

**KELY SILVEIRA MARCELLO**

**AVALIAÇÃO PÓS OPERATÓRIA DE PACIENTES COM  
NÓDULOS DE TIREOIDE COM RESULTADO POSITIVO  
PARA MALIGNIDADE NO TESTE GENÉTICO MIR-THYPE:  
UM ESTUDO DE MUNDO REAL**

**Trabalho apresentado à Universidade  
Federal de Santa Catarina, como  
requisito para a conclusão do Curso de  
Graduação em Medicina.**

**Florianópolis  
Universidade Federal de Santa Catarina  
2023**

**KELY SILVEIRA MARCELLO**

**AVALIAÇÃO PÓS OPERATÓRIA DE PACIENTES COM  
NÓDULOS DE TIREOIDE COM RESULTADO POSITIVO  
PARA MALIGNIDADE NO TESTE GENÉTICO MIR-THYPE:  
UM ESTUDO DE MUNDO REAL**

**Trabalho apresentado à Universidade  
Federal de Santa Catarina como requisito  
para a conclusão do Curso de Graduação  
em Medicina.**

**Presidente do colegiado: Prof. Dr. Edevard José de Araújo  
Professora orientadora: Profa. Dra. Maria Isabel Cunha Vieira Cordioli**

**Florianópolis  
Universidade Federal de Santa Catarina  
2023**

Marcello, Kely Silveira

Avaliação pós-operatória de pacientes com nódulos de tireoide com resultado positivo para malignidade no teste genético mir-type: um estudo de mundo real / Kely Silveira Marcello ; orientadora, Maria Isabel Cunha Vieira Cordioli, 2023.

30 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Graduação em Medicina, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Medicina. 2. Nódulo da glândula tireoide. 3. Câncer de tireoide. 4. Testes genéticos. 5. MicroRNAs. I. Cordioli, Maria Isabel Cunha Vieira. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Medicina. III. Título.

## AGRADECIMENTOS

De todas as dificuldades que tive durante o processo de realização desse trabalho, escrever essas palavras de agradecimento ao final de tudo isso com certeza foi a maior delas. Tenho tanto e quantos para agradecer que faltam elementos que expressem o suficiente.

Primeiramente, gostaria de agradecer aos meus pais, sem eles eu nada seria e nada alcançaria. À dona Izabel e ao seu Romildo, todo meu amor, esforço e dedicação. Se tive força pra chegar onde cheguei é porque me espelhei na mulher mais forte e formidável que conheço, aquela que tenho o privilégio de chamar de mãe. Ao meu pai, dedico essa conquista acadêmica, que sei que para ele muito representa e meu mais sincero amor. À minha irmã, Duany, que ao longo dos meus 26 anos esteve tantas vezes e está por mim todos os dias, meu muito obrigada, por tudo. Se estou onde estou e faço o que faço é por vocês e para vocês, e assim permanecerá sendo, sempre.

Ao meu bem e companheiro, Bruno, que esteve ao meu lado em tantos momentos difíceis ao longo desses dois últimos anos, obrigada. Obrigada por caminhar comigo, lutar minhas batalhas e aplaudir minhas vitórias, obrigada por se fazer parceiro em absolutamente todos os momentos, seja nas alegrias ou angústias. De tudo que a UFSC me ofereceu, tu és o maior dos presentes, e olha que ela me deu muita coisa. Eu te amo, te admiro e me espelho em ti, e é um privilégio compartilhar a vida contigo.

À minha sogra, que me amou como filha, me abraçou como amiga e me cuidou como uma mãe faz com os seus, meus mais sinceros agradecimentos. Ela é uma das mulheres mais admiráveis que conheço e sou extremamente grata por ter dona Patrícia como uma referência de vida.

À minha parceira de graduação e dupla de vida, Letícia, meu obrigada ficou em todos os nossos dias compartilhados e aqui quero apenas enaltecer a pessoa e médica incrível que eu vi você se tornar. És absolutamente incrível e foi um prazer trilhar esse caminho ao teu lado e crescermos tanto juntas. Obrigada por ser família, obrigada por ser irmã, obrigada por tudo e tanto, em todos esses 2117 dias de graduação.

À amiga Fer, que não só entendeu minhas ausências, mas se fez presente apesar delas. Obrigada por ter sido referência desde o primeiro dia em que pisei na universidade, obrigada por me permitir fazer parte da tua jornada e por se tornar irmã. Obrigada por não só entender, mas abraçar minhas falhas, obrigada por tudo.

Dedico ainda meus mais sinceros agradecimentos aos meus amigos Bruno, Tutu, Lucão, Duda, Rafa, Dani, Naiad, Aline e Ana. Vê-los se tornarem médicos está no topo de

coisas maravilhosas que fiz na vida, e foi um privilégio trilhar esse caminho com vocês. Obrigada por tanto que compartilhamos juntos, obrigada por viverem e crescerem comigo, obrigada.

À minha excepcional orientadora, Dra. Maria Isabel, meu muito obrigada. Obrigada por não só compreender, mas auxiliar em todas as dificuldades, técnicas ou não, na realização deste trabalho. És não só referência acadêmica, mas profissional e pessoal, e dedico à você muito de minha admiração e carinho.

Por fim, meus mais sinceros agradecimentos a cada um dos colegas, profissionais e pacientes que de alguma forma contribuíram em minha jornada até aqui, seja para a realização deste trabalho, ou para minha formação acadêmica e profissional. Vivi, sofri, sorri, cresci e evolui, e hoje, agradeço.

## RESUMO

**Introdução:** Nódulos tireoidianos são cada vez mais prevalentes. Apesar da grande maioria representar lesões benignas, o câncer de tireoide pode ocorrer em 5 a 10%. O mir-thype é um teste molecular baseado em um perfil de expressão de microRNAs que funciona como um classificador para os casos em que os NT são considerados indeterminados pela análise citológica. Este é o primeiro estudo de mundo real independente do teste genético mir-THYpe.

**Objetivo:** Estabelecer o valor preditivo positivo (VPP) do mir-THYpe.

**Métodos:** Estudo retrospectivo, observacional e não intervencionista. A população do estudo constitui-se de pacientes com NT que foram submetidos ao teste genético mir-THYpe, com conduta determinada a partir do resultado do teste. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software linguagem R.

