

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

Avaliação do TSH sérico como fator preditivo de malignidade
em nódulos tireoidianos de pacientes submetidos à punção
aspirativa por agulha fina

Ana Patrícia de Cristo

Porto Alegre

2013

Ana Patrícia de Cristo

**Avaliação do TSH sérico como fator preditivo de malignidade
em nódulos tireoidianos de pacientes submetidos à punção
aspirativa por agulha fina**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas
da Universidade Federal do Rio Grande do Sul
como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre
em Ciências Médicas.

Orientadora: Dr^a Márcia Silveira Graudenz

Porto Alegre

2013

Cristo, Ana Patricia.

Avaliação do TSH sérico como fator preditivo de malignidade em nódulos tireoidianos de pacientes submetidos à punção aspirativa por agulha fina/ Ana Patricia Cristo – 2013.

47 f.

Orientadora: Marcia Silveira Graudenz

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Programa de Pós Graduação em Medicina: Ciências Médicas. Porto Alegre, BR-RS, 2013.

1. Nódulos de Tireoide 2. Punção aspirativa por agulha fina 3. TSH sérico I. Graudenz, Marcia Silveira, orient. II. Título.

Agradecimentos

A Deus pelas oportunidades colocadas em minha vida.

A meus pais e minha família, pelo estímulo, dedicação e amor.

À Dra. Marcia Graudenz pela orientação em todos os momentos da execução deste trabalho, pelos conhecimentos compartilhados, pela ajuda e amizade.

À Dra Ana Luiza Maia pela colaboração desde o início no desenvolvimento deste projeto, pelos ensinamentos transmitidos e pelo incentivo.

À Dra Heloísa Folgieri pela colaboração e disponibilidade.

Ao Dr. Carlo Faccin pelas informações e apoio.

À equipe da Citologia/Patologia HCPA pelo auxílio técnico e incentivo.

À equipe do CPDA/ HCPA pelo auxílio técnico e pela excelente convivência.

Enfim, a todos que de forma direta ou indireta permitiram a realização desse trabalho.

Muito Obrigada!

“A mente que se abre a uma nova ideia, jamais retorna ao seu tamanho original.”

Albert Einstein

Resumo

Nódulos de tireoide são achados clínicos comuns e, atualmente, o método diagnóstico de escolha para diferenciar lesões benignas de lesões malignas é a análise citopatológica dos nódulos através de punção aspirativa por agulha fina (PAAF). Estudos prévios já indicaram que os níveis séricos de TSH podem estar associados ao risco de malignidade nodular. O objetivo deste estudo foi avaliar se o TSH sérico é um preditor de malignidade em nódulos de tireoide em pacientes submetidos à PAAF. A amostra contemplou 100 indivíduos puncionados consecutivamente no Centro de Pronto Diagnóstico Ambulatorial, CPDA, HCPA e que apresentavam níveis de TSH dentro da normalidade. Todos os pacientes foram submetidos à PAAF da tireoide com controle ultrassonográfico e tiveram, posteriormente, a análise citopatológica da PAAF e a avaliação histopatológica do bloco celular. A análise estatística baseou-se em dados de frequências e testes não-paramétricos foram utilizados para correlacionar as variáveis. A população de estudo foi composta por 100 pacientes, sendo 89 mulheres e 11 homens. A média de idade foi de $54,1 \pm 14,2$ anos e o tamanho médio dos nódulos foi de $2,53 \pm 1,36$ centímetros. Vinte e seis % destes pacientes apresentavam algum tipo de doença tireoidiana prévia. A média do nível de TSH sérico entre os 100 indivíduos foi de $1,81 \pm 1,08$ uUI/mL. De acordo com o diagnóstico citopatológico da PAAF complementado pelos achados do bloco celular foram classificados como malignos 8% dos nódulos, 70% benignos, 11% suspeitos/ indeterminados, 8% insuficientes e 3% lesões foliculares. A média de TSH para os grupos maligno, benigno, suspeito/indeterminado, insuficiente e lesão folicular foi de, respectivamente, 2,48, 1,59, 2,21, 2,35 e 2,20 uUI/ml ($p > 0,05$). Não houve diferença estatística significativa entre os grupos diagnósticos avaliados, apesar de haver uma variação entre os níveis de TSH entre os grupos refletindo, provavelmente, o pequeno tamanho da amostra.

Palavras-chave: Câncer de tireoide; Nódulos de Tireoide; TSH sérico; punção aspirativa por agulha fina (PAAF)

Abstract

Thyroid nodules are common and currently the first choice of investigation in distinguishing benign from malignant disease is the cytological analysis of fine needle aspiration biopsy (FNAB). Previous studies have indicated that serum TSH levels might be associated with the likelihood of malignancy. The aim of this study was to evaluate whether serum TSH is a predictor of malignancy of thyroid nodules in patients undergoing FNAB. One hundred consecutive patients, who underwent FNAB as part of clinical investigation of thyroid nodule in a multidisciplinary setting tertiary hospital, underwent ultrasonography followed by FNAB, cytology and cell block analysis. Independent-Samples Kruskal-Wallis test was used to compare the groups. The study population comprised of 89 female and 11 male patients. The mean age was 54.1 ± 14.2 years. 26% had previous thyroid disease. Mean TSH levels was 1.81 ± 1.08 uIU/mL and the mean nodule size was 2.53 ± 1.36 cm. Final cytology/cell block diagnosis classified 8% as malignant, 70% as benign, 11% suspicious/indeterminate, 8% insufficient and 3% follicular lesion. The mean TSH values for malignant, benign, suspect, insufficient and follicular lesion group were as follows: 2.48, 1.59, 2.21, 2.35 and 2.20 uIU/ml, respectively. No statistical significance was detected between TSH levels and final cytology/cell block diagnosis, possibly reflecting the small sample size ($P>0.05$). We observed a variation between TSH levels among the groups covered in this study, but there was no statistically significant difference among them.

Keywords: Thyroid cancer; thyroid nodule; serum TSH; fine needle aspiration biopsy (FNAB)

Lista de Tabelas

Tabela 1. Sistema Bethesda – Categorias Diagnósticas Recomendadas 17

Tabela 2. Sistema Bethesda – Risco de Malignidade e Recomendações Clínicas...18

Lista de Abreviaturas

CPDA – Centro de Pronto Diagnóstico Ambulatorial

HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre

L-T4 – Levotiroxina

PAAF – Punção Aspirativa por Agulha Fina

Tg - Tireoglobulina

TNM – Sistema de estadiamento de tumores malignos

TSH – Hormônio tireoestimulante

TSHR - Receptor de tireotrofina

T3 – Hormônio triiodotironina

T4 L – Hormônio tiroxina livre

rhTSH - TSH recombinante humano

SBEM – Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia

SPSS – Statistical Package for Social Sciences

US - Ultrassonografia

Sumário

1. Introdução.....	11
2. Revisão da Literatura	13
3. Justificativa	22
4. Objetivos	23
5. Referências Bibliográficas	24
6. Artigo em Inglês	29
7. Considerações Finais	40
8. Anexos	41

1. Introdução

A tireoide normal é uma glândula endócrina homogênea na qual, frequentemente, observa-se a formação de nódulos. Nódulos maiores que 1,0 cm costumam ser detectados clinicamente pela palpação. Um exame cuidadoso pode demonstrar a presença de nódulos em, pelo menos, 4% da população. A etiologia da doença nodular da tireoide é multifatorial, compreendendo um espectro que vai do pequeno nódulo achado de forma incidental a um grande bócio multinodular intra-torácico. Os principais aspectos com relação à avaliação diagnóstica incluem caracterização funcional e morfológica através do TSH sérico e algum tipo de exame de imagem (1).

