

O PERFIL EPIDEMIOLÓGICO E O DESEMPENHO DA GAL-3 E CK-19 EM LESÕES FOLICULARES E SUSPEITAS PARA MALIGNIDADE DA TIREOIDE.

THE EPIDEMIOLOGICAL PROFILE AND THE PERFORMANCE OF GAL-3 AND CK-19 IN FOLLICULAR LESIONS AND SUSPICIOUS FOR MALIGNANCY OF THE THYROID.

Ana Elisa Rocha **TETILLA**², Isabela **MOREIRA**², Ana Cristina Lira **SOBRAL**¹, Luiz Martins **COLLAÇO**¹, Antônio Carlos Moreira **AMARANTE**¹, Antônio Lacerda **SANTOS FILHO**¹, Aristides Schier da **CRUZ**¹, José Leon **ZINDELUK**¹, José Fernando **POLANSKI**¹, Stênio Lujan **CAMACHO**¹.

Rev. Méd. Paraná/1444

Tetilla AER, Moreira I, Sobral ACL, Collaço LM, Amarante ACM, Santos Filho AL, Cruz AS, Zindeluk JL, Polanski JF, Camacho SL. O Perfil Epidemiológico e o Desempenho da Gal-3 e CK-19 em Lesões Foliculares e Suspeitas para Malignidade da Tireoide. Rev. Méd. Paraná, Curitiba, 2017;75(1):89-93.

RESUMO - Objetivos: Analisar dados epidemiológicos de pacientes submetidos à PAAF, classificados como lesões foliculares (classe IV) e suspeitos para malignidade (classe V) pelo Sistema Bethesda para Laudos Citopatológicos da Tireoide e avaliar o desempenho do painel imunocitoquímico com os marcadores CK-19, Galectina-3 e HBME-1 no diagnóstico destes pacientes. Metodologia: Estudo retrospectivo transversal, que analisou 24 laudos anatomopatológicos do Centro de Patologia de Curitiba, entre 2011 e 2014, classificados como classe IV e V do Sistema Bethesda, cujas lâminas foram avaliadas pela imunocitoquímica, usando-se os marcadores CK-19, GAL-3 e HBME-1. Resultados: 83,3% dos pacientes eram mulheres, com idade média de 45,7 anos. O tamanho médio das lesões foi 12,5mm, localizadas 56,5% no lobo D. O painel de marcadores apresentou sensibilidade 100%, especificidade 90,5% e eficácia 95,5% para as lesões avaliadas. Conclusão: A imunocitoquímica demonstrou-se um exame pré-operatório eficaz para diferenciação de lesões foliculares e suspeitas para malignidade do carcinoma papilífero da tireoide.

DESCRITORES - Imunocitoquímica, Nódulos da tireoide, Lesões Foliculares.

INTRODUÇÃO

Segundo dados do Instituto Nacional de Câncer, os cânceres de tireoide, apesar de serem considerados raros, representam de 2 a 5% dos casos de câncer no sexo feminino e 2% dos casos no sexo masculino mundial. Nas últimas décadas, foi observado um padrão de aumento da incidência (cerca de 1% ao ano) das neoplasias tireoidianas, possivelmente devido melhorias nos métodos diagnósticos, como o emprego de biópsias guiadas por imagem, destacando-se o uso do ultrassom^(1, 2).

A ampla variedade de tipos morfológicos dessas neoplasias consiste em um grande desafio diagnóstico até mesmo para os patologistas mais experientes na área. Geralmente são lesões benignas, mas cerca de 5% são malignas^(7, 8,9). O grupo mais desafiador é o “padrão folicular”, que inclui nódulos adenomatosos ou hiperplásicos, adenomas foliculares, carcinomas foliculares e variantes foliculares dos carcinomas papilífero^(3, 4). Embora 10 a 30% de todas as PAAF resultem no diagnóstico de padrão folicular, na prática clínica somente 20% têm diagnóstico de carcinoma na análise histológica final⁽¹⁰⁾.