**Resultados:** Um total de 249 pacientes foram incluídos no estudo. Com relação ao resultado citológico, a maior parte foram classificados em Bethesda III (52 - 20,4%) e Bethesda IV (179 - 72%), totalizando 231 nódulos indeterminados. Destes, 158 tiveram resultado negativo no teste, enquanto 91 tiveram resultado positivo. Dos 91 positivos, 82 foram submetidos a cirurgia. Nestes, foi confirmado malignidade em 50 casos, enquanto em 31 pacientes o resultado foi benigno e 1 paciente o resultado anatomopatológico é desconhecido. O teste apresentou um VPP de 62%.

**Conclusões:** O VPP encontrado é semelhante ao obtido na análise de mundo real realizada pelos desenvolvedores do teste, além de ser comparável a outros classificadores moleculares da tireoide. O desempenho do teste é notável e demonstra que pode ser uma importante ferramenta auxiliar de diagnóstico, sendo capaz de apoiar decisões clínicas capazes de reduzir as taxas de cirurgia para nódulos citológicos indeterminados.

**Palavras-chave:** Nódulo da glândula tireoide; câncer de tireoide; testes genéticos, microRNAs.

## ABSTRACT

**Background:** Thyroid nodules are increasingly prevalent. Although the vast majority are benign lesions, thyroid cancer can occur in 5 to 10%. Mir-type is a molecular test based on a microRNA expression profile that works as a classifier for cases in which TN is considered indeterminate by cytological analysis. This is the first real-world, independent study of mir-THYpe.

**Objective:** Establish the predictive positive value (PPV) of mir-THYpe.

**Method:** This is a retrospective, observational and non-interventional study. The study population consists of patients with TN that were subjected to mir-THYpe, with conduct determined based on the test results. Statistical analyzes were performed using the R language software.

**Results:** 249 patients were included in the study. Regarding the cytological result, most were classified as Bethesda III (52 - 20.4%) and Bethesda IV (179 - 72%), totaling 231 indeterminate nodules. Of these, 158 tested negative, while 91 tested positive. Of the 91 positives, 82 underwent surgery. In these, malignancy was confirmed in 50 cases, while in 31 patients the result was benign and 1 patient was excluded. The test showed a PPV of 62%.

**Conclusions:** The PPV found is similar to that obtained in real-world analysis performed by the test developers, in addition to being comparable to other thyroid molecular classifiers. The performance of the test is remarkable and demonstrates that it can be an important auxiliary diagnostic tool, being able to support clinical decisions capable of reducing surgery rates for indeterminate cytological nodules.

**Keywords:** Thyroid nodules; thyroid cancer; genetic testing, microRNAs.

## LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACR	<i>American College of Radiology</i>
ATA	<i>American Thyroid Association</i>
CEPSH	Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
CT	Câncer de tireoide
LGPD	Lei Geral de Proteção de Dados Pessoais
NIFPT	<i>Noninvasive follicular thyroid neoplasm</i>
NT	Nódulo de tireoide
PAAF	Punção aspirativa por agulha fina
PET-TC	Tomografia computadorizada por emissão de pósitrons
TI-RADS	<i>Thyroid Imaging, Reporting and Data System</i>
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
US	Ultrassonografia
VPN	Valor Preditivo Negativo
VPP	Valor Preditivo Positivo

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 - Classificação ultrassonográfica de nódulos de tireoide segunda a ATA.....	10
Tabela 2 – Classificação por imagem dos nódulos de tireoide segundo o TI-RADS.....	11
Tabela 3 – Sistema Bethesda 2023 para Notificação de Citopatologia da Tireoide: Categorias diagnósticas recomendadas.....	11
Tabela 4 – Características dos pacientes.....	18
Tabela 5 – Resultado do mir-THYpe e diagnóstico final.....	20
Tabela 6 - Diagnósticos histopatológicos na análise pós-cirúrgica.....	21

## SUMÁRIO

RESUMO.....	5
ABSTRACT.....	6
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	7
LISTA DE TABELAS.....	8
1 INTRODUÇÃO.....	10
2 OBJETIVO.....	16
2.1 Objetivo principal.....	16
2.2 Objetivos específicos.....	16
3 MÉTODO .....	17
3.1 Desenho, população e localização.....	17
3.1.1 Critérios de inclusão.....	17
3.1.2 Critérios de exclusão.....	17
3.2 Coleta de dados.....	18
3.3 Análise estatística.....	18
4 RESULTADOS.....	19
5 DISCUSSÃO.....	23
6 CONCLUSÃO.....	26
REFERÊNCIAS.....	27

## 1. INTRODUÇÃO

Nódulos tireoidianos (NT) são cada vez mais prevalentes na prática clínica, podendo ser identificados por meio da palpação pelo próprio paciente, durante um exame físico de rotina ou através de exames de imagem (KIMURA et al. 2011; JAMESON, 2012; ROSÁRIO et al., 2013). Apesar da grande maioria dos NT representarem lesões benignas, o câncer de tireoide (CT) pode ocorrer em 5 a 10% dos casos (DE MATOS; FERREIRA; WARD, 2006).

Estudos epidemiológicos conduzidos em áreas suficientes em iodo têm demonstrado que 4% a 7% das mulheres e 1% dos homens adultos apresentam nódulo palpável ao exame físico. Entretanto, estudos ultrassonográficos demonstram que a prevalência é ainda maior, variando de 19% a 67%, com maior incidência em mulheres e idosos (KIMURA et al. 2011). É importante considerar ainda que a incidência de CT é semelhante em pacientes com nódulos palpáveis ou incidentalmente detectados por métodos diagnósticos de imagem (RAGO et al., 1998).

A ultrassonografia diagnóstica da tireoide desempenha um papel fundamental na detecção e avaliação de nódulos na glândula tireoide e deve ser realizada em todos pacientes com suspeita de nódulo na tireoide ou na identificação incidental de nódulos em outros exames de imagem, como por exemplo a tomografia computadorizada, a ressonância magnética ou captação tireoidiana em exame de tomografia por emissão de pósitrons (PET-TC) (HAUGEN et al., 2016). As características ultrassonográficas associadas a maior risco de malignidade incluem: hipocogenicidade, presença de microcalcificações, margens irregulares ou mal definidas, diâmetro anteroposterior maior do que o transversal e evidência de extensão extratireoidiana (HAUGEN et al., 2016).

