ACCONCIA, F. et al. Survival versus apoptotic 17β - estradiol effect: Role of ER α and ER β activated non - genomic signaling. **Journal of cellular physiology**, v. 203, n. 1, p. 193-201, 2005. ISSN 1097-4652.
- AHN, H. Y. et al. Loss of ER β expression in papillary thyroid carcinoma is associated with recurrence in young female. **Clinical endocrinology**, v. 82, n. 2, p. 300-306, 2015. ISSN 1365-2265.
- ALEXANDER, E. K. et al. 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer. **Thyroid**, v. 26, p. 1-133, 2016.
- BARANWAL, S.; ALAHARI, S. K. Molecular mechanisms controlling E-cadherin expression in breast cancer. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 384, n. 1, p. 6-11, 2009. ISSN 0006-291X.
- BARTOLAZZI, A. et al. Galectin-3-expression analysis in the surgical selection of follicular thyroid nodules with indeterminate fine-needle aspiration cytology: a prospective multicentre study. **The lancet oncology**, v. 9, n. 6, p. 543-549, 2008. ISSN 1470-2045.
- BERX, G.; VAN ROY, F. The E-cadherin/catenin complex: an important gatekeeper in breast cancer tumorigenesis and malignant progression. **Breast Cancer Research**, v. 3, n. 5, p. 289, 2001. ISSN 1465-542X.
- BOMELI, S. R.; LEBEAU, S. O.; FERRIS, R. L. Evaluation of a thyroid nodule. **Otolaryngologic clinics of North America**, v. 43, n. 2, p. 229-238, 2010. ISSN 0030-6665.
- BRUNI, P. et al. PTEN expression is reduced in a subset of sporadic thyroid carcinomas: evidence that PTEN-growth suppressing activity in thyroid cancer cells is mediated by p27kip1. **Oncogene**, v. 19, n. 28, p. 3146, 2000. ISSN 0950-9232.
- CANTARA, S. et al. Impact of proto-oncogene mutation detection in cytological specimens from thyroid nodules improves the diagnostic accuracy of cytology. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 95, n. 3, p. 1365-1369, 2010. ISSN 0021-972X.
- CASES, J. A.; SURKS, M. I. The changing role of scintigraphy in the evaluation of thyroid nodules. *Seminars in nuclear medicine*, 2000, Elsevier. p.81-87.
- CERESINI, G. et al. Estrogen receptor (ER)- β , but not ER- α , is present in thyroid vessels: immunohistochemical evaluations in multinodular goiter and papillary thyroid carcinoma. **Thyroid**, v. 16, n. 12, p. 1215-1220, 2006. ISSN 1050-7256.