Quando um nódulo de tireoide é descoberto, exames clínicos e de imagem, em geral, não são suficientes para caracterizar este nódulo como benigno ou maligno. A punção aspirativa com agulha fina (PAAF) guiada por ultrassonografia (US) é o método de escolha para distinguir benigna da doença maligna e com isso definir a conduta terapêutica (1,54). Assim, de acordo com as *guidelines* da SBEM, todos nódulos tireoidianos > 1cm devem ser submetidos à PAAF, com exceção dos nódulos funcionantes (56).

O carcinoma de tireoide é a neoplasia endócrina mais comum e também pode ser considerada a mais frequente da região da cabeça e pescoço, sendo três vezes mais encontrada no sexo feminino. Nos EUA, a doença corresponde a 3% de todos os cânceres que atingem as mulheres. No Brasil, correspondeu a 1,3% de todos os casos de câncer registrados no Inca (Instituto Nacional do Câncer) de 1994 a 1998, e a 6,4% de todos os cânceres da cabeça e pescoço. Em 2012, foram estimados 10590 casos novos de câncer da tireoide no Brasil, com um risco de 11 casos a cada 100 mil mulheres. Em Porto Alegre, no período entre 2000-2004, este risco correspondeu a 6,47/100 mil mulheres (2).

O hormônio estimulante da tireoide (TSH) é um fator de crescimento tireoidiano envolvido na regulação da secreção de hormônios, no controle da expressão dos genes da diferenciação tireoidiana e no crescimento glandular. O papel do TSH na

oncogênese da glândula ainda não está claro. Estudos experimentais e clínicos demonstraram que a proliferação das células da tireoide é dependente do TSH e que os carcinomas diferenciados geralmente mantêm responsividade ao TSH. Estas observações fundamentam o *rationale* do uso da supressão do TSH como forma terapêutica dos carcinomas diferenciados da tireoide (7, 8).

Mutações no receptor de tireotrofina (TSHR) são frequentes nestas neoplasias. Curiosamente, mutações relacionadas à hiperfunção TSHR caracterizam carcinomas tireoidianos diferenciados, enquanto carcinomas indiferenciados mostram TSHR silenciados. Não está claro se as alterações do TSHR em cânceres da tireoide têm um papel na gênese da neoplasia ou eles aparecem como uma consequência da instabilidade genética durante a evolução (8).

Estudos recentes sugerem que níveis elevados do TSH estão associados a um maior risco de neoplasia maligna da tireoide, mesmo dentro dos limites da normalidade. Além disso, os níveis séricos de TSH podem servir como fator preditivo independente do diagnóstico de malignidade em pacientes com nódulos de tireoide (3, 4, 5, 6). Dois trabalhos demonstraram que níveis pré-operatórios elevados de TSH sérico estão associados com carcinoma da tireoide avançado no momento do diagnóstico (5, 7).

Dessa forma, o presente estudo foi proposto para verificar se os níveis séricos de TSH podem estar correlacionados a uma maior probabilidade de ocorrência de câncer tireoidiano em pacientes submetidos à PAAF no Centro de Pronto Diagnóstico Ambulatorial (CPDA) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. As observações encontradas poderão ser relevantes para a inclusão da função tireoidiana como um dos parâmetros a serem considerados na avaliação de risco de câncer de tireoide em pacientes com doença nodular. Para evitar outros fatores que pudessem afetar os níveis séricos de TSH, foram incluídos neste estudo somente pacientes eutireoideos, que não estivessem em uso de medicação antitireoidiana ou reposição hormonal com L-T4.

2. Revisão da Literatura

2.1. Câncer de Tireoide: Epidemiologia e Fatores de Risco

A incidência de câncer de tireoide representa 90% de todas as neoplasias endócrinas, 1% de todos os tumores humanos e 0,5% das mortes por neoplasias malignas. Em geral, é uma doença pouco agressiva. A necessidade de exclusão da possível malignidade da doença e a prevenção de procedimentos cirúrgicos desnecessários em pacientes com nódulos benignos fazem do diagnóstico dos nódulos de tireoide um desafio diagnóstico (3).

A presença de um nódulo na tireoide normalmente não é indicação da presença de um câncer. No entanto, deve-se ter muita atenção na avaliação clínica já que existem alguns fatores de risco bem estabelecidos nestes casos. Fatores de risco conhecidos de malignidade aumentada incluem determinadas faixas etárias (<16 e > 45 anos) e sexo masculino. Ademais, história de irradiação do pescoço e histórico familiar de câncer de tireoide devem ser questionados assim como sintomas como disfagia, disfonia, dificuldade para respirar associados ao efeito compressivo do nódulo, entre outros. O exame físico da área cervical deve incluir palpação da glândula tireoide para que características como tamanho, mobilidade, consistência sejam determinadas e se o nódulo é único ou trata-se de bócio multinodular (55).

Possíveis preditores de risco de malignidade vêm sendo estudados e alguns autores propõem que fatores clínicos e bioquímicos possam servir como um complemento à PAAF, predizendo o risco de câncer. Dentre tais fatores, destacam-se o sexo e a idade do paciente, o tipo de bócio e as concentrações séricas de TSH, Tg, anticorpos anti-Tg e T4L (4, 11, 36, 37, 45). Estudos anteriores também avaliaram se o tamanho do nódulo poderia estar associado ao aumento do risco neoplásico. No entanto, os resultados são ainda bastante controversos (51, 52). Pesquisas de base populacional e epidemiológicas já demonstraram que o iodo é

essencial para a síntese de hormônios tireoideos e tanto a deficiência crônica deste halógeno como o excesso levam a alterações das células foliculares (12).

A relação entre a inflamação crônica do tecido tireoidiano e o risco aumentado para a tumorigênese, bem como a associação entre as doenças autoimunes e o risco de câncer são temas bastante controversos e há necessidade da definição de possíveis marcadores para predizer a malignidade dos nódulos investigados (10, 32, 37, 45). A Tireoidite de Hashimoto é a doença autoimune mais comum da tireoide e também a maior causa de hipotireoidismo, sendo associada à disfunção tireoidiana e desenvolvimento de bócio ocasional. Alguns estudos demonstraram um maior risco de carcinoma papilar em pacientes com tireoidite de Hashimoto, enquanto outros não observaram aumento do risco. Apesar de bastante controversa, a relação entre essas duas patologias é bastante interessante, dado o conceito de que inflamação crônica pode levar a um estado neoplásico já estar bem estabelecido para outros tecidos (43, 44).

2.2 TSH e Câncer de Tireoide

O hormônio tireoestimulante (TSH) está envolvido na regulação funcional da tireoide promovendo a síntese e a secreção dos hormônios tireoidianos triiodotironina (T3) e tiroxina (T4), a manutenção da expressão de genes específicos da tireoide e o crescimento da glândula. Estudos experimentais e dados clínicos têm demonstrado que a proliferação das células da tireoide é dependente do TSH e que cânceres bem diferenciados normalmente mantêm a capacidade de resposta ao TSH (7, 8).