Para otimizar as decisões terapêuticas e diminuir as divergências diagnósticas, surgiram métodos auxiliares de diagnóstico, associados à punção aspirativa por agulha fina (PAAF), como a imunocitoquímica, cuja eficácia ainda é discutida. A imunocitoquímica é realizada através de marcadores

Para otimizar as decisões terapêuticas e diminuir as divergências diagnósticas, surgiram métodos auxiliares de diagnóstico, associados à punção aspirativa por agulha fina (PAAF), como a imunocitoquímica, cuja eficácia ainda é discutida. A imunocitoquímica é realizada através de marcadores

Trabalho realizado no Hospital Universitário Evangélico de Curitiba e Instituto de Pesquisa Denton Cooley, Curitiba, PR, Brasil.

1 - Acadêmico do Curso de Medicina da Faculdade Evangélica do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.

2 - Professor do Curso de Medicina da Faculdade Evangélica do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.

biológicos como a CK-19, GAL-3 e HBME-1, os quais mostraram ser os mais promissores em casos suspeitos de câncer da tireoide^(3, 5,11).

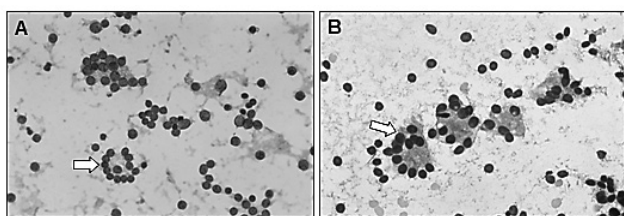
MATERIAL E MÉTODO

Trata-se de um estudo retrospectivo transversal, no qual foram avaliados laudos citopatológicos e anatomopatológicos compreendidos entre o período de janeiro de 2011 e dezembro de 2014, a partir dos arquivos eletrônicos do Centro de Patologia de Curitiba-PR do Hospital Nossa Senhora das Graças. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa com o nº do parecer: 1.250.110.

Foram selecionados para o trabalho os pacientes submetidos à PAAF, com diagnósticos relatados como classe IV e V do Sistema Bethesda para Laudo Citopatológicos de Tireoide. As lâminas utilizadas foram coradas previamente pelo Papanicolaou (Figura 1), e submetidas à imunocitoquímica para complementação diagnóstica com os marcadores CK-19, Galectina-3 e HBME-1. Os marcadores foram considerados positivos quando expressos difusa e fortemente (Figura 2).

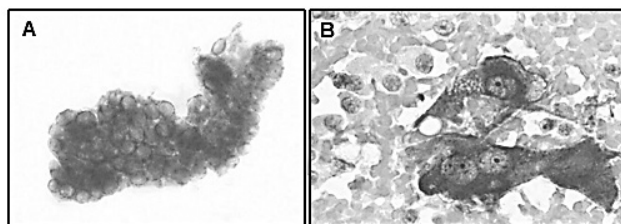
As variáveis analisadas foram: sexo, idade, tamanho das lesões tireoidianas em milímetros e sua localização. O desempenho dos marcadores biológicos foi avaliado por índices epidemiológicos, calculando-se sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN) e eficácia destes na diferenciação das lesões malignas e benignas, separando a amostra em grupos submetidos ou não ao tratamento cirúrgico.

FIGURA 1. LÂMINAS CORADAS PELO PAPANICOLAOU. A, NEOPLASIA FOLICULAR CLASSE IV DO SISTEMA BETHESDA, COM GRUPOS DE CÉLULAS FOLICULARES, ÀS VEZES FORMANDO FOLÍCULOS, NÚCLEOS REDONDOS (SETA), E COM CROMATINA HOMOGÊNEA (AUMENTO 100X). B, NEOPLASIA FOLICULAR SUSPEITA PARA CP CLASSE V DO SISTEMA BETHESDA, COM GRUPOS DE CÉLULAS FOLICULARES ÀS VEZES FORMANDO FOLÍCULOS, NÚCLEOS REDONDOS OU OVOIDES (SETA), HIPERCROMASIA NUCLEAR (AUMENTO 100X).