De acordo com as características ultrassonográficas, os NT são classificados em diferentes categorias de risco de malignidade. Dentre os sistemas de classificação de NT disponíveis, os mais utilizados na prática clínica são o critério proposto pela *American Thyroid Association* (ATA) (HAUGEN et al., 2016) e o critério sugerido pelo *American College of Radiology*, conhecido por ACR TI-RADS (*Thyroid Imaging, Reporting and Data System*). (TESSLER et al., 2017). Com base nessas categorias de risco e no tamanho dos nódulos, avalia-se a necessidade de realização de análise citológica desses nódulos através do exame de punção aspirativa por agulha fina (PAAF) conforme as Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 - Classificação ultrassonográfica de nódulos de tireoide segunda a ATA\*

Suspeita de malignidade ao US	Características da imagem	Risco estimado de malignidade	Recomendação de PAAF
Alta	Nódulo sólido hipoecoico ou componente sólido hipoecoico de nódulo parcialmente cístico com uma ou mais das seguintes características: margens irregulares (infiltrativa, microlobulada), microcalcificações, diâmetro anteroposterior maior do que o transversal, calcificações de rebordo e evidência de extensão extratireoidiana	>70-90%	Nódulos >1cm
Intermediária	Nódulo sólido hipoecoico com margens lisas e sem microcalcificações, extensão extratireoidiana ou diâmetro anteroposterior maior que o transversal	10-20%	Nódulos >1cm
Baixa	Nódulo sólido isoecoico ou hiperecoico ou, ainda, nódulo parcialmente cístico com áreas sólidas de permeio sem microcalcificações, margens irregulares, extensão tireoidiana ou diâmetro anteroposterior maior que o transversal	5-10%	Nódulos >1,5 cm
Muito baixa	Nódulo espongiiforme ou parcialmente cístico sem quaisquer características ultrassonográficas descritas nos padrões anteriores	<3%	Considerar em nódulos >2cm (a observação sem PAAF também é uma alternativa adequada)
Nódulo benigno	Nódulo puramente cístico (sem componente sólido)	<1%	Não recomendada**

\*ATA – *American Thyroid Association (2016)*

\*\*A aspiração do cisto pode ser considerada devido aos sintomas ou por motivos estéticos.

Fonte: HAUGEN et al., 2016

Tabela 2 – Classificação por imagem dos nódulos de tireoide segundo o TI-RADS\*

Critérios				
Composição	Ecotextura	Morfologia	Contornos	Focos ecogênicos
Sólido e predominantemente sólido: 2 pontos	Hiperecogênico: 1 ponto Isoecogênico: 1 ponto	Horizontal: 0 ponto Vertical: 3 pontos	Liso / regular / indistinto: 0 ponto Irregular: 2 pontos Lobulado: 2 pontos Extensão extraglandular: 3 pontos	Microcalcificações: 3 pontos Macrocalcificações: 1 ponto Calcificação anelar: 2 pontos Artefatos “cauda de cometa”: 0 ponto
Misto (sólido/cístico): 1 ponto	Hipoecogênico: 2 pontos			
Cístico e predominantemente cístico: 0 ponto	Acentuada hipoecogenicidade: 3 pontos			
Espongiforme: 0 ponto				
Pontuação				
0 ponto	2 pontos	3 pontos	4-6 pontos	7 ou mais pontos
Classificação final				
<b>TI-RADS 1</b> Benigno	<b>TI-RADS 2</b> Não suspeito	<b>TI-RADS 3</b> Pouco suspeito PAAF>2,5cm	<b>TI-RADS 4</b> Moderadamente suspeito PAAF>1,5cm	<b>TI-RADS 5</b> Altamente suspeito PAAF>1cm

\*TI-RADS - *Thyroid Imaging, Reporting and Data System*.

Fonte: ALI et al., 2023.

Nos pacientes submetidos a PAAF, o resultado da análise citológica é reportado através de um sistema de classificação denominado Bethesda. Esse sistema foi criado em 2010 com o objetivo de uniformizar a nomenclatura citológica das análises de tireoide. De acordo com esse sistema, os achados citológicos são classificados em seis categorias com diferentes riscos de malignidade. Em 2023, foi publicada a terceira atualização do sistema Bethesda com mudanças na nomenclatura e com atualização nas taxas de risco de malignidade dos nódulos (ALI et al., 2023). Essas informações estão resumidas na tabela 3 abaixo:

Tabela 3 – Sistema Bethesda 2023 para Notificação de Citopatologia da Tireoide: Categorias diagnósticas recomendadas

Categoria Bethesda	Risco de malignidade	Características
Bethesda I Não diagnóstico	13% (5-20)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Amostra com baixo número celular;</li> <li>Somente líquido nodular;</li> <li>Problemas na coleta, sangue na amostra, etc.</li> </ul>
Bethesda II Benigno	4% (2-7)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Nódulo folicular benigno (inclui nódulo adenomatoide, nódulo colóide, etc.)</li> </ul>

		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Amostra consistente com tireoidite linfocítica (Hashimoto) no contexto clínico adequado</li> <li>• Amostra consistente com tireoidite granulomatosa (subaguda)</li> </ul>
Bethesda III Indeterminado	22% (12-30)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Atipia de significado indeterminado (AUS) *-atipia nuclear</li> <li>• AUS-outros</li> </ul>
Bethesda IV Indeterminado	30% (23-34)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Neoplasia folicular</li> <li>• Especificar neoplasias de células oncocíticas</li> </ul>
Bethesda V Suspeito de malignidade	74% (67-83)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Suspeito de carcinoma papilífero</li> <li>• Suspeito de carcinoma medular</li> <li>• Suspeito de carcinoma metastático</li> <li>• Suspeito de linfoma</li> </ul>
Bethesda VI Maligno	97% (97-100)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Carcinoma papilífero de tireoide</li> <li>• Carcinoma derivado folicular de alto grau</li> <li>• Carcinoma medular de tireoide</li> <li>• Carcinoma indiferenciado (anaplásico)</li> <li>• Carcinoma de células escamosas</li> <li>• Carcinoma com características mistas (especificar)</li> <li>• Carcinoma metastático</li> <li>• Linfoma não-Hodgkin</li> </ul>

Fonte: ALI et al., 2023.