Alguns estudos recentes também já relataram que as concentrações séricas de TSH podem estar associadas ao risco de malignidade em nódulos de tireoide. Mesmo dentro da faixa considerada normal, valores mais elevados de TSH foram associados a uma maior probabilidade de câncer tireoidiano (3, 6, 7, 11, 13). O TSH pode desempenhar um papel fundamental no desenvolvimento e na progressão tumoral (4, 6, 13, 14).

A relação entre TSH e o processo de oncogênese tireoidiano ainda não está claro. Mesmo dentro de níveis normais, uma concentração mais elevada de TSH associa-se a uma maior probabilidade de desenvolvimento neoplásico. Assim considera-se a hipótese de que é possível que níveis mais elevados de TSH sejam suficientes para promover o crescimento de carcinomas pré-existentes (5, 13, 47). Em dados revelados por outra pesquisa, observou-se que os pacientes com câncer de tireoide apresentaram níveis mais baixos de T3 do que pacientes com nódulos benignos. Portanto, um papel mais direto de T3 no processo de carcinogênese não pode ser completamente excluído até o momento (13).

Já se investiga quais parâmetros da avaliação clínica e laboratorial poderiam prever o diagnóstico de câncer de tireoide em indivíduos submetidos à PAAF. O aumento do risco associado às concentrações séricas de TSH na metade superior do intervalo normal e, ainda mais notadamente, naquelas acima do normal pode, pelo menos em parte, ser mediado pelo efeito trófico do TSH. Entretanto, poucos estudos têm tentado integrar os parâmetros clínicos e laboratoriais de forma sistemática com os resultados da PAAF no processo de seleção dos pacientes que precisam de cirurgia (3, 11, 13). Dessa forma, valores de TSH dentro do intervalo de referência, próximos do limite inferior ou superior, não necessariamente indicam uma função normal da tireoide. Deve-se considerar a influência de fatores fisiológicos, patológicos e farmacológicos que podem alterar o padrão de secreção de TSH (16, 17, 18). Os resultados encontrados por Boucai (19) destacam a complexidade de se estabelecer limites de referência de TSH adequados para a prática médica ambulatorial. Estudo realizado para estabelecer os limites de TSH na população adulta brasileira (18 a 60 anos) conforme as recomendações da *National Academy of Clinical Biochemistry* sugerem que o limite superior normal de TSH seja de, aproximadamente, 3,5 mIU/L (20).

2.3 Diagnóstico e PAAF

Como exposto anteriormente, nódulos de tireoide e bócio são bastante comuns e a PAAF é o método de primeira escolha para distinguir lesões benignas de malignas. Um dos principais objetivos da avaliação citológica do paciente com

nódulos tireoidianos é minimizar o risco de negligenciar uma neoplasia. No entanto, existem várias razões para algumas amostras não serem diagnosticadas na PAAF, incluindo material inadequado ou insuficiente, colocação incorreta da agulha, inexperiência profissional e diferentes critérios diagnósticos entre laboratórios (11).

A partir das deliberações feitas em outubro de 2007 pelo *National Cancer Institute* em Bethesda, Maryland, as categorias diagnósticas para PAAF de tireoide foram definidas seguindo o “Sistema de Bethesda”. Estas diretrizes além de facilitar a comunicação entre citopatologistas, cirurgiões, endocrinologistas, radiologistas e outros profissionais, auxiliam na investigação e diagnóstico das doenças da tireoide uma vez que fornecem critérios tanto de terminologia quanto de características morfológicas. Desse modo, o sistema permite o fácil compartilhamento de dados entre diferentes laboratórios em âmbito nacional e internacional (15).

Na tabela 1, observam-se as 6 categorias gerais de diagnóstico citopatológico de tireoide no Sistema Bethesda. A categoria I engloba amostras que são consideradas insatisfatórias, ou seja, quando não preenchem alguns critérios como, por exemplo, excesso de sangue, problemas na fixação de lâminas ou número de células inadequado para avaliação. Da mesma maneira, algumas condições são necessárias para uma amostra ser satisfatória. O número de grupos celulares a serem analisados e o número de células que os compõe são determinantes para uma correta avaliação diagnóstica.

A categoria II compreende os nódulos “benignos”, obtidos em 60 a 70% dos casos de PAAF de tireoide enquanto na categoria III estão os nódulos classificados como “atipias de significado indeterminado” ou “lesão folicular de significado indeterminado”. A categoria IV é composta por nódulos de “neoplasia folicular ou suspeitos para neoplasia folicular”. Já a classe V e VI, compreendem, respectivamente, nódulos “suspeitos para malignidade” e “malignos”. (15).

De acordo com a tabela 2, cada uma destas categorias possui um risco de câncer implícita, variando de 0% a 3% para a categoria benigno até praticamente 100% para a categoria maligno (15).

Tabela 1. Sistema Bethesda – Categorias Diagnósticas Recomendadas

Sistema Bethesda – Categorias Diagnósticas Recomendadas

I. Não diagnóstico ou Insatisfatório

Fluido cístico somente

Espécime praticamente acelular

Outros (excesso de sangue, artefatos de coagulação, etc)

II. Benigno

Consistente com um nódulo folicular benigno (nódulo adenomatóide, nódulo cístico, etc)

Consistente com Tireoidite de Hashimoto no contexto clínico adequado

Consistente com tireoidite granulomatosa (subaguda)

III. Atipia de Significado Indeterminado ou Lesão Folicular de Significado Indeterminado**IV. Neoplasia Folicular ou Suspeito para Neoplasia Folicular**

Especificar células do tipo Hürthle

V. Suspeito para Malignidade

Suspeito para carcinoma papilar

Suspeito para carcinoma medular

Suspeito para carcinoma metastático

Suspeito para linfoma

Outros

VI. Maligno

Carcinoma papilar de tireoide

Carcinoma pouco diferenciado

Carcinoma medular de tireoide

Carcinoma anaplásico indiferenciado

Carcinoma de células escamosas

Carcinoma com características mistas (especificar)

Carcinoma metastático

Linfoma Não Hodgkin

Outros

Tabela 2. Sistema Bethesda – Risco de Malignidade e Recomendações Clínicas

Categoria Diagnóstica	Risco de Malignidade (%)	Conduta Usual
Não Diagnóstico ou Insatisfatório	1-4	Repetição da PAAF guiada por US
Benigno	0-3	Seguimento clínico
Atipia de Significado Indeterminado ou Lesão Folicular de Significado Indeterminado	5 - 15	Repetição da PAAF
Neoplasia folicular ou suspeito para neoplasia folicular	15-30	Lobectomia cirúrgica
Suspeito para malignidade	60-75	Tireoidectomia parcial/ total ou lobectomia cirúrgica
Maligno	97-99	Tireoidectomia parcial/ total

Entre 10-25% dos nódulos puncionados são classificados atipias de significado indeterminado ou lesão folicular de significado indeterminado (Bethesda III), com risco de malignidade de aproximadamente 5-15%. Os esfregaços citológicos mostram células foliculares, linfóides ou de outros tipos apresentando arquitetura e núcleos atípicos. Esta categoria diagnóstica, por representar um baixo risco de malignidade, requer como conduta a repetição da PAAF após um intervalo de tempo ao invés de uma excisão nodular. No entanto, características clínicas e radiológicas podem tornar a cirurgia a primeira escolha para o tratamento (38, 50).