Fonte: Elaborado pelos autores (2016)

FIGURA 2. MARCADORES POSITIVOS. A, IMUNOCITOQUÍMICA POSITIVA PARA MARCADOR CK-19, EM CASO COM DIAGNÓSTICO À PAAF CLASSE V DO SISTEMA BETHESDA COM RESULTADO FINAL DE VARIANTE FOLICULAR DO CARCINOMA PAPILÍFERO (AUMENTO 400X). B, IMUNOCITOQUÍMICA POSITIVA PARA MARCADOR GAL-3 EM CASO COM DIAGNÓSTICO À PAAF CLASSE IV DO SISTEMA BETHESDA COM RESULTADO FINAL DE CARCINOMA PAPILÍFERO (AUMENTO 400X).



Fonte: Elaborado pelos autores (2016).

Os pacientes não submetidos à cirurgia foram excluídos desta análise, visto que para o seu cálculo foi realizada a comparação da imunocitoquímica com os resultados da histologia da peça cirúrgica, padrão-ouro para diagnóstico.

Os resultados de variáveis quantitativas foram descritos por médias, medianas, valores mínimos, valores máximos e desvios padrões. Para variáveis qualitativas foram apresentadas frequências e percentuais. A associação entre duas variáveis qualitativas foi avaliada usando-se o teste exato de Fisher. Valores de $p < 0,05$ indicaram significância estatística. Os dados foram analisados com o programa computacional IBM SPSS Statistics v.20.

RESULTADOS

Dos laudos analisados 83,3% (n=20) eram do sexo feminino e 16,7% (n=4) do sexo masculino. A média de idade de 45,7 anos. A média da lesão ficou em 12,5mm. A localização dos nódulos foi predominante no lobo direito, com 56,5% (n=13).

Os nódulos submetidos à PAAF inicialmente foram diagnosticados com n=18 (75%) classe IV e n=6 (25%) classe V. Os diagnósticos obtidos a partir da imunocitoquímica foram: 37% (n=9) bócio hiperplásico/adenoma-II, 17% (n=4) suspeita de malignidade-V, 17% (n=4) neoplasia folicular-IV e 29% (n=7) carcinoma papilífero-VI.

Baseado nos resultados da PAAF e da imunocitoquímica, foram traçados os planos terapêuticos para cada paciente: tireoidectomia total com análise histológica da peça (54.5%), agendamento da uma nova PAAF após seis meses (32%) e seguimento clínico (13,5%).

Os 12 pacientes submetidos à tireoidectomia total e ao estudo histológico apresentaram como resultados de confirmação diagnóstica predominantemente CP (91,7%), dentre os quais n=2 (18%) foram VFPC, e o restante como CF (8,3%).

Com relação à expressão do marcador CK-19, 100% (n=10) dos pacientes que não realizaram a cirurgia possuíam o marcador negativo (-). Já os pacientes

que realizaram tireoidectomia total, 90,9% (n=10) foram positivos para o marcador, contra 9,1% (n=1) negativo. Constatou-se um $p < 0,05$ com significância estatística entre os dois grupos. O resultado de sensibilidade foi igual a 100%, especificidade 90%, eficácia 96%, VPP 90% e VPN 100% (TABELA 1).

Os resultados do marcador GAL-3 foram semelhantes ao CK-19. Os pacientes com seguimento clínico ou PAAF após 6 meses foram 100% (n=10) negativos. Os indicados para o manejo cirúrgico apresentaram 90% (n=10) positivos e 10% (n=1) negativo para o marcador, com $p < 0,05$ indicando significância estatística. A GAL-3 apresentou sensibilidade 100%, especificidade 91%, eficácia 95%, VPP 90% e VPN 100% (TABELA 1).