Considerando essa classificação Bethesda, estima-se que cerca de 5 a 15% das biópsias realizadas por PAAF em NT são classificadas como malignas e de 10 a 40% permanecem com resultado indeterminado (ALEXANDER et al., 2012; HAMBLETON; KANDIL, 2013; MAIA; ZANTUT-WITTMANN, 2012). Durante muitos anos, em todo o mundo, a conduta frente aos nódulos com citologia considerada indeterminada era o tratamento cirúrgico. Contudo, a análise histológica realizada no pós-operatório demonstrava que 70 a 80% dessas lesões eram benignas.

Isso posto, percebe-se que houve um elevado número de cirurgias desnecessárias (HEGEDÜS, 2004), expondo o sistema de saúde a gastos excessivos, além dos pacientes ao risco cirúrgico e complicações possíveis da cirurgia, como danos ao nervo laríngeo recorrente,

hipoparatiroidismo, re-sangramento e infecções (ERNANDES NETO, MIGUEL, et al, 2012). Além disso, todos os pacientes submetidos a retirada total da tireoide (tireoidetomia total) e uma parcela significativa dos pacientes submetidos a ressecção parcial dessa glândula (tireoidetomia parcial) irão necessitar de reposição hormonal indefinidamente (HEGEDÜS, 2004).

O avanço no conhecimento genético da patogênese dos tumores de tireoide permitiu, na última década, o desenvolvimento de testes moleculares com a finalidade de auxiliar na melhor avaliação quanto ao risco de malignidade de um nódulo de tireoide. A incorporação desses testes na prática clínica tem permitido uma melhor avaliação dos nódulos de tireoide considerados indeterminados pela análise citológica e uma reclassificação desses nódulos em lesões benignas ou malignas com uma elevada acurácia na maioria dos casos. Dessa forma, tem-se a redução de procedimentos cirúrgicos desnecessários e todas as implicações ao sistema de saúde e aos pacientes, como acima mencionados (HAUGEN, 2016).

Os primeiros testes genéticos desenvolvidos para análise de NT baseavam-se na análise de mutações somáticas nesses tumores. No entanto, quando essas mutações são utilizadas de forma isolada, como biomarcadores independentes, a sensibilidade e a especificidade dessa análise é muito baixa para poder ser utilizada na prática clínica (FERRAZ, 2018). Nesse contexto, teve-se o desenvolvimento dos painéis genéticos, que correspondem a análise simultânea das principais mutações genéticas até então conhecidas num mesmo teste.

O primeiro teste genético desenvolvido para a análise de NT denominava-se "miRInform" e baseava-se na pesquisa de sete diferentes alterações genéticas nos nódulos de tireoide (mutações nos genes BRAF, NRAS, HRAS, KRAS e a presença dos rearranjos gênicos RET/PTC1, RET/PTC3 e PAX8PPAR $\gamma$ ). Esse teste apresentava uma elevada especificidade para o diagnóstico de CT, porém uma baixa sensibilidade, o que motivou o desenvolvimento de outros testes genéticos (FERRAZ, 2018).

Atualmente, os dois principais testes genéticos utilizados na prática clínica são testes desenvolvidos por pesquisadores americanos. O teste denominado *Thyroseq*, atualmente na terceira edição, baseia-se na análise de 112 genes, 120 tipos de fusões genéticas, além de detectar alterações nos genes de expressão e variações no número de cópias dos genes. O teste denominado *Afirma*, por sua vez, baseia-se na análise da expressão de mais de 10.000 genes (NIKIFOROV, 2019). O teste *Afirma* não está disponível no Brasil, enquanto o teste *Thyroseq* é disponibilizado por um laboratório em São Paulo. No entanto, o elevado custo

desse teste e a não cobertura pelos convênios médicos torna pouco viável a incorporação dessa ferramenta diagnóstica na prática clínica de médicos brasileiros.

A análise de microRNAs (miRNAs - pequenos RNAs de 18 a 25 nucleotídeos em fita simples, não-codificantes, participantes do processo de regulação da expressão gênica) como biomarcadores únicos ou na identificação de perfis de sua expressão, também tem sido muito estudada para fins diagnósticos, especialmente no diagnóstico de tumores malignos (FERRAZ, 2018).

Em 2018, Santos e colaboradores desenvolveram um teste molecular baseado em um perfil de expressão de microRNAs que funciona como um classificador para os casos em que os NT são considerados indeterminados pela análise citológica pré-cirúrgica. O teste denominado “mir-THYpe” analisa 12 miRNAs alvos e três normalizadores de material proveniente de lâminas de esfregaço da PAAF e é utilizado em rotina clínica desde março de 2018 em pacientes de todas as regiões do Brasil, incluindo pacientes atendidos em Santa Catarina. O exame classifica o nódulo indeterminado em “negativo” ou “positivo” para malignidade e apresenta um valor preditivo negativo (VPN) de 96% e valor preditivo positivo (VPP) de 76% segundo o estudo de validação do teste (20) (SANTOS et al., 2018).

Em 2022, os pesquisadores que desenvolveram o teste mir-thype, em parceria com pesquisadores brasileiros de diversos centros, publicaram um estudo de mundo real com análise de pacientes que haviam realizado o teste genético nos últimos anos. Os resultados encontrados foram semelhantes ao observado no estudo de validação do teste (SANTOS et al., 2022).

O presente estudo tem como objetivo realizar uma análise observacional de mundo real do teste molecular “mir-THYpe” em pacientes com NT e citologia indeterminada e submetidos a cirurgia (tireoidectomia) atendidos no estado de Santa Catarina. Este é o primeiro estudo independente do teste genético mir-thype.

## 2. OBJETIVO

### 2.1 Objetivo principal

O objetivo principal deste estudo é realizar uma análise retrospectiva dos pacientes com nódulos de tireoide que realizaram o teste genético mir-thype e foram submetidos a tireoidectomia no estado de Santa Catarina.

### 2.2 Objetivos específicos

- A. Avaliar o desfecho (acompanhamento clínico *versus* cirurgia) em pacientes submetidos ao teste genético mir-thype;
- B. Estabelecer o VPP do teste mir-thype.

### 3. MÉTODOS

#### 3.1 Desenho, população e localização

Trata-se de um estudo retrospectivo, observacional e não intervencionista de pacientes submetidos ao teste genético mir-thype entre fevereiro de 2018 e dezembro de 2022 no estado de Santa Catarina. A análise das informações foi realizada de forma agregada e não individual. A extração dos dados foi realizada de forma segura, a partir do respeito aos artigos estabelecidos na Lei Geral de Proteção de Dados Pessoais (LGPD), Lei nº 13.709/2018, garantindo o sigilo, a confidencialidade e a privacidade dos pacientes.