O principal benefício da PAAF guiada por US deve-se, em grande parte, a sua capacidade de fornecer resultados suficientes para uma interpretação confiável que poderá, por sua vez, evitar procedimento cirúrgico desnecessário (42, 54). Por outro lado, a principal limitação da PAAF é a incapacidade de distinguir um adenoma folicular de um carcinoma folicular de tireoide, uma vez que em ambos os casos o resultado da biópsia caracteriza-se por abundantes células foliculares, microfolículos e pouco ou nenhum coloide (Classe IV do Sistema Bethesda). Portanto, critérios citomorfológicos isolados não distinguem adenomas de carcinomas exigindo, desta maneira, a análise conjunta de fatores clínicos e ultrassonográficos e cirúrgicos. Alguns aspectos ultrassonográficos dos nódulos associados a um maior risco de malignidade os quais podem ajudar nesta diferenciação incluem: hipoecogenicidade,

microcalcificações, margens irregulares, halo ausente, nódulo mais alto que largo e fluxo sanguíneo intranodular aumentado (29, 33, 35, 36, 40, 53, 54).

Outra limitação do método são as taxas de resultados insatisfatórios ou não-diagnósticos (Bethesda I). Já existem relatos de que a utilização de US na repetição da PAAF melhora estas taxas. Ademais, na literatura, poucos estudam abordam possíveis fatores de risco específicos para malignidade em casos considerados insatisfatórios na PAAF (48, 49, 53).

Embora bastante segura, a PAAF pode provocar algumas alterações bioquímicas transitórias devido à destruição de folículos tireoideos como, por exemplo, aumento de Tg e aumento posterior de anticorpos anti-Tg (34).

2.4 Prognóstico e Tratamento

A grande maioria das lesões tireoidianas malignas tem origem nas células foliculares. O tipo histológico mais comum é o carcinoma papilar, seguido pelo carcinoma folicular. O carcinoma papilar é responsável por mais de 80% de todas as neoplasias malignas da tireoide. As taxas de sobrevivência estão entre as mais altas (> 90-95%) dentre todos os tipos de cânceres.

Estes dois carcinomas são classificados como carcinomas diferenciados da tireoide e têm abordagem terapêutica distinta daquela empregada em carcinomas pouco diferenciados ou indiferenciados (ou anaplásicos) e dos carcinomas medulares, originados das células parafoliculares da tireoide (7, 8, 9, 40).

A lobectomia é o tratamento definitivo para pacientes com adenoma folicular benigno ou carcinoma folicular minimamente invasivo. Carcinomas foliculares invasivos são mais agressivos e propensos à metastátese sistêmica e a um pior prognóstico. Nestes casos, os pacientes são submetidos à tireoidectomia total (29, 31, 40). Quando um carcinoma papilar é diagnosticado, os pacientes geralmente são tratados com tireoidectomia total e frequentemente também com esvaziamento linfonodal cervical, seguidos de ablação com iodo radioativo e terapia supressiva do TSH com levotiroxina.

Embora a maioria dos pacientes tenha excelente sobrevida, há alguns que desenvolvem formas agressivas da doença. Com o aumento mundial da incidência, urge a necessidade de identificar tumores que representem risco maior para os pacientes. A gestão deste tipo de neoplasia mudou substancialmente nas últimas décadas como resultado da disponibilidade de novas ferramentas diagnósticas juntamente com dados epidemiológicos e terapias específicas. Entre os fatores que podem influenciar no prognóstico estão as características histológicas e o tamanho tumoral, a presença de metástases linfonodais ou distantes, a extensão extratireoidal e a expressão de oncogenes (21, 22, 29). O sistema de estadiamento TNM, por exemplo, auxilia a reportar dados, comparando resultados em diferentes partes do mundo (23).

Em um estudo realizado por Kim *et al* (2012) relacionando a multifocalidade e a bilateralidade de carcinomas papilares com a recidiva/ persistência da doença observou-se que embora tanto carcinomas bilaterais quanto carcinomas multifocais apresentassem características patológicas agressivas, apenas os últimos associaram-se a um risco aumentado de recidiva da doença. Deste modo, parece que o número de focos tumorais e não a sua localização poderia ser um preditor para recorrência em casos de carcinoma papilar. Apesar de as taxas de sobrevivência serem altas e os resultados favoráveis a longo prazo, a recorrência de carcinoma papilar não é rara (39).

Em relação ao tratamento do câncer diferenciado de tireoide, apesar das diretrizes clínicas, não existem recomendações sobre a concentração sérica ótima de TSH que reduza a recorrência tumoral e melhore a sobrevida, com o mínimo de efeitos adversos ao paciente. Sabe-se, contudo, que o nível de supressão de TSH pode induzir comorbidades a longo prazo, principalmente no sistema cardiovascular e ósseo (24).

No seguimento de pacientes com doença recorrente ou metastática de carcinoma diferenciado de tireoide após a tireoidectomia total, a dosagem de tireoglobulina (Tg), estimulada ou sob supressão com T4, em combinação com a ultrassonografia cervical desempenha um importante papel. A Tg é uma glicoproteína produzida exclusivamente por células foliculares normais ou neoplásicas da tireoide. Em pacientes submetidos à ablação total da tireoide, a Tg

deverá ser indetectável de modo que um aumento da sua concentração sérica estará portanto associada, à presença de tecido tireodiano residual ou metastático. Sabe-se, também, que a produção de Tg é, em parte, dependente da estimulação de TSH (40). A especificidade do método é incrementada pela ablação de remanescentes tireoidianos com ^{131}I e sua sensibilidade é ideal após a estimulação com TSH recombinante humano (rhTSH) (9, 25, 26, 40). A introdução de rhTSH na clínica tireoidiana representa um feito notável na abordagem diagnóstica do câncer de tireoide, oferecendo uma alternativa confiável e segura em casos em que o hipotireoidismo precisa ser evitado (27, 28).

Recentemente, estudos envolvendo biologia molecular a partir da investigação de alterações genéticas como, por exemplo, mutações, deleções e translocações cromossômicas tentam melhorar a precisão tanto diagnóstica quanto terapêutica em casos de neoplasias tireoidianas. Já existem alguns indicativos de que há padrões genômicos distintos entre nódulos benignos e malignos de tireoide. Oncogenes como BRAF, RAS, RET/PTC têm sido associados com a carcinogênese da tireoide. (29, 30, 41, 46).

A detecção molecular destes marcadores genéticos em esfregaços citológicos tem aumentado de maneira considerável nos últimos anos. BRAF é o oncogene mais frequentemente encontrado em carcinoma papilar de tireóide e já foi descrita positividade para RET/PTC em Tireoidite de Hashimoto. PAX8 é um gene que codifica um fator de transcrição específico da tireoide, envolvido na diferenciação das células foliculares. Em cerca de 80% dos carcinomas foliculares, mutação ou translocação de RAS ou PAX8 são encontradas. Desta forma, a detecção destas alterações genéticas através do uso de marcadores específicos pode aumentar a sensibilidade da PAAF de tireoide em casos inconclusivos. O melhor conhecimento da sinalização intracelular (vias de transdução, via tirosina quinase, por exemplo) anormal nas células cancerosas possibilitará novas terapias alvo-específicas (30, 46).