- CIAMPI, R.; NIKIFOROV, Y. E. RET/PTC rearrangements and BRAF mutations in thyroid tumorigenesis. **Endocrinology**, v. 148, n. 3, p. 936-941, 2007. ISSN 0013-7227.
- CIBAS, E. S.; ALI, S. Z. The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology. **American journal of clinical pathology**, v. 132, n. 5, p. 658-665, 2009. ISSN 0002-9173.
- DANESE, D. et al. Diagnostic accuracy of conventional versus sonography-guided fine-needle aspiration biopsy of thyroid nodules. **Thyroid**, v. 8, n. 1, p. 15-21, 1998. ISSN 1050-7256.
- DAVIES, L.; WELCH, H. G. Current thyroid cancer trends in the United States. **JAMA Otolaryngology–Head & Neck Surgery**, v. 140, n. 4, p. 317-322, 2014. ISSN 2168-6181.
- DEAN, D. S.; GHARIB, H. Epidemiology of thyroid nodules. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 22, n. 6, p. 901-911, 2008. ISSN 1521-690X.
- DERWAHL, M.; NICULA, D. Estrogen and its role in thyroid cancer. **Endocrine-related cancer**, v. 21, n. 5, p. T273-T283, 2014. ISSN 1351-0088.
- DICKSON, R. B.; LIPPMAN, M. E. Growth factors in breast cancer. **Endocrine reviews**, v. 16, n. 5, p. 559-589, 1995. ISSN 0163-769X.
- FADDA, G. et al. Follicular thyroid neoplasms can be classified as low-and high-risk according to HBME-1 and Galectin-3 expression on liquid-based fine-needle cytology. **European Journal of Endocrinology**, v. 165, n. 3, p. 447-453, 2011. ISSN 0804-4643.
- FARAHATI, J. et al. Characteristics of differentiated thyroid carcinoma in children and adolescents with respect to age, gender, and histology. **Cancer**, v. 80, n. 11, p. 2156-2162, 1997. ISSN 1097-0142.
- FAROUX, M. et al. Evaluation of the monoclonal antibody antithyroperoxidase MoAb47 in the diagnostic decision of cold thyroid nodules by fine-needle aspiration. **Pathology-Research and Practice**, v. 193, n. 10, p. 705-712, 1997. ISSN 0344-0338.
- FRANCO, C. et al. Molecular markers in thyroid fine-needle aspiration biopsy: a prospective study. **Applied immunohistochemistry & molecular morphology**, v. 17, n. 3, p. 211-215, 2009. ISSN 1062-3345.
- GILLANDERS, S.; O'NEILL, J. Prognostic markers in well differentiated papillary and follicular thyroid cancer (WDTC). **European Journal of Surgical Oncology (EJSO)**, 2017. ISSN 0748-7983.
- GILLILAND, F. D. et al. Prognostic factors for thyroid carcinoma. **Cancer**, v. 79, n. 3, p. 564-573, 1997. ISSN 1097-0142.
- GOMEZ, N. R. et al. Tumor size and presence of calcifications on ultrasonography are pre-operative predictors of lymph node metastases in patients with papillary thyroid cancer. **Journal of surgical oncology**, v. 104, n. 6, p. 613-616, 2011. ISSN 1096-9098.
- GREENE, G. L. et al. Immunochemical studies of estrogen receptors. **Journal of steroid**

biochemistry, v. 20, n. 1, p. 51-56, 1984. ISSN 0022-4731.

GUTH, S. et al. Very high prevalence of thyroid nodules detected by high frequency (13 MHz) ultrasound examination. **European journal of clinical investigation**, v. 39, n. 8, p. 699-706, 2009. ISSN 1365-2362.

HAY, I. D. et al. Papillary thyroid microcarcinoma: a study of 900 cases observed in a 60-year period. **Surgery**, v. 144, n. 6, p. 980-988, 2008. ISSN 0039-6060.

HEGEDÜS, L. Thyroid ultrasound. **Endocrinology and metabolism clinics of North America**, v. 30, n. 2, p. 339-360, 2001. ISSN 0889-8529.

_____. The thyroid nodule. **New England Journal of Medicine**, v. 351, n. 17, p. 1764-1771, 2004. ISSN 0028-4793.

HEIKKILA, A. et al. Loss of estrogen receptor Beta expression in follicular thyroid carcinoma predicts poor outcome. **Thyroid**, v. 23, 2013. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1089/thy.2012.0363> >.

HELDRING, N. et al. Estrogen receptors: how do they signal and what are their targets. **Physiological reviews**, v. 87, n. 3, p. 905-931, 2007. ISSN 0031-9333.

HORN-ROSS, P. L. et al. Hormonal factors and the risk of papillary thyroid cancer in the California Teachers Study cohort. **Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers**, v. 20, n. 8, p. 1751-1759, 2011. ISSN 1055-9965.

HUANG, Y. et al. Differential expression patterns and clinical significance of estrogen receptor- α and β in papillary thyroid carcinoma. **BMC Cancer**, v. 14, n. 1, p. 383, 2014. ISSN 1471-2407. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2407-14-383> >.