A população do estudo constitui-se de pacientes em acompanhamento por NT por profissionais médicos endocrinologistas e cirurgiões de cabeça e pescoço em diferentes serviços no estado de Santa Catarina, os quais foram submetidos ao exame mir-THYpe, com conduta posteriormente determinada a partir da análise do resultado do teste como parâmetro auxiliar de diagnóstico e tratamento.

##### 3.1.1 Critérios de inclusão

Os critérios de inclusão deste estudo estão descritos abaixo:

- Pacientes cuja amostra (PAAF de NT) tenha sido analisada pelo teste mir-THYpe em rotina clínica com resultado emitido oficialmente em laudo entre fevereiro de 2018 e dezembro de 2022;
- Pacientes com mais de 18 anos na época do teste molecular;
- Pacientes submetidos à cirurgia de tireoidectomia (total ou parcial), independente do resultado do teste molecular até dezembro de 2022.

##### 3.1.2 Critérios de exclusão

Os critérios de exclusão estão listados abaixo:

- Pacientes cujo exame anatomopatológico evidenciou a existência de lesão benigna e maligna na mesma região da tireoide submetida a PAAF e análise molecular;
- Pacientes submetidos a cirurgia de tireoidectomia e sem o laudo anatomopatológico disponível;
- Pacientes não submetidos a intervenção cirúrgica.

### 3.2 Coleta de dados:

Através do contato com a empresa que realiza o teste genético mir-thype foi possível obter a lista de pacientes submetidos ao teste genético no estado de Santa Catarina e a informação do médico solicitante. Com essa informação, foi feito contato com cada um dos médicos solicitantes e questionado se teriam interesse em auxiliar na pesquisa. Os médicos que aceitaram participar do estudo, receberam a lista de pacientes e, antes de repassar as informações, obtiveram o consentimento dos pacientes. Os pacientes incluídos no estudo tiveram o resultado final confirmado com análise detalhada do laudo anatomopatológico para se certificar que a localização do diagnóstico considerado era a mesma do nódulo submetido ao teste genético. Os laudos foram fornecidos pelos médicos participantes da pesquisa e, para os casos em que os médicos não tinham o laudo, através do contato direto com os laboratórios de análise patológica.

Através da análise da ficha de solicitação do teste genético foram obtidas as seguintes informações: idade, sexo, tamanho e localização do nódulo submetido a análise genética, resultado do estudo citológico desse nódulo (classificação Bethesda). A análise do laudo anatomopatológico forneceu o tamanho, a localização e o diagnóstico final da lesão.

O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina (CEPSH-UFSC) sob o número 5.576.696.

### 3.3 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software linguagem R (R Core Team, 2022). Os intervalos de confiança foram calculados segundo o método exato de Clopper-Pearson. Para verificar a associação entre as variáveis foram realizados os testes Qui-quadrado (Pearson) e o exato de Fisher.

#### 4. RESULTADOS

Um total de 249 pacientes foram incluídos neste estudo, 206 (83%) eram pacientes do sexo feminino, enquanto 43 (17%) eram do sexo masculino. A idade média dos pacientes foi 52,3 anos e variou de 23,5 a 85,2 anos. Com relação ao resultado citológico, a maior parte dos nódulos avaliados foram classificados em Bethesda III e Bethesda IV, 52 nódulos (20,4%) e 179 (72%), respectivamente, totalizando 231 nódulos indeterminados no exame da PAAF. Dentre os demais nódulos avaliados, 1 foi classificado como Bethesda II (0,4%), 2 nódulos Bethesda V (0,8%) e 1 nódulo Bethesda VI (0,4%). Em relação a localização dos nódulos, houve um predomínio de NT no lobo direito, totalizando 48%, com 43% nódulos localizados no lobo esquerdo e 6,8% no istmo, conforme consta na tabela 4.

Tabela 4 – Características dos pacientes

Variável	N	Resultado do teste mir-THYp			p-value <sup>1</sup>
		Todos, N = 249	Negativo N = 158	Positivo N = 91	
<b>Cirurgia</b>	249				<0.001
Não		160 (64%)	151 (96%)	9 (9.9%)	
Sim		89 (36%)	7 (4.4%)	82 (90%)	
<b>Sexo</b>	249				0.3
F		206 (83%)	128 (81%)	78 (86%)	
M		43 (17%)	30 (19%)	13 (14%)	
<b>Classificação</b>	249				<0.001
Sem descrição		14 (5,6%)	0 (0%)	14 (15%)	
II		1 (0.4%)	1 (0.6%)	0 (0%)	
III		52 (20,4%)	35 (22,2%)	17 (18,7%)	
IV		179 (72%)	122 (77%)	57 (63%)	
V		2 (0.8%)	0 (0%)	2 (2.2%)	
VI		1 (0.4%)	0 (0%)	1 (1.1%)	

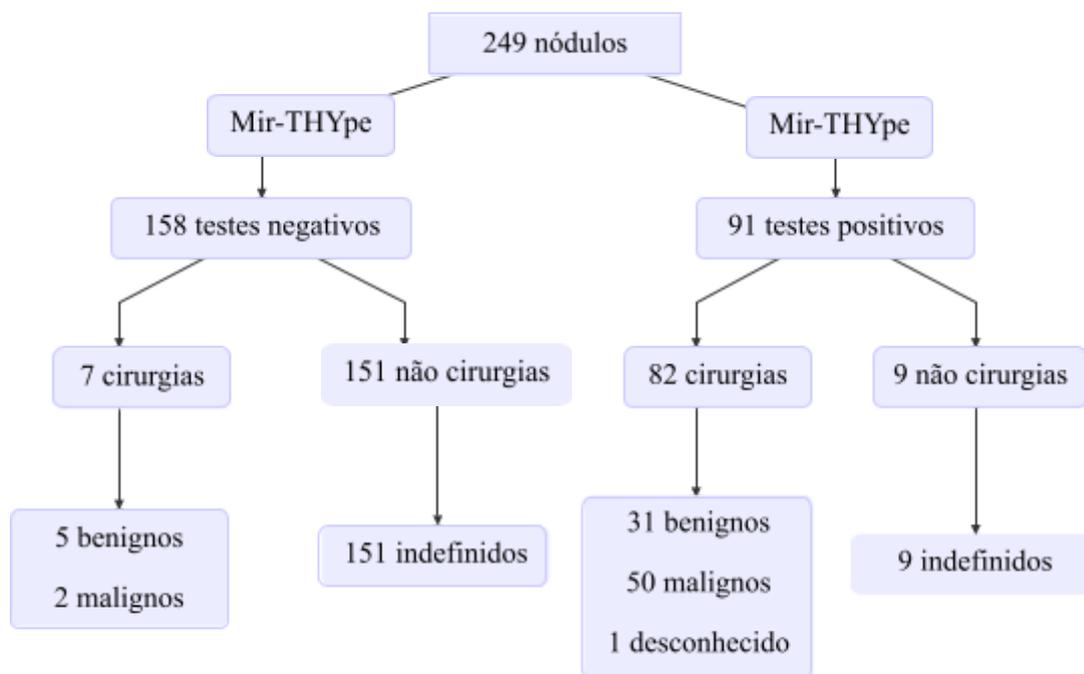
Localização	249		0.008
Sem descrição	5 (2.0%)	0 (0%)	5 (5.5%)
Istmo	17 (6.8%)	12 (7.6%)	5 (5.5%)
Lobo esquerdo	107 (43%)	63 (40%)	44 (48%)
Lobo direito	120 (48%)	83 (53%)	37 (41%)