3. Justificativa

Estudos recentes sugerem que valores elevados do TSH estão associados a um maior risco de neoplasia maligna da tireoide e que os níveis séricos de TSH podem servir como fator preditivo independente do diagnóstico de malignidade em pacientes com nódulos de tireoide. A maioria destas investigações, no entanto, são realizadas em séries retrospectivas. O presente estudo propõe-se a correlacionar as concentrações séricas de TSH com diagnóstico citopatológico de nódulos de tireoide através de punção aspirativa por agulha fina em 100 indivíduos de maneira prospectiva e consecutiva, tendo em vista que não há estudos semelhantes em nosso meio.

4.Objetivos

Avaliar o TSH sérico como fator preditivo de malignidade de nódulos tireoidianos em pacientes atendidos no Centro de Pronto Diagnóstico Ambulatorial do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Avaliar a acurácia do método da PAAF guiada por US no nosso centro ambulatorial, tendo em vista este ser o método de primeira escolha para o diagnóstico de nódulos de tireoide atualmente.

5. Referências Bibliográficas

1. Graf H. Thyroid nodular disease. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 2004;48(1):93-104.
2. Instituto Nacional do Câncer (Inca). <http://www.inca.gov.br>. Acessado em Janeiro 2013.
3. Polyzos SA, Kita M, Efstathiadou Z, Poulakos P, Slavakis A, Sofianou D *et al* Serum thyrotropin concentration as a biochemical predictor of thyroid malignancy in patients presenting with thyroid nodules. *Cancer Res Clin Oncol*, 2008;134(9):953-60.
4. Haymart MR, Glinberg SL, Liu J, Sippel RS, Jaume JC, Chen H. Higher serum TSH in thyroid cancer patients occurs independent of age and correlates with extrathyroidal extension. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2009;71(3):434-9.
5. Haymart MR, Repplinger DJ, Levenson GE, Elson DF, Sippel RS, Jaume JC, Chen H. Higher serum thyroid stimulating hormone level in thyroid nodule patients is associated with greater risks of differentiated thyroid cancer and advanced tumor stage. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008;93(3):809-14.
6. Boelaert K. The association between serum TSH concentration and thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer*, 2009;16(4):1065-72.
7. Fiore E, Rago T, Provenzale MA, Scutari M, Ugolini C, Basolo F, *et al*. Lower levels of TSH are associated with a lower risk of papillary thyroid cancer in patients with thyroid nodular disease: thyroid autonomy may play a protective role. *Endocr Relat Cancer*, 2009;16(4):1251-60.
8. García-Jiménez C, Santisteban P. TSH signalling and cancer. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 2007;51(5):654-71.
9. Graf H. Use of recombinant TSH in differentiated thyroid cancer. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 2007;51(9):1555-6.
10. Azizi G, Malchoff CD. Assured Autoimmune Thyroid Disease is a Risk Factor for Thyroid Cancer. *Endocr Pract*, 2010; 14:1-21.
11. Boelaert K, Horacek J, Holder RL, Watkinson JC, Sheppard MC, Franklyn JA. Serum thyrotropin concentration as a novel predictor of malignancy in thyroid nodules investigated by fine-needle aspiration. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006;91(11):4295-301.
12. Knobel M, Medeiros-Neto G. Relevance of iodine intake as a reputed predisposing factor for thyroid cancer. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 2007;51(5):701-12.

13. Jonklaas J, Nsouli-Maktabi H, Soldin SJ. Endogenous thyrotropin and triiodothyronine concentrations in individuals with thyroid cancer. *Thyroid*, 2008;18(9):943-52.
14. Jin J, Machekano R, McHenry CR. The utility of preoperative serum thyroid-stimulating hormone level for predicting malignant nodular thyroid disease. *Am J Surg*, 2010;199(3):294-7.
15. Cibas ES, Ali SZ; The Bethesda System For Reporting Thyroid Cytopathology. NCI Thyroid FNA State of the Science Conference. *Am J Clin Pathol*, 2009;132(5):658-65.
16. Brabant G, Beck-Peccoz P, Jarzab B, Laurberg P, Orgiazzi J, Szabolcs I *et al.* Is there a need to redefine the upper normal limit of TSH? *Eur J Endocrinol*, 2006;154(5):633-7.
17. Hovens GC, Stokkel MP, Kievit J, Corssmit EP, Pereira AM, Romijn JA *et al.* Associations of serum thyrotropin concentrations with recurrence and death in differentiated thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007;92(7):2610-5.
18. Hurtado-López LM, Monroy-Lozano BE, Martínez-Duncker C. TSH alone is not sufficient to exclude all patients with a functioning thyroid nodule from undergoing testing to exclude thyroid cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2008;35(6):1173-8.
19. Boucai L, Surks MI. Reference limits of serum TSH and free T4 are significantly influenced by race and age in an urban outpatient medical practice. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2009;70(5):788-93.
20. Rosario PW, Xavier AC, Calsolari MR. TSH reference values for adult Brazilian population. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 2010;54(7):603-6.
21. Sipos JA, Mazzaferri EL. Thyroid cancer epidemiology and prognostic variables. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*, 2010;22(6):395-404.
22. Gulcelik MA, Gulcelik NE, Kuru B, Camlibel M, Alagol H. Prognostic factors determining survival in differentiated thyroid cancer. *J Surg Oncol*, 2007;96(7):598-604.
23. Shaha AR. TNM classification of thyroid carcinoma. *World J Surg*, 2007;31(5):879-87.
24. Biondi B, Cooper DS. Benefits of thyrotropin suppression versus the risks of adverse effects in differentiated thyroid cancer. *Thyroid*, 2010;20(2):135-46.
25. Francis Z, Schlumberger M. Serum thyroglobulin determination in thyroid cancer patients. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2008;22(6):1039-46.
26. Schlumberger M, Hitzel A, Toubert ME, Corone C, Troalen F, Schlageter MH *et al.* Comparison of seven serum thyroglobulin assays in the follow-up of papillary and follicular thyroid cancer patients. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007;92(7):2487-95.