A análise do marcador HBME-1 estava presente em n=6 dos 24 casos analisados. Sua expressão não mostrou significância estatística com $p > 0,05$ (TABELA 1).

TABELA 1 – RELAÇÃO DO CK-19/GAL-3/HBME-1 X REALIZAÇÃO DE CIRURGIA (%)

| Imunocitoquímica | CK-19 | | GAL-3 | | HBME-1 | |
|------------------|--------------|-------------|--------------|------------|-------------|-------------|
| | Cirurgia | | Cirurgia | | Cirurgia | |
| | Não | Sim | Não | Sim | Não | Sim |
| Negativo | 10 100,0% | 1 9,1% | 10 100,0% | 1 10,0% | 1 100,0% | 0 0,0% |
| Positivo | 0 0,0% | 10 90,9% | 0 0,0% | 9 90,0% | 0 0,0% | 5 100,0% |
| Total | 10 | 11 | 10 | 10 | 1 | 5 |
| Valor do p | < 0,001 | | < 0,001 | | < 0,167 | |

Fonte: Elaborada pelos autores (2016)

Em relação ao grupo submetido à cirurgia, os 12 (100%) casos tiveram diagnóstico final de malignidade. Houve dois diagnósticos na imunocitoquímica de neoplasia folicular, dentre estes, um resultou, na histologia, como VFPC (falso negativo), com um padrão CK-19 (+) e GAL-3 (-). O segundo caso obteve diagnóstico final de CF, com padrão na imunocitoquímica CK-19 (+) e GAL-3 (Inconclusivo) (TABELA 2).

TABELA 2 – ACOMPANHAMENTO DOS PACIENTES SUBMETIDOS À CIRURGIA

| Caso | PAAF (Bethesda) | CK19 | GAL3 | HBME1 | Dx. da Imunocitoquímica (Bethesda) | Dx. Final (histologia) |
|------|-----------------|------|------|-------|------------------------------------|------------------------|
| 1 | IV | + | + | + | Suspeita de malignidade - V | CP |
| 2 | V | + | + | + | CP – VI | CP |
| 3 | V | + | + | + | CP – VI | CP |
| 4 | V | - | + | | Neoplasia folicular – IV | VFPC |

| | | | | | | |
|----|----|------|------|---|-----------------------------|------|
| 5 | IV | + | + | | CP – VI | CP |
| 6 | V | + | + | | CP – VI | CP |
| 7 | V | Inc. | Inc. | | Suspeito de malignidade - V | CP |
| 8 | V | + | - | | Suspeita de malignidade - V | VFPC |
| 9 | IV | + | Inc. | | Neoplasia folicular – IV | CF |
| 10 | IV | + | + | | Suspeito de malignidade - V | CP |
| 11 | IV | + | + | + | CP – VI | CP |
| 12 | IV | + | + | + | CP – VI | CP |

Fonte: Elaborado pelos autores (2016).

DISCUSSÃO

Desde sua implantação do Sistema Bethesda (2007), o índice de diagnósticos para malignidade subiu de 14% para 50%, sendo que a classe IV possui um risco de malignidade entre 15 a 30%, e a classe V um risco de 60 a 75%⁽¹²⁾. Ambas as classes foram incluídas neste estudo, com uma prevalência de 75% - classe IV e 25% - classe V. Ao serem associadas com a imunocitoquímica, 22,2% dos casos de classe IV foram confirmados como malignos em segunda análise, estando de acordo com a literatura. Para a classe V na PAAF, 50% tratavam-se de lesões malignas (CP), com índice um pouco abaixo do já citado anteriormente.

Em estudo realizado por Franco e colaboradores, o uso dos marcadores GAL-3 e HBME-1 juntos foi considerado excelente para o diagnóstico de neoplasias foliculares malignas e a VFPC, apresentando uma sensibilidade de 78,67% e especificidade de 84,13% com o uso de HBME-1, com VPP de 85,51% e VPN de 76,81%. E uma sensibilidade de 82,67% e especificidade 80,95%, com um VPP de 83,78% e VPN de 79,69% para a GAL-3⁽¹¹⁾.