<sup>1</sup> - Pearson's Chi-squared test; Fisher's exact test.

O resultado do teste genético mir-Thy e a conduta realizada nos pacientes incluídos neste estudo após análise do resultado desse teste estão representados na **Figura 1**. Dos 249 nódulos de tireoide avaliados no estudo, 158 tiveram resultado negativo no teste genético mir-THYpe, enquanto 91 tiveram um resultado positivo para malignidade. Dentre os pacientes com teste negativo, 7 foram submetidos a procedimento cirúrgico por crescimento do nódulo ou desejo do paciente. Destes 7 pacientes operados, 5 tiveram como diagnóstico uma lesão benigna, enquanto em 2 pacientes a análise anatomopatológica demonstrou que o nódulo tratava-se de uma lesão maligna. Os 151 resultados negativos restantes, que correspondem àqueles que não foram submetidos a tireoidectomia, permanecem com resultado indefinido.

Dentre os 91 pacientes com resultado positivo no mir-THYpe, 82 foram submetidos a cirurgia. Destes, 50 casos foi confirmado o diagnóstico de malignidade, enquanto em 31 pacientes o resultado anatomopatológico foi de uma lesão benigna, sendo dois deles com subtipo histológico classificado como Neoplasia folicular da tireoide não invasiva (NIFPT). Em um paciente submetido a cirurgia, não foi possível obter o laudo anatomopatológico (cirurgia realizada na cidade de São Paulo) e, portanto, esse caso foi excluído do estudo. Neste cenário, o teste mir-thype apresentou um VPP de 62% (IC 95% 50.2-72.3%). Em 9 dos 91 casos com teste positivo optou-se por não realizar a cirurgia pela preferência do paciente e/ou risco cirúrgico associado, permanecendo estes também sem classificação anatomopatológica, portanto, indefinidos.

Figura 1 – Fluxograma dos resultados obtidos nos testes: mir-THYpe e anatomopatológico.



Os diagnósticos finais considerando benignidade *versus* malignidade, assim como os resultados positivos ou negativos no teste mir-THYpe são apresentados na **Tabela 5**. A **Tabela 6**, por sua vez, compreende os subtipos histopatológicos encontrados na análise pós-cirúrgica dos 81 nódulos submetidos à ressecção com diagnóstico definitivo sabido, relacionados à classificação no Sistema Bethesda feita a partir de análise citológica prévia realizada através da PAAF.

Tabela 5 – Resultado do mir-THYpe e diagnóstico final

Variável	N	Resultado do teste mir-THYpe			p-value <sup>1</sup>
		Todos N = 249 <sup>1</sup>	Negativo N = 158 <sup>1</sup>	Positivo N = 91 <sup>1</sup>	
<b>Diagnóstico final</b>	249				<0.001
Benigno		34 (13%)	5 (3.2%)	29 (32%)	
Indefinido		161 (65%)	151 (96%)	10 (11%)	
Maligno		54 (22%)	2 (1.3%)	52 (57%)	

<sup>1</sup> - Pearson's Chi-squared test.

Tabela 6 - Diagnósticos histopatológicos na análise pós-cirúrgica.

<b>Classificação Bethesda pela PAAF</b>				
<b>Subtipo histológico pós cirúrgico</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>	<b>Outros</b>	<b>Todos</b>
	N = 21	N = 49	N = 11	N = 81
<b>Malignos</b>				
Carcinoma papilífero	11	28	6	45
Carcinoma folicular	1	3	0	4
Carcinoma de células oncocíticas	0	0	1	1
NIFTP <sup>1</sup>	0	2	0	2
<b>Benignos</b>				
Adenoma folicular	6	12	3	21
Hiperplasia nodular	2	1	0	3
Tireiodite	1	1	0	2
Benigno não especificado	0	2	1	3

<sup>1</sup> - *Noninvasive follicular thyroid neoplasm* (Neoplasia folicular da tireoide não invasiva). Apesar de hoje ser considerada uma lesão benigna, pela semelhança genética com os tumores malignos e por esse diagnóstico poder ser feito apenas depois da cirurgia, esses casos são incluídos no grupo dos malignos em todos os estudos sobre teste genético em tireoide.

## 5. DISCUSSÃO

O presente trabalho representa o primeiro estudo de mundo real independente realizado para avaliar o teste genético mir-THYpe. Este teste foi desenvolvido com o propósito de auxiliar no manejo de nódulos de tireoide indeterminados, com o objetivo de reduzir cirurgias desnecessárias. Tratou-se de um estudo retrospectivo, observacional e não intervencionista.

Este estudo avaliou pacientes com NT no estado de Santa Catarina que realizaram o teste genético mir-THYpe e foram posteriormente submetidos a um tratamento cirúrgico para remoção da tireoide (tireoidectomia). A partir disso, determinou-se o VPP do teste, identificando seu desempenho a partir de uma análise de mundo real. No presente estudo, o VPP do teste mir-thype foi de 62% (IC 95% 50.2-72.3%). Este resultado é semelhante àquele encontrado em análise de mundo real realizada pela equipe desenvolvedora do teste, o qual estabeleceu um VPP global de 66,2%, considerando uma amostra de 151 nódulos ressecados com resultados positivos incluídos na análise final (SANTOS et al., 2022).