27. Duntas LH, Cooper DS. Review on the occasion of a decade of recombinant human TSH: prospects and novel uses. *Thyroid*, 2008;18(5):509-16.
28. Montesano T, Durante C, Attard M, Crocetti U, Meringolo D, Bruno R, Tumino S *et al.* Age influences TSH serum levels after withdrawal of l-thyroxine or rhTSH stimulation in patients affected by differentiated thyroid cancer. *Biomed Pharmacother*, 2007;61(8):468-71.
29. McHenry CR, Phitayakorn R. Follicular adenoma and carcinoma of the thyroid gland. *Oncologist*, 2011;16(5):585-93.
30. Romagnoli S, Moretti S, Voce P, Puxeddu E. Targeted molecular therapies in thyroid carcinoma. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 2009;53(9):1061-73.
31. Scheumann GF, Seeliger H, Musholt TJ *et al.* Completion thyroidectomy in 131 patients with differentiated thyroid carcinoma. *Eur J Surg*, 1996;162: 677–684.
32. Rho MH, Kim DW, Hong HP, Park YM, Kwon MJ, Jung SJ *et al.* Diagnostic value of antithyroid peroxidase antibody for incidental autoimmune thyroiditis based on histopathologic results. *Endocrine*, 2012;42(3):647-52.
33. Monteros Alvi M, Romero NM, Gonorazky S, Galvez V, Galvez M, Virgili E *et al.* Risk markers of follicular neoplasms in thyroid nodules. *Medicina (B Aires)*, 2009;69(5):497-501.
34. Anastasilakis AD, Polyzos SA, Delaroudis S, Toulis KA, Mandanas S, Avgerinidou C *et al.* Long-term effects of thyroid fine-needle biopsy on the thyroid-related biochemical parameters. *Int J Clin Pract*, 2012;66(6):602-9.
35. Camargo RY, Tomimori EK, Knobel M, Medeiros-Neto G. Preoperative assessment of thyroid nodules: role of ultrasonography and fine needle aspiration biopsy followed by cytology. *Clinics (Sao Paulo)*, 2007;62(4):411-8.
36. Rio AL, Biscolla RP, Andreoni DM, Camacho CP, Nakabashi CC, Mamone Mda C *et al.* Evaluation of clinical, laboratorial and ultrasonographic predicting factors of malignancy in thyroid nodules. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 2011;55(1):29-37.
37. Lee EK, Chung KW, Min HS, Kim TS, Kim TH, Ryu JS *et al.* Preoperative serum thyroglobulin as a useful predictive marker to differentiate follicular thyroid cancer from benign nodules in indeterminate nodules. *J Korean Med Sci*, 2012;27(9):1014-8.
38. Dincer N, Balci S, Yazgan A, Guney G, Ersoy R, Cakir B *et al.* Follow-up of atypia and follicular lesions of undetermined significance in thyroid fine needle aspiration cytology. *Cytopathology*, 2012; 10.1111/cyt.12021.
39. Kim HJ, Sohn SY, Jang HW, Kim SW, Chung JH. Multifocality, but not bilaterality, is a predictor of disease recurrence/persistence of papillary thyroid carcinoma. *World J Surg*, 2013;37(2):376-84.

40. Lupoli GA, Fonderico F, Colarusso S, Panico A, Cavallo A, Di Micco L *et al.* Current management of differentiated thyroid carcinoma. *Med Sci Monit*, 2005;11(12):368-73.
41. Liu Y, Cope L, Sun W, Wang Y, Prasad N, Sangenario L *et al.* DNA Copy Number Variations Characterize Benign and Malignant Thyroid Tumors. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013; 10.1210/jc.2012-3113
42. Sakorafas GH. Thyroid nodules; interpretation and importance of fine-needle aspiration (FNA) for the clinician - practical considerations. *Surg Oncol*, 2010;19(4):130-9.
43. Jankovic B, Le KT, Hershman JM. Hashimoto's Thyroiditis and Papillary Thyroid Carcinoma: Is There a Correlation? *J Clin Endocrinol Metab*, 2013;98(2):474-82.
44. Lun Y, Wu X, Xia Q, Han Y, Zhang X, Liu Z *et al.* Hashimoto's Thyroiditis as a Risk Factor of Papillary Thyroid Cancer May Improve Cancer Prognosis. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2013; 10.1177/0194599812472426
45. Kim ES, Lim DJ, Baek KH, Lee JM, Kim MK, Kwon HS *et al.* Thyroglobulin antibody is associated with increased cancer risk in thyroid nodules. *Thyroid*, 2010;20(8):885-91.
46. Schmitt F, Barroca H. Possible use and role of molecular techniques in fine-needle aspiration cytology (FNAC) practice. *Diagnostic Histopathology*. Volume 17, Issue 7, July 2011, Pages 286-292.
47. Kim HK, Yoon JH, Kim SJ, Cho JS, Kweon SS, Kang HC. Higher TSH level is a risk factor for differentiated thyroid cancer. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2013;78(3):472-7.
48. Al Maqbali T, Tedla M, Weickert MO, Mehanna H. Malignancy risk analysis in patients with inadequate fine needle aspiration cytology (FNAC) of the thyroid. *PLoS One*, 2012;7(11):49078.
49. Alexander EK, Heering JP, Benson CB, Frates MC, Doubilet PM, Cibas ES *et al.* Assessment of nondiagnostic ultrasound-guided fine needle aspirations of thyroid nodules. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002;87(11):4924-7.
50. Pang T, Ihre-Lundgren C, Gill A, McMullen T, Sywak M, Sidhu S *et al.* Correlation between indeterminate aspiration cytology and final histopathology of thyroid neoplasms. *Surgery*, 2010;148(3):532-7.
51. Shrestha M, Crothers BA, Burch HB. The impact of thyroid nodule size on the risk of malignancy and accuracy of fine-needle aspiration: a 10-year study from a single institution. *Thyroid*, 2012;22(12):1251-6.
52. Kamran SC, Marqusee E, Kim MI, Frates MC, Ritner J, Peters H *et al.* Thyroid nodule size and prediction of cancer. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013;98(2):564-70.

53. Kim DW. How to do it: ultrasound-guided fine-needle aspiration of thyroid nodules that commonly result in inappropriate cytology. *Clin Imaging*, 2013; 37(1):1-7.
54. Sheth S. Role of ultrasonography in thyroid disease. *Otolaryngol Clin North Am*, 2010;43(2):239-55.
55. Eng CY, Quraishi MS, Bradley PJ. Management of Thyroid nodules in adult patients. *Head Neck Oncol*, 2010;5;2:11.
56. Maia, AL *et al*. Thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: Brazilian consensus. *Arq Bras Endocrinol Metab*, 2007 vol.51 no.5

6. Artigo em Inglês

EVALUATION OF SERUM TSH AS A PREDICTOR OF MALIGNANCY IN THYROID NODULES OF PATIENTS SUBMITTED TO FINE NEEDLE ASPIRATION

Ana Patrícia de Cristo², Mariana Carlucci², Carla Brauner Blom², Carlo Sasso Faccin¹, Heloísa Folgieri Goldstein^{1,2}, Ana Luiza Maia^{1,2}, Marcia Silveira Graudenz^{1,2}

1. Hospital de Clínicas de Porto Alegre
2. Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Mailing Address:

Ana Patrícia de Cristo

Centro de Pronto Diagnóstico Ambulatorial.

Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Rua Ramiro Barcelos, 2350.

CEP 90035-903 Porto Alegre- RS – Brasil

Email: ana.cristo2@gmail.com

Abstract

Background/Objectives: Currently the first choice of investigation in distinguishing benign from malignant disease is the cytological analysis of fine needle aspiration biopsy (FNAB). Previous studies have indicated that serum TSH levels might be associated with the likelihood of malignancy. The aim of this study was to evaluate whether serum TSH is a predictor of malignancy of thyroid nodules in patients undergoing FNAB. **Methods:** One hundred consecutive patients, who underwent FNAB as part of clinical investigation of thyroid nodule in a multidisciplinary setting tertiary hospital, underwent ultrasonography followed by FNAB, cytology and cell block analysis. Independent-Samples Kruskal-Wallis test was used to compare the groups. **Results:** The study population comprised of 89 female and 11 male patients. The mean age was 54.1 ± 14.2 years. 26% had previous thyroid disease. Mean TSH levels was 1.81 ± 1.08 uUI/mL and the mean nodule size was 2.53 ± 1.36 cm. Final cytology/cell block diagnosis classified 8% as malignant, 70% as benign, 11% suspicious/indeterminate, 8% insufficient and 3% follicular lesion. The mean TSH values for malignant, benign, suspect, insufficient and follicular lesion group were as follows: 2.48, 1.59, 2.21, 2.35 and 2.20 uUI/ml, respectively. No statistical significance was detected between TSH levels and final diagnosis, possibly reflecting the small sample size ($P > 0.05$). **Conclusions:** We observed a variation between TSH levels in the groups, but there was no statistically significant difference among them.