De Matos e colaboradores utilizando os marcadores através da imunocitoquímica obtiveram auxílio diagnóstico em 81 dos 84 casos de CP, mas em apenas 24 dos 38 casos de CF. Em contrapartida, o mesmo painel auxiliou no diagnóstico de 84% dos casos de VFPC, sendo a expressão difusa e forte apenas nos casos de VFPC, padrão não encontrado nos casos de adenoma/CF. Assim houve uma considerável capacidade de distinguir a VFPC das demais lesões com padrão folicular⁽⁵⁾.

Neste estudo, o grupo submetido à tireoidectomia, após avaliado pelos marcadores, dentro das classes IV ou V e a malignidade foi confirmada pela histologia em todos os casos. Já o grupo de acompanhamento clínico, todos foram considerados pela imunocitoquímica

como benignos. O CK-19 e GAL-3 apresentaram bom desempenho na distinção das lesões malignas e benignas, com 100% de sensibilidade, 90% VPP e 100% de VPN ambas, além de 90% de especificidade do CK-19 e 91% de especificidade da GAL-3.

Comparando-se ambos os grupos, foi observada uma diferença significativa quanto à positividade para estes dois marcadores e a conduta estabelecida ($p < 0,001$), sendo que a maioria dos pacientes submetidos à cirurgia com posterior confirmação de malignidade apresentavam GAL-3 e CK-19 positivos, exceto nos dois casos de VFPC, onde observou-se positividade apenas para um dos marcadores. Tal fator pode estar relacionado a questões técnicas, como fixação do material, número de células no preparado ou dificuldade na remoção do bálsamo das lâminas, que podem influenciar na reação biológica. Houve apenas um caso de falso negativo, no qual a imunocitoquímica avaliou a lesão como neoplasia folicular, mas na histologia mostrou-se ser uma VFPC.

A análise do desempenho do marcador HBME-1 foi prejudicada pelo baixo número da amostra ($n=5$), devido a recente incorporação desse marcador ao protocolo do Centro de Patologia de Curitiba no painel imunocitoquímico em 2014.

Rodrigues e colaboradores acreditam que o uso de marcadores ainda apresenta uma grande variabilidade

de reprodução, podendo apresentar resultados controversos em diferentes estudos, o que pode ser justificado pelas diferentes técnicas empregadas pelos laboratórios, assim como possíveis erros de interpretação aos quais o material pode estar sujeito⁽¹³⁾.

Apesar desse fato, a pesquisa de marcadores moleculares e análise genética têm se mostrado promissoras dentro da oncologia, não se excluindo as neoplasias tireoidianas. Portanto, ressaltamos a importância de maiores estudos neste âmbito para que se possam alcançar painéis com alta sensibilidade e especificidade, principalmente para a diferenciação das lesões com padrão folicular.

CONCLUSÃO

O presente estudo concluiu que as neoplasias foliculares e suspeitas para malignidade classificadas pelo Sistema Bethesda predominaram no sexo feminino, com idade média de 45,7 anos. Predominaram os nódulos no lobo direito da glândula, com tamanho médio de 12,5mm.

A utilização da imunocitoquímica auxiliou na diferenciação de neoplasias benignas e malignas no pré-operatório dos pacientes estudados, através do painel utilizado, sobretudo CK-19 e GAL-3, com sensibilidade de 100%, especificidade de 90,5% e eficácia de 95,5%.

Tetilla AER, Moreira I, Sobral ACL, Collaço LM, Amarante ACM, Santos Filho AL, Cruz AS, Zindeluk JL, Polanski JF, Camacho SL. The epidemiological profile and the performance of GAL-3 and CK-19 in follicular lesions and suspicious for malignancy of the thyroid. *Rev. Méd. Paraná*, Curitiba, 2017;75(1):111-115.