KABAT, G. C. et al. Menstrual and reproductive factors, exogenous hormone use, and risk of thyroid carcinoma in postmenopausal women. **Cancer Causes & Control**, v. 23, n. 12, p. 2031-2040, 2012. ISSN 0957-5243.

KONONEN, J. et al. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. **Nature medicine**, v. 4, n. 7, p. 844-847, 1998.

KUIPER, G. G. et al. Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors α and β . **Endocrinology**, v. 138, n. 3, p. 863-870, 1997. ISSN 0013-7227.

LANG, B. H.-H. et al. Prognostic Factors in Papillary and Follicular Thyroid Carcinoma: Their Implications for Cancer Staging. **Annals of Surgical Oncology**, v. 14, n. 2, p. 730-738, 2007. ISSN 1534-4681. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1245/s10434-006-9207-5> >.

LEENHARDT, L. et al. Advances in diagnostic practices affect thyroid cancer incidence in France. **European Journal of Endocrinology**, v. 150, n. 2, p. 133-139, 2004. ISSN 0804-4643.

LEVIN, E. R. Invited Review: Cell localization, physiology, and nongenomic actions of

estrogen receptors. **Journal of Applied Physiology**, v. 91, n. 4, p. 1860-1867, 2001. ISSN 8750-7587.

LI, N. et al. Impact of enhanced detection on the increase in thyroid cancer incidence in the United States: review of incidence trends by socioeconomic status within the surveillance, epidemiology, and end results registry, 1980–2008. **Thyroid**, v. 23, n. 1, p. 103-110, 2013. ISSN 1050-7256.

LIU, J. et al. Serum levels of sex hormones and expression of their receptors in thyroid tissue in female patients with various types of thyroid neoplasms. **Pathology-Research and Practice**, v. 210, n. 12, p. 830-835, 2014. ISSN 0344-0338.

LORD, R. S.; BONGIOVANNI, B.; BRALLEY, J. A. Estrogen metabolism and the diet-cancer connection: rationale for assessing the ratio of urinary hydroxylated estrogen metabolites. **Alternative Medicine Review**, v. 7, n. 2, p. 112-129, 2002. ISSN 1089-5159.

MAGRI, F. et al. ER-alpha and ER-beta expression in differentiated thyroid cancer: relation with tumor phenotype across the TNM staging and peri-tumor inflammation. **Endocrine**, v. 49, n. 2, p. 429-435, 2015. ISSN 1355-008X.

MAGRI, F. et al. Expression of estrogen and androgen receptors in differentiated thyroid cancer: an additional criterion to assess the patient's risk. **Endocr Relat Cancer**, v. 19, 2012. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1530/ERC-11-0389> >.

MELMED, S. et al. **Williams textbook of endocrinology**. Elsevier Health Sciences, 2015. ISBN 0323297382.

MOLETI, M. et al. Female Reproductive Factors and Differentiated Thyroid Cancer. **Frontiers in endocrinology**, v. 8, 2017.

MOLTENI, A. et al. Estradiol receptor-binding protein in head and neck neoplastic and normal tissue. **Archives of Surgery**, v. 116, n. 2, p. 207-210, 1981. ISSN 0004-0010.

MOSES, W. et al. Molecular testing for somatic mutations improves the accuracy of thyroid fine-needle aspiration biopsy. **World journal of surgery**, v. 34, n. 11, p. 2589-2594, 2010. ISSN 0364-2313.

MOSSELMAN, S.; POLMAN, J.; DIJKEMA, R. ER β : identification and characterization of a novel human estrogen receptor. **FEBS letters**, v. 392, n. 1, p. 49-53, 1996. ISSN 0014-5793.

NIKIFOROV, Y. E. et al. Impact of mutational testing on the diagnosis and management of patients with cytologically indeterminate thyroid nodules: a prospective analysis of 1056 FNA samples. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 96, n. 11, p. 3390-3397, 2011. ISSN 0021-972X.