O VPP de um teste diagnóstico é a proporção de verdadeiros positivos entre todos os indivíduos que apresentam resultado positivo num determinado teste. Neste caso, avaliou-se a proporção de pacientes com resultado positivo para malignidade no teste genético mir-thype e com diagnóstico confirmado de um tumor maligno no laudo anatomopatológico realizado na peça cirúrgica. Quando um teste diagnóstico tem VPP alto, um paciente cujo teste apresente resultado positivo muito provavelmente tem a doença que está sendo investigada (PATINO; FERREIRA, 2017). Nesse sentido, associado a outras análises prévias, a partir do VPP, foi possível definir o nível de apoio que o teste mir-THYpe pode fornecer às decisões clínicas.

A análise de dados retrospectivos realizada no estudo de validação do teste mir-THYpe encontrou um VPP de 76,1% (SANTOS et al., 2018). Neste estudo, um total de 46 amostras tiveram o resultado positivo e, em 35 delas, o diagnóstico de malignidade foi confirmado. A diferença observada entre os dados obtidos na validação do teste em comparação à análise de mundo real realizada no presente estudo pode ser decorrente de alguns fatores. O primeiro deles é que o valor preditivo de um teste varia com a prevalência (probabilidade pré-teste) da doença. Portanto, pode haver diferenças regionais na prevalência das doenças e, conseqüentemente, no valor preditivo dos testes. Além disso, o estudo de validação do teste incluiu também um número significativo (cerca de 30% das amostras) de

casos classificados como Bethesda V na análise citológica, enquanto no presente estudo apenas 2% das amostras tinham citologia compatível com a categoria V de Bethesda. Amostras Bethesda V apresentam um maior risco de malignidade, estimado em cerca de 74% (67-83) (ALI, S. Z. et al., 2023).

A amostra deste estudo foi em sua maioria composta por pacientes do sexo feminino, representando 206 pacientes (83%) dos 249 incluídos no estudo, enquanto 43 (17%) eram do sexo masculino, corroborando com a epidemiologia de NT que é predominante em mulheres (HAUGEN et al., 2016). Além disso, outros dados demográficos como localização e classificação dos NT no Sistema Bethesda, estabelecidos na Tabela 4, também corroboram com as proporções observadas em estudos prévios (HAUGEN, 2016; MAIA; ZANTUT-WITTMANN, 2012).

Considerando, então, a amostra dos 249 NT analisados, excluindo aqueles com testes positivos que não foram submetidos à cirurgia devido à preferência do paciente e/ou risco cirúrgico associado, que totalizam 9 pacientes, poderíamos assumir que 240 pacientes seriam abordados de forma cirúrgica se não fosse realizado o exame mir-THYpe. Entretanto, devido ao uso do teste molecular como auxiliar diagnóstico e de conduta, destes 240, 151 pacientes que obtiveram teste negativo não foram submetidos à cirurgia.

Como já mencionado anteriormente, há outros testes moleculares de tireoide disponíveis no mercado, dentre os quais destaca-se o ThyroSeq v3 e o Afirm GSC. Ambos são utilizados, principalmente nos Estados Unidos, como auxiliares de conduta, mas devido ao alto custo e logística seu uso é ainda restrito no Brasil. Comparamos, portanto, o desempenho do mir-THYpe observado neste estudo com estudos prospectivos que observaram o desempenho do ThyroSeq v3 e Afirm GSC. Com base nos verdadeiros positivos de cada teste, o mir-THYpe obteve desempenho semelhante ao teste ThyroSeq v3 (62% vs. 66%) (STEWART et al., 2019) e melhor desempenho do que o Afirm GSC (62% vs. 45.8%) (PATEL et al, 2018).

Apesar dos dados obtidos em nosso estudo serem relevantes para o estabelecimento do mir-THYpe como auxiliar de conduta clínica nos NT, há algumas limitações. Um ponto a ser ressaltado é que devido ao seu caráter retrospectivo, com base na análise de dados de prontuários, algumas informações não puderam ser coletadas de forma apropriada. Para muitos pacientes, não foi possível obter informações clínicas importantes para classificação de risco pré-teste, como as características ultrassonográficas de todos os NT incluídos na

amostra final. A falta dessas informações limitou a análise a respeito das características de risco que poderiam ter sido preferencialmente escolhidas pelos médicos durante a prática clínica.

Além disso, como a análise foi feita a partir de parâmetros do mundo real, o resultado do teste mir-THYpe foi utilizado como auxiliar direto de conduta, de forma que a maioria dos pacientes com teste genético negativo não foram submetidos à abordagem cirúrgica. Assim, limita-se o conhecimento dos diagnósticos definitivos desses nódulos, não havendo poder estatístico para avaliar o desempenho dos resultados negativos, a fim de estabelecer sensibilidade, especificidade e VPN do teste.

## 6. CONCLUSÃO

O presente estudo de mundo real demonstrou um VPP do teste genético mir-thype de 62%, performance semelhante à encontrada na análise de mundo real realizada pelos pesquisadores que desenvolveram o teste. Além disso, o VPP obtido neste estudo é comparável a outros classificadores moleculares da tireoide bem estabelecidos. Isso sendo considerado, percebe-se que o desempenho do teste no mundo real demonstra que o mesmo pode ser uma importante ferramenta auxiliar de diagnóstico e estabelecimento de conduta, capaz de reduzir as taxas de cirurgia para nódulos citológicos indeterminados. Contudo, é importante considerar que, por se tratar de um estudo de mundo real, o resultado do teste mir-THYpe foi utilizado como auxiliar direto de conduta, de forma que aqueles negativos não foram submetidos à abordagem cirúrgica. Assim, limita-se o conhecimento dos diagnósticos definitivos desses nódulos, não havendo poder estatístico para avaliar o desempenho dos resultados negativos, a fim de estabelecer sensibilidade, especificidade e VPN do teste.