Keywords: Thyroid cancer; thyroid nodule; serum TSH; fine needle aspiration biopsy (FNAB)

Introduction

Thyroid nodules are common clinical findings and more frequent in women and in the elderly population while cases of thyroid cancer are relatively rare (1).

Currently, the diagnostic method of choice for differentiating benign from malignant lesions is the cytopathological analysis of nodules by fine needle aspiration (FNA) biopsy guided by ultrasonography. Thus, it is possible to select the nodule or even the specific nodular area to be aspirated on the basis of ultrasonographic findings (1, 3, 9). The Bethesda System, used to define the diagnostic categories of FNA, consists of six categories and each has distinct morphological characteristics and cancer risk (2).

Possible predictors of thyroid malignancy have been investigated such as gender, age, tumor extension, besides clinical and biochemical factors that can complement FNA (3, 4, 6, 7, 13). Among these factors, TSH plays an important role in the regulation of thyroid function through hormone secretion (triiodothyronine and thyroxine), maintenance of gene expression and cell growth.

There is increasing evidence that high serum levels of TSH, even within normal range, may be associated with elevated risk of malignancy (3, 4, 7, 8). Furthermore, basal serum TSH levels are higher in patients with more aggressive thyroid cancer, regardless of age.

The increased risk associated with serum concentrations of TSH in the upper half of the normal range, and most notably, those above normal can, at least in part, be mediated by trophic effect of TSH. However, few studies have tried to integrate the clinical and laboratory parameters systematically with FNA results in the selection of patients who need surgery.

The aim of this study was to evaluate serum TSH as a predictive factor of malignancy of thyroid nodules in patients attended at the Centro de Pronto Diagnóstico Ambulatorial (CPDA), Hospital de Clínicas de Porto Alegre (CPDA), to perform fine-needle aspiration. The inclusion of TSH concentrations may be useful in assessing the risk of thyroid malignancy in patients with nodular thyroid disease.

Materials and Methods

Patients. From March to December 2012, 148 patients with thyroid nodules were submitted to fine-needle aspiration biopsy guided by ultrasound. at the Centro de Pronto Diagnóstico Ambulatorial (CPDA), Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA. Of this total, 48 patients were excluded from our sample because they were using any thyroid medication or presenting hyper/hypothyroidism. After exlusions, our sample consisted of 100 individuals consecutively aspirated who had TSH levels within normal range.

Serum TSH. TSH was measured by chemiluminescence (Advia Centaur XP). Serum values are expressed in uUI/ mL based on reference values ranging from 0.35 to 5.50 uUI /mL (Laboratório de Análises Clínicas, HCPA).

FNA, cytology and cell block. All patients underwent thyroid FNA with ultrasound control performed by the same radiologist. ALOKA ultrasound device with a 7.5 MHz linear transducer (Tokyo, Japan). FNA was performed with a disposable needle (21 G) connected to a 10ml disposable syringe. The needle tip is identified as a bright spot in the monitor and then inserted perpendicularly to the cervical region and guided to the aspiration site. Constant negative pressure with the syringe plunger until material is seen at the base of the needle. Multidirectional aspiration was performed in: dominant nodules in patients with multinodular goiter, suspicious nodules on ultrasonography or in various locations in cases of diffuse goiter. Six cytology slides were prepared for each patient, four of them air dried and immediately stained by May Grumwald Giemsa technique. The other two slides were immediately fixed in ethanol 96° and subsequently stained by the Papanicolaou technique. The residual hemorrhagic aspirate in the syringe and needle was fixed in 10% formalin, then paraffin-embedded (cell block) and histological sections stained with hematoxylin and eosin examined as a complementary diagnostic tool to FNA.

The adequacy of cytological aspirates was defined according to the recommendations of the *Papanicolaou Society of Cytopathology Task Force on Standards of Practice*, 1996 and cytological results classified according to the criteria of the Bethesda System for Cytological Classification of Thyroid Nodules on 6 diagnostic categories : 1) Non-diagnosis or Unsatisfactory, 2) Benign, 3) Atypia of

undetermined significance; 4) Follicular neoplasm or suspicious; 5) Suspicious for malignancy and 6) Malignant.

The FNA cytology results were validated in a subgroup of 17 patients in this sample of 100 patients who underwent lobectomy or thyroidectomy at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre and the surgical specimens examined in the Department of Pathology. The cytologic diagnoses were classified as 1) false-negative for malignancy, 2) false-positive for malignancy, 3) true positive and 4) true negative. True-negatives were Bethesda Class II cytology cases with benign pathology reports. True positives were suspicious (Bethesda Class V) and malignant (Bethesda Class VI Bethesda) confirmed malignant by the final pathology report.

Two independent pathologists reviewed the cytological and histological slides of each case together and a final diagnostic category was assigned: 1) Malignant (categories 5 and 6 of Bethesda), 2) Benign (category 2 Bethesda) 3) Undetermined (category 3 Bethesda), 4) Insufficient (category 1 Bethesda) and 5) Follicular lesion (category 4 of Bethesda).

Statistical analysis of the results was performed with SPSS software (Statistical Package for Social Sciences) version 18.0. Analysis was based on frequency data and mean \pm standard deviation (SD) and nonparametric tests (Kruskal-wallis) were used to correlate variables TSH, FNA, Final Diagnosis. p value was considered statistically significant for values less than 5% ($p < 0.05$)

The project was approved by the Research Ethics Committee of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre under number CAAE 06351612.2.0000.5327.

Results

Population. The study population consisted of 100 patients consecutively assisted in the CPDA, 89 female and 11 male patients. Mean age was 54.1 ± 14.2 years. 26% of these patients had already some type of previous thyroid disease. None of the patients was receiving thyroid drugs. The average size of the nodules was 2.53 ± 1.36 cm.

Cytologic Diagnosis and cell block. 8% of patients had a final diagnosis of malignancy, 3% were diagnosed as follicular lesion, 11% had indeterminate diagnosis, 70% benign diagnosis and 8% were considered insufficient or non-diagnostic. Cell blocks were obtained in 80 of 100 cases (80%) and were considered diagnostic in 88.7% and not diagnostic (insufficient) in 9 cases (11.2%) (Table1).

FNA Validation. 17 out of 100 patients underwent surgery. All 17 patients had cytopathologic result and 12 had cell block reports. 2 patients included in category I (insufficient) had as definitive histological diagnosis multinodular colloid goiter. 4 patients included in benign diagnosis underwent surgery. And all had benign findings in the surgical pathology report. All 3 class III patients operated showed benign goiter. In category IV, there was a Hürthle cell carcinoma and a colloid goiter. Classes V and VI included respectively 4 and 2 patients, the latter 2 confirmed as papillary carcinoma. In Class V, 3 papillary carcinomas and one goiter were diagnosed in the definitive anatomopathologic.