NIKIFOROV, Y. E. et al. Molecular testing for mutations in improving the fine-needle aspiration diagnosis of thyroid nodules. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 94, n. 6, p. 2092-2098, 2009. ISSN 0021-972X.

NILSSON, S. et al. Mechanisms of estrogen action. **Physiological reviews**, v. 81, n. 4, p. 1535-1565, 2001. ISSN 0031-9333.

NIXON, I. J. et al. An international multi-institutional validation of age 55 years as a cutoff for risk stratification in the AJCC/UICC staging system for well-differentiated thyroid cancer. **Thyroid**, v. 26, n. 3, p. 373-380, 2016. ISSN 1050-7256.

PAPINI, E. et al. Risk of malignancy in nonpalpable thyroid nodules: predictive value of ultrasound and color-Doppler features. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 87, n. 5, p. 1941-1946, 2002. ISSN 0021-972X.

RAJORIA, S. et al. Estrogen activity as a preventive and therapeutic target in thyroid cancer. **Biomed Pharmacother**, v. 66, 2012. Disponível em: <
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2011.11.010>>.

ROSÁRIO, P. W. et al. Contribution of scintigraphy and ultrasonography to the prediction of malignancy in thyroid nodules with indeterminate cytology. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 54, n. 1, p. 56-59, 2010. ISSN 0004-2730.

ROSÁRIO, P. W. et al. Nódulo tireoidiano e câncer diferenciado de tireoide: atualização do consenso brasileiro. **Arquivos brasileiros de endocrinologia & metabologia. São Paulo. Vol. 57, n. 4 (jul. 2013), p. 240-264**, 2013. ISSN 0004-2730.

ROSSING, M. A. et al. Reproductive factors and risk of papillary thyroid cancer in women. **American journal of epidemiology**, v. 151, n. 8, p. 765-772, 2000. ISSN 0002-9262.

SAGGIORATO, E. et al. Characterization of thyroid 'follicular neoplasms' in fine-needle aspiration cytological specimens using a panel of immunohistochemical markers: a proposal for clinical application. **Endocrine-Related Cancer**, v. 12, n. 2, p. 305-317, 2005. ISSN 1351-0088.

SAKODA, L. C.; HORN-ROSS, P. L. Reproductive and Menstrual History and Papillary Thyroid Cancer Risk. **Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers**, v. 11, n. 1, p. 51-57, 2002. ISSN 1055-9965.

SHAMBAUGH, G. E. et al. Disparate thyroid imaging: combined studies with sodium pertechnetate Tc 99m and radioactive iodine. **Jama**, v. 228, n. 7, p. 866-869, 1974. ISSN 0098-7484.

SHERMA, S. I. Thyroid carcinoma. **The Lancet**, v. 361, n. 9356, p. 501-511, 2003. ISSN 0140-6736.

SIEGEL, R. et al. Cancer statistics. **CA Cancer. J. Clin**, v. 64, p. 9-29, 2014.

SIPOS, J.; MAZZAFERRI, E. Thyroid cancer epidemiology and prognostic variables. **Clinical oncology**, v. 22, n. 6, p. 395-404, 2010. ISSN 0936-6555.

SOARES, R. et al. 17 β -Estradiol-mediated vessel assembly and stabilization in tumor angiogenesis requires TGF β and EGFR crosstalk. **Angiogenesis**, v. 6, n. 4, p. 271-281, 2003. ISSN 0969-6970.

TUTTLE, R. M.; HAUGEN, B.; PERRIER, N. D. **Updated American Joint Committee on Cancer/Tumor-Node-Metastasis Staging System for Differentiated and Anaplastic Thyroid Cancer: What Changed and Why?**: Mary Ann Liebert, Inc. 140 Huguenot Street, 3rd Floor New Rochelle, NY 10801 USA 2017.

VAIMAN, M. et al. Diagnostic value of estrogen receptors in thyroid lesions. **Medical Science Monitor**, v. 16, n. 7, p. BR203-BR207, 2010. ISSN 1234-1010.