## 7. REFERÊNCIAS

- ALEXANDER, E. K. et al. Preoperative Diagnosis of Benign Thyroid Nodules with Indeterminate Cytology. **New England Journal of Medicine**, v. 367, n. 8, p. 705–715, 23 ago. 2012.
- ALI, S. Z. et al. The 2023 Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. **Thyroid®**, p. thy. 2023.0141, 8 jul. 2023.
- CIBAS, E. S.; ALI, S. Z. The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. **Thyroid**, v. 19, n. 11, p. 1159–1165, nov. 2009.
- CUMMINS, J. M.; VELCULESCU, V. E. Implications of micro-RNA profiling for cancer diagnosis. **Oncogene**, v. 25, n. 46, p. 6220–6227, 9 out. 2006.
- DE MATOS, P. S.; FERREIRA, A. P. C.; WARD, L. S. Prevalence of Papillary Microcarcinoma of the Thyroid in Brazilian Autopsy and Surgical Series. **Endocrine Pathology**, v. 17, n. 2, p. 165–174, 2006.
- ENG, C. Y.; QURAIISHI, M. S.; BRADLEY, P. J. Management of Thyroid nodules in adult patients. **Head & Neck Oncology**, v. 2, n. 1, p. 11, 5 dez. 2010.
- ERNANDES NETO, MIGUEL, et al. “Fatores Que Influenciam Nas Complicações Das Tireoidectomias”. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, vol. 78, n. 3, p. 63–69, jun. 2012.
- ET, Kimura *et al.* Doença Nodular da Tireoide: Diagnóstico. In: RIO DE JANEIRO. MINISTÉRIO DA SAÚDE. (org.). **Diretrizes Clínicas na Saúde Suplementar**. Rio de Janeiro: Brasil, 2011. p. 42-52
- FERRAZ, C. Can current molecular tests help in the diagnosis of indeterminate thyroid nodule FNAB? **Archives of Endocrinology and Metabolism**, v. 62, n. 6, p. 576–584, 2018.
- HAMBLETON, C.; KANDIL, E. Appropriate and accurate diagnosis of thyroid nodules: a review of thyroid fine-needle aspiration. **International journal of clinical and experimental medicine**, v. 6, n. 6, p. 413–22, 2013.

HAUGEN, B. R. et al. 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer: The American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer. **Thyroid**, v. 26, n. 1, p. 1–133, jan. 2016.

HEGEDÜS, L. The Thyroid Nodule. **New England Journal of Medicine**, v. 351, n. 17, p. 1764–1771, 21 out. 2004.

JAMESON, J. L. Minimizing Unnecessary Surgery for Thyroid Nodules. **New England Journal of Medicine**, v. 367, n. 8, p. 765–767, 23 ago. 2012.

KIM, S. W. et al. *BRAF* V600E Mutation Analysis in Fine-Needle Aspiration Cytology Specimens for Evaluation of Thyroid Nodule: A Large Series in a *BRAF* V600E-Prevalent Population. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 95, n. 8, p. 3693–3700, 1 ago. 2010.

MAIA, F. F. R.; ZANTUT-WITTMANN, D. E. Thyroid nodule management: clinical, ultrasound and cytopathological parameters for predicting malignancy. **Clinics (Sao Paulo, Brazil)**, v. 67, n. 8, p. 945–54, ago. 2012.

PATEL, Kepal N.; ANGELL, Trevor E.; BABIARZ, Joshua; BARTH, Neil M.; BLEVINS, Thomas; DUH, Quan-Yang; GHOSSEIN, Ronald A.; HARRELL, R. Mack; HUANG, Jing; KENNEDY, Giulia C.. Performance of a Genomic Sequencing Classifier for the Preoperative Diagnosis of Cytologically Indeterminate Thyroid Nodules. **Jama Surgery**, [S.L.], v. 153, n. 9, p. 817, 1 set. 2018.

PATINO, Cecilia Maria; FERREIRA, Juliana Carvalho. Understanding diagnostic tests. Part 2. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, [S.L.], v. 43, n. 6, p. 408-408, dez. 2017.

PRITCHARD, C. C.; CHENG, H. H.; TEWARI, M. MicroRNA profiling: approaches and considerations. **Nature Reviews Genetics**, v. 13, n. 5, p. 358–369, 18 maio 2012.

R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>

RAGO, T. et al. Role of conventional ultrasonography and color flow-doppler sonography in predicting malignancy in “cold” thyroid nodules. **European Journal of Endocrinology**, p. 41–46, 1 jan. 1998.

ROSÁRIO, P. W. et al. Thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: update on the Brazilian consensus. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 57, n. 4, p. 240–264, jun. 2013.

SANTOS, M. T. DOS et al. Molecular Classification of Thyroid Nodules with Indeterminate Cytology: Development and Validation of a Highly Sensitive and Specific New miRNA-Based Classifier Test Using Fine-Needle Aspiration Smear Slides. **Thyroid**, v. 28, n. 12, p. 1618–1626, dez. 2018.

SANTOS, Marcos Tadeu; RODRIGUES, Bruna Moretto; SHIZUKUDA, Satye; OLIVEIRA, Andrei Félix; OLIVEIRA, Miriane; FIGUEIREDO, David Livingstone Alves; MELO, Giuliano Molina; SILVA, Rubens Adão; FAINSTEIN, Claudio; REIS, Gerson Felisbino dos. Clinical decision support analysis of a microRNA-based thyroid molecular classifier: a real-world, prospective and multicentre validation study. **Ebiomedicine**, [S.L.], v. 82, p. 104137, ago. 2022.

SHARMA, Neha; SRIVASTAV, Adarsh Kumar; SAMUEL, Asir John. Randomized clinical trial: gold standard of experimental designs - importance, advantages, disadvantages and prejudices. **Revista Pesquisa em Fisioterapia**, [S.L.], v. 10, n. 3, p. 512-519, 26 ago. 2020.

STEWARD, David L.; CARTY, Sally E.; SIPPEL, Rebecca S.; YANG, Samantha Peiling; SOSA, Julie A.; SIPOS, Jennifer A.; FIGGE, James J.; MANDEL, Susan; HAUGEN, Bryan R.; BURMAN, Kenneth D.. Performance of a Multigene Genomic Classifier in Thyroid Nodules With Indeterminate Cytology. **Jama Oncology**, [S.L.], v. 5, n. 2, p. 204, 1 fev. 2019.

TESSLER, F. N. et al. ACR Thyroid Imaging, Reporting and Data System (TI-RADS): white paper of the acr ti-rads committee. **Journal Of The American College Of Radiology**, [S.L.], v. 14, n. 5, p. 587-595, maio 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacr.2017.01.046>.