The results were: 01 false-positive for malignancy, 0 false-negative, 6 truly positive and 4 truly negative cases. Cases excluded from the analysis of sensitivity and specificity are: 1) 2 insufficient cases, 3 indeterminate cases (class III) and 2 Class IV (lesion follicular) Class IV cases were excluded because FNA has limited sensibility and specificity to discriminate follicular adenoma and carcinomas and hence the diagnostic power of this class is generally considered low and somehow "indeterminate".

The FNA sensitivity and specificity of Bethesda Class 2, 5 and 6 was calculated considering 10 cases with sufficient cytologic material for analysis. The calculated sensitivity and specificity for class 2, 5 and 6 on cytology was 100% (4/4) and 83% (5/6) respectively. The accuracy was 90% (10/11).

Relationship between serum TSH and malignancy. The average serum TSH among 100 subjects was 1.81 ± 1.08 uUI / mL. Mean values for each group of TSH in Final Diagnosis were: 2.48 ± 1.67 uUI / mL in Malignant group, 1.59 ± 0.86 uUI / mL in Benign group, 2.21 ± 1.19 uUI / mL in indeterminate group, 2.35 ± 1.61 uUI / mL in Insufficient group and 2.20 ± 0.09 UI / mL in the follicular lesion group, as shown in

table 2. The mean TSH in the different Bethesda Classes is shown in Table 3. There was no statistically significant difference among groups evaluated.

When the malignant final diagnosis class was grouped with follicular lesions for statistical analysis in a single group and the mean TSH compared with the other three diagnostic groups (benign, indeterminate and insufficient), higher mean levels of TSH in malignant, indeterminate and unsatisfactory groups were observed (table 4). The benign diagnostic category showed the lowest TSH level. However, no statistical difference was detected ($p > 0.05$).

Taking into consideration cytology results alone, by grouping categories 4, 5 and 6 of Bethesda into a single group and comparing TSH levels among the groups, still no statistical difference was seen. However, groups 4/5/6 and 3 (indeterminate), demonstrated higher mean TSH compared to the other groups. Groups 2, and 1 presented the lowest average (table 4).

The distribution of diagnostic classes within different ranges of normal serum TSH is shown in Figures 1 and 2. There was no statistically significant difference.

Discussion

FNA is the method of choice for the diagnosis of thyroid nodules. This diagnostic procedure is considered very cost-effective, safe and easy to perform, and able to provide accurate cytopathological results. Technique limitations and its advantages are well established and described by several authors (1, 11).

In this paper, we studied prospectively a total of 100 patients with nodular thyroid disease consecutively attended at the Centro de Pronto Diagnóstico Ambulatorial that underwent fine needle aspiration biopsy guided by US. The population in this study was well defined, since possible confounding clinical factors were excluded, as hypo or hyperthyroid patients or those who were making use of some thyroid medication previously. Thus, the study included only euthyroid patients presenting TSH measurement within the normal range (HCPA). In our center, a tertiary hospital, all cases are discussed in multidisciplinary meetings (pathologists, radiologists and endocrinologists) and appropriate clinical or surgical therapeutic decisions taken

In our study, all patients underwent US-guided FNA, always with the same equipment and performed by same professional ultrasound radiologist. This procedure increases the sensitivity of the method. Several reports have highlighted the role of U.S. in the diagnosis of nodules by FNA, contributing to a more accurate diagnosis and reducing the number of unnecessary surgery for benign nodules. In multinodular thyroids, the US characteristics allow the radiologist to select suspicious nodules, facilitating the diagnosis of cancer (9, 10). In our study, the number of insufficient / not diagnostic cases reached only 8% and indeterminate cytology was around 11%. These low percentages emphasize the US role in reducing the percentage of insufficient material or inappropriate diagnosis. These good results are due, in large part, to the guided choice of the nodule region to be aspirated, especially in the case of mixed nodules. The difficulties we encountered to obtain satisfactory samples are inherent to the procedure and are consistent with the literature. Very fibrous nodules, cysts or necrotic lesions generally provide a very small number of viable cells for diagnosis (2, 11).

One of the restrictions of cytological diagnosis obtained by fine needle aspiration (FNA) is the limited material available for adjunctive diagnostic investigations. The cell block technique allows recovery of small tissue fragments in a fluid sample which is processed to form a paraffin block. It has been widely accepted that this method of analysis increases the cell yield and improves diagnostic accuracy (15, 16).

Of the 100 patients analyzed, 89 were female and 11 male. The data are consistent with the literature, because thyroid nodules are more commonly found in women. The average age in the sample was 54.1 years, which agrees with data found in other reports which noted that nodules are more common after 40 years. Some studies have reported associations between age and sex with the risk of malignancy. However, the results are still controversial and require further investigations (1, 5, 8, 14).

When we correlate the diagnostic groups with the mean TSH in order to analyze this hormone as a possible predictor of malignant nodules, there were no statistically significant differences for these outcomes ($p > 0.05$). The mean TSH was quite variable, but still it can be seen that the "benign" group had the lowest mean TSH,

1.59 ± 0.86 uUI / mL while the "malignant " and "follicular lesion" groups presented TSH means of 2.48 ± 1.67 uUI / mL and 2.20 ± 0.09 UI / mL, respectively. Our study was unable to demonstrate that TSH levels were higher in patients with carcinoma, and therefore cannot be considered a predictive factor in these cases. A major limiting factor in our study was the small sample size and possibly with the progressive increase in the number of cases we can demonstrate a trend or even a significant result in the future.

The prevalence of carcinomas detected by FNA is approximately 4%, while unsatisfactory rates vary between 5-30%. Our sample showed 3% of malignant cases and 5% of suspicious for malignanc. These results agree with literature reports (11, 12). The validated sensitivity (83%) and specificity(100%) of the diagnostic method was considered adequate.

In conclusion, despite the relatively small number of patients, the results found in our study showed that US-guided FNA is a powerful diagnostic tool for the diagnosis of thyroid nodules and can effectively reduce unnecessary surgeries, lower institution costs and patient morbidity. Although a variation in TSH levels was detected between the study groups, there was no statistically significant difference among them. A larger study sample is necessary to identify TSH as independent predictor of malignancy. We also believe that the identification of molecular changes can help to predict malignancy or risk of malignancy in thyroid nodules and may be used in conjunction with other techniques to improve pre-surgical diagnosis.

References

1. Graf H. Thyroid nodular disease. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 2004;48(1):93-104.
2. Cibas ES, Ali SZ; The Bethesda System For Reporting Thyroid Cytopathology. NCI Thyroid FNA State of the Science Conference. *Am J Clin Pathol*, 2009; 132(5):658-65.
3. Boelaert K, Horacek J, Holder RL, Watkinson JC, Sheppard MC, Franklyn JA. Serum thyrotropin concentration as a novel predictor of malignancy in thyroid nodules investigated by fine-needle aspiration. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006; 91(11):4295-301.

4. Polyzos SA, Kita M, Efstathiadou Z, Poulakos P, Slavakis A, Sofianou D *et al*. Serum thyrotropin concentration as a biochemical predictor of thyroid malignancy in patients presenting with thyroid nodules. *Cancer Res Clin Oncol*, 2008; 134(9):953-60.
5. Haymart MR, Glinberg SL, Liu J, Sippel