WEIHUA, Z. et al. Estrogen receptor (ER) β , a modulator of ER α in the uterus. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 97, n. 11, p. 5936-5941, 2000. ISSN 0027-8424.

WOLFF, A. C. et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. **Journal of clinical oncology**, v. 31, n. 31, p. 3997-4013, 2013. ISSN 0732-183X.

ZENG, Q. et al. Oestrogen mediates the growth of human thyroid carcinoma cells via an oestrogen receptor-ERK pathway. **Cell Prolif**, v. 40, 2007. Disponível em: <
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2184.2007.00471.x>>.

APÊNDICE I

Nº	Idade	Sexo	Classificação	Variante	Tamanho	Localização	Adenoma	Hashimoto	Invasão de cápsula
1	38	Feminino	Papilífero	Clássico	1,8	Lobo e esquerdo	Sim	Sim	Sim
2	69	Feminino	Papilífero	Células Altas	8		Não	Não	Sim
3	52	Feminino	Papilífero	Clássico		Cisto tireoglossos	Não	Não	Não
4	37	Feminino	Papilífero	Folicular	2,5	Lobo e esquerdo	Sim	Não	Sim
5	37	Masculino	Papilífero	Clássico	3,5	Lobo direito	Não	Não	Sim
6	50	Feminino	Papilífero	Microcarcinoma	0,4	Lobo direito	Não	Não	Não
7	58	Feminino	Papilífero	Folicular	1,4	Lobo e esquerdo	Sim	Não	Não
8	85	Feminino	Papilífero	Células Altas	2		Não	Não	Sim
9	7	Feminino	Papilífero	Cibtriforme morular	1,9	Multicêntrico	Não	Não	Sim
10	25	Feminino	Papilífero	Folicular	2,5		Não	Não	Sim
11	46	Feminino	Papilífero	Clássico	3		Não	Não	Não
12	36	Feminino	Papilífero	Microcarcinoma	0,3	Lobo e esquerdo	Não	Não	Não
13	78	Feminino	Papilífero	Folicular	1,5	Lobo direito	Sim	Sim	Não
14	41	Feminino	Papilífero	Folicular	5	Lobo e esquerdo	Não	Não	Não
15	51	Masculino	Papilífero	Folicular	3,5	Lobo direito	Não	Não	Não
16	17	Masculino	Papilífero	Esclerosante difusa	4,5	Lobo e esquerdo	Não	Não	Sim
17	56	Feminino	Papilífero	Células de Huthler	2,2	Lobo e esquerdo	Sim	Não	Sim
18	56	Feminino	Papilífero	Folicular	1,8	Lobo direito	Sim	Não	Sim
19	44	Masculino	Papilífero	Clássico	2,5	Lobo direito	Não	Não	Não
20	44	Masculino	Papilífero	Microcarcinoma	0,8	Multicêntrico	Não	Sim	Sim
21	50	Feminino	Papilífero	Clássico	2	Lobo direito	Sim	Sim	Não
22	33	Feminino	Papilífero	Microcarcinoma	0,4	Lobo direito	Não	Não	Não
23	37	Feminino	Papilífero	Microcarcinoma	0,4	Lobo e esquerdo	Não	Não	Não
24	71	Feminino	Papilífero	Microcarcinoma	0,7	Lobo direito	Não	Sim	Não
25	46	Feminino	Papilífero	Clássico	3,7	Multicêntrico	Não	Não	Sim
26	30	Feminino	Papilífero	Clássico	1,7	Multicêntrico	Sim	Não	Não
27	42	Feminino	Papilífero	Microcarcinoma	0,7	Lobo direito	Sim	Não	Não
28	55	Feminino	Papilífero	Folicular	3	Multicêntrico	Sim	Sim	Sim
29	38	Feminino	Papilífero	Células colunares	1,5	Lobo direito	Sim	Não	Não
30	49	Feminino	Papilífero	Clássico	1,3	Lobo direito	Sim	Sim	Não
31	78	Masculino	Papilífero	Microcarcinoma	0,8		Não	Sim	Não
32	56	Feminino	Papilífero	Clássico	1,7	Multicêntrico	Sim	Sim	Não

Nº	Idade	Sexo	Classificação	Variante	Tamanho	Localização	Adenoma	Hashimoto	Invasão de cápsula
33	38	Feminino	Papilífero	Células Altas	2	Multicêntrico	Não	Sim	Não
34	20	Masculino	Papilífero	Clássico	2,3	Multicêntrico	Não	Não	Não
35	78	Feminino	Folicular		3,5	Multicêntrico	Não	Não	Não
36	59	Feminino	Papilífero	Folicular	1,3	Multicêntrico	Não	Não	Não
37	47	Feminino	Papilífero	Folicular	1,7	Lobo e esquerdo	Sim	Não	Não
38	51	Feminino	Papilífero	Folicular	3,9	Multicêntrico	Não	Sim	Sim
39	32	Feminino	Papilífero	Clássico	3	Multicêntrico	Não	Sim	Não
40	58	Feminino	Papilífero	Microcarcinoma	0,8	Lobo e esquerdo	Não	Não	Não
41	47	Feminino	Papilífero	Clássico	3	Multicêntrico	Sim	Não	Sim
42	75	Feminino	Papilífero	Folicular	5,5	Multicêntrico	Não	Não	Não
43	31	Feminino	Papilífero	Microcarcinoma	0,7	Multicêntrico	Não	Não	Não
44	50	Feminino	Papilífero	Microcarcinoma	1	Multicêntrico	Não	Não	Não
45	38	Feminino	Papilífero	Folicular	4,8	Lobo e esquerdo	Não	Sim	Não
46	49	Feminino	Papilífero	Folicular	1,4	Lobo direito	Não	Não	Não
47	72	Feminino	Papilífero	Clássico	2,7	Multicêntrico	Sim	Sim	Não
48	63	Feminino	Papilífero	Microcarcinoma	0,5	Lobo direito	Não	Não	Não
49	18	Masculino	Papilífero	Clássico	1,7	Multicêntrico	Não	Sim	Sim
50	61	Feminino	Papilífero	Microcarcinoma	0,4	Multicêntrico	Não	Não	Não
51	55	Feminino	Papilífero	Microcarcinoma	0,6	Multicêntrico	Não	Não	Não
52	53	Feminino	Papilífero	Clássico	1,2	Multicêntrico	Não	Não	Não
53	42	Feminino	Papilífero	Microcarcinoma	1	Lobo direito	Não	Sim	Não
54	46	Feminino	Papilífero	Folicular	1,1	Multicêntrico	Não	Sim	Sim
55	55	Feminino	Papilífero	Folicular	2,2	Multicêntrico	Não	Não	Não
56	40	Feminino	Papilífero	Folicular	1,2	Multicêntrico	Sim	Sim	Sim
57	44	Feminino	Papilífero	Células Altas	2,5	Lobo e esquerdo	Sim	Não	Sim
58	60	Feminino	Papilífero	Clássico	1,3	Lobo e esquerdo	Não	Não	Não
59	63	Feminino	Papilífero	Microcarcinoma	0,5		Sim	Não	Não
60	60	Feminino	Papilífero	Microcarcinoma	0,8	Lobo direito	Sim	Sim	Não
61	54	Feminino	Papilífero	Microcarcinoma	1	Lobo direito	Sim	Não	Não
62	50	Feminino	Papilífero	Folicular	4	Lobo direito	Não	Não	Sim
63	64	Masculino	Papilífero	Clássico	1,3	Multicêntrico	Não	Não	Não
64	79	Feminino	Papilífero	Microcarcinoma	1	Lobo e esquerdo	Não	Sim	Não

Nº	Idade	Sexo	Classificação	Variante	Tamanho	Localização	Adenoma	Hashimoto	Invasão de capsula
65	48	Feminino	Papilífero	Microcarcinoma	0,8	Istmo	Sim	Não	Não
66	21	Feminino	Papilífero	Clássico	1,2	Lobo e squerdo	Não	Sim	Não
67	28	Feminino	Papilífero	Clássico	2	Multicêntrico	Não	Não	Não
68	43	Feminino	Papilífero	Folicular	1,3	Multicêntrico	Não	Não	Não
69	27	Feminino	Papilífero	Clássico	1,8	Lobo e squerdo	Não	Não	Não
70	48	Feminino	Papilífero	Microcarcinoma	0,5	Lobo e squerdo	Sim	Não	Não
71	59	Feminino	Papilífero	Células Altas	5	Lobo e squerdo	Sim	Não	Não
72	49	Feminino	Papilífero	Folicular	1,7	Lobo direito	Sim	Não	Não
73	32	Feminino	Folicular		4,5	Lobo e squerdo	Não	Não	Sim
74	49	Feminino	Papilífero	Microcarcinoma	0,8	Lobo e squerdo	Sim	Não	Não
75	50	Feminino	Papilífero	Células Altas	1,8	Lobo direito	Não	Sim	Sim
76	61	Feminino	Papilífero	Clássico	1,4	Lobo direito	Não	Não	Sim
77	58	Feminino	Papilífero	Folicular	1,4	Lobo direito	Sim	Não	Sim
24_F	37	Feminino	Folicular		4,5	Lobo e squerdo	Não	Não	Não
55_F	53	Feminino	Folicular		3,8	Multicêntrico	Não	Não	Sim

Nº	Invasão Linfática	Rej	Rej Tecnomial	Follow up	Recidiva	Metástase	T	N	RT	Dose RT	Estadiamento
1	Sim	Sem marcação		7	Não	Não	T1b	N1a	SIM	150	I
2	Sim	< 5%		7	Não	Não	T3a	N1a	SIM	150	II
3	Não	> 25%		5	Não	Não	T2	N1a	SIM		I
4	Sim	> 25%		7	Não	Não	T2	N0a	SIM		I
5	Sim	< 5%		7	Não	Não	T1a	N0a	SIM	117	I
6	Não	Sem marcação		7	Não	Não	T1b	N0a	SIM		I
7	Não	> 25%		6	Sim	Sim	N0a	SIM			I/b
8	Sim	> 25%		7	Sim	Sim	T1b	N1a	SIM		II
9	Sim	> 25%	5-25%	7	Sim	Sim	T2	N1a			I
10	Sim	> 25%		2	Não	Não	T2	N1a	SIM	100	I
11	Sim	> 25%	Sem marcação	2	Não	Não	T1a	N1a			I
12	Não	> 25%	Sem marcação	5	Não		T1b				I
13	Não	< 5%					T1b				I
14	Não	Sem marcação					T3a				I
15	Não	< 5%					T2				I
16	Sim	> 25%		6	Não	Sim	T3b	N1a	SIM	614	II
17	Sim	> 25%		5	Não	Não	T3b		SIM		II
18	Sim	> 25%	5-25%	4	Não	Não	T1b		SIM	165	I
19	Não	> 25%		5	Não	Não	T2		SIM	107	I
20	Sim	< 5%	Sem marcação	6	Não	Não	T1a		SIM	124	I
21	Não	> 25%		6	Não	Não	T1b	N1a	SIM		I
22	Não	> 25%		3	Não		T1a		NÃO		I
23	Não	> 25%					T3b				I
24	Não	Sem marcação		5	Não		T1a				I
25	Sim	> 25%		5	Não	Não	T3b	N1a	SIM		I
26	Sim	Sem marcação		4	Não	Não	T1b	N0a	SIM		I
27	Não	> 25%	< 5%				T1a				I
28	Sim	5-25%					T2				I
29	Não	> 25%					T1b				I
30	Não	5-25%		3	Não	Não	T1b	N0a	SIM	100	I
31	Não	> 25%					T1a	N1a	NÃO		II
32	Não	< 5%					T1b	N0a			I

Nº	Invasão Linfática	REF	Ref Tecnornal	Follow up	Recidiva	Metastase	T	N	RTT	Dose RTT	Estadimento
33	Não	> 25%			Não	Não	T1b	N1a	SIM	150	I
34	Não	> 25%	Sem marcação	5	Não		T2	N1a			I
35	Não	> 25%		2		Sim	T4b		SIM	150	I
36	Não	> 25%					T1b				I
37	Não	> 25%		5	Não		T1b	N1a	NÃO		I
38	Não	> 25%		5	Não	Não	T2		SIM		I
39	Não	> 25%		4	Não	Não	T2		SIM	150	I
40	Não	> 25%	> 25%				T1a				I
41	Sim	5-25%		5	Sim	Não	T2	N1a	SIM	150	I
42	Não	Sem marcação		1	Não	Não	T3a	N0a	SIM		II
43	Não	< 5%		5	Não		T1a		NÃO		I
44	Não	5-25%	Sem marcação				T1a				I
45	Não	Sem marcação		5	Não	Não	T3a	N0a	SIM		I
46	Sim	> 25%		5	Não	Não	T1b		SIM		I
47	Não	> 25%		5	Não	Não	T2	N1a	SIM	170	II
48	Não	5-25%		2	Não		T1a		NÃO		I
49	Sim	> 25%	Sem marcação	4	Não	Não	T1b	N1a	SIM	158	I
50	Não	5-25%		5			T1a	N0a	NÃO		I
51	Sim	< 5%		4	Não	Não	T1a		SIM	150	I
52	Não	> 25%	< 5%	5	Não	Não	T1b		SIM		I
53	Não	> 25%		3	Não	Não	T1a		SIM	100	I
54	Não	> 25%					T1b				I
55	Sim	> 25%		5			T2				I
56	Não	Sem marcação		1	Não	Não	T1b		SIM	107	I
57	Sim	> 25%		5	Não	Não	T2	N0a	SIM	100	I
58	Não	> 25%	Sem marcação	4	Não		T1b		NÃO		I
59	Não	> 25%		3	Não		T1a		NÃO		I
60	Não	> 25%		1	Não		T1a		NÃO		I
61	Não	5-25%		3	Não		T1a		NÃO		I
62	Não	> 25%					T3a				I
63	Não	Sem marcação		1	Não	Não	T1b	N1a	SIM	150	II
64	Não	> 25%					T1a				I

Nº	Invasão Linfática	REF	Ref Tecnornal	Follow up	Recidiva	Metástase	T	N	RIT	Dose RIT	Estadimento
65	Não	> 25%	Sem marcação	1	Não		T1a	NÃO			I
66	Não	> 25%		4	Não		T1b	NÃO			I
67	Sim	> 25%		4	Não	Não	T1b	N1a	SIM	150	I
68	Não	> 25%		3	Não		T1b	NÃO			I
69	Sim	> 25%		3	Não		T1b	N1a	NÃO		I
70	Não	> 25%		3	Não		T1a	NÃO			I
71	Sim	> 25%		3	Não	Sim	T3a	NÃO			IVb
72	Não	> 25%		3	Não		T1b	NÃO			I
73	Não	Sem marcação					T3a				I
74	Não	> 25%		3	Não		T1a	NÃO			I
75	Não	> 25%		2	Não		T1b	NÃO			I
76	Sim	> 25%		3	Não	Não	T3b	N1a	SIM		II
77	Não	> 25%		2	Não		T1b	NÃO			I
24_F	Sim	> 25%					T3a				
55_F	Não	< 5%	< 5%		Não	Não	T2	SIM			