ABSTRACT - Objectives: To analyze epidemiological data of patients who undergone FNA that was classified as follicular lesions (Class IV) and suspicious for malignancy (Class V) by the Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology and evaluate the performance of immunocytochemical panel with markers CK-19, Galectin-3 and HBME-1 in these patients. Methodology: This is a cross-sectional retrospective study. It was analyzed 24 pathological between 2011 and 2014, from the Curitiba Pathology Center, classified as Class IV and V in the Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology, which slides were stained with immunocytochemistry using the markers: CK-19 GAL-13 and HBME-1. Results: In this study 83.3% of the patients were women with a mean age of 45.7 years. The average size of the nodules was 12.5mm and 56.5% was located in the right lobe. Regarding the diagnosis of follicular lesions and suspicious for malignancy, the sensitivity of the exam with the standard biological markers used was 100%, specificity 90,5% and efficacy 95.5%. Conclusion: The immunocytochemistry demonstrated to be an effective pre-operative exam for differentiation of follicular lesions and suspicious for malignancy of papillary thyroid carcinoma.

KEYWORDS - Immunocytochemistry, Thyroid nodules, Follicular Lesions.

REFERÊNCIAS

1. Ministério da Saúde. Inca.gov.br/ [homepage na Internet]. Rio de Janeiro: Instituto Nacional do Câncer; 2016. [data de acesso em 2016 Jun 06]. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/>
2. Coeli CM, Brito AS, Barbosa FS, Ribeiro MG, Sieiro APAV, Vaisman M. Incidência e mortalidade por câncer de tireóide no Brasil. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2005; 9(4): 503-9.
3. Ferreira RC, Ward LS, Adam RL, Leite NJ, Metzke K, De Matos PS. Contribuição da análise da textura do núcleo celular para o diagnóstico diferencial de lesões foliculares da tireoide: comparação com marcadores imunocitoquímicos. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2009; 53(7): 804-810.
4. Baloch ZB, Fleisher S, LiVolsi VA, Gupta PK. Diagnosis of "follicular neoplasm": A gray zone in thyroid fine-needle aspiration cytology. *Diagn Cytopathol.* 2002 Jan; 26(1):41-4.
5. De Matos PS, Ferreira AP, Facuri FO, Assumpção LVM, Metz K, Ward LS. Usefulness of HBME-1, cytokeratin 19 and galectin-3 immunostaining in the diagnosis of thyroid malignancy. *Histopathology.* 2005; 47: 391-401.
6. Vartanian JG. Diagnóstico e tratamento do câncer de tireoide. *Rev Onco.* 2013 Mar, p 20-25.
7. Wajner SM, Maia AL. Nódulos de tireoide. *Rev HCPA.* 2012; 32(1): 118-9.

8. Rosário PW, Ward LS, Carvalho GA, Graf H, Maciel RMB, Maciel LMZ et al. Nódulo tireoidiano e câncer diferenciado de tireoide: atualização do consenso brasileiro. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2013; 4(4): 240-264.
 9. Mathur A, Olson MT, Zeiger MA. Follicular Lesions of the Thyroid. *Surg Clin N Am.* 2014; 94(3): 499-513.
 10. Cerutti JM. Nódulos com diagnóstico de padrão folicular: marcadores biológicos são o futuro? *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2007; 51(5): 832-842.
 11. Franco C, Martinez V, Allamand JP, Medina F, Glasinovic A, Osorio M, Schachter D. Molecular markers in thyroid fine-needle aspiration biopsy: a prospective study. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2009; 17(3): 211-5.
 12. Cibas ES, Ali SZ. The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. *Am J Clin Pathol.* 2009; 132: 658-665.
 13. Rodrigues HGC, De Pontes AAN, Adam LF. Doença nodular da tireoide: dificuldades e perspectivas no diagnóstico pré-operatório. *Rev Bras Med.* 2015; 72: 44-8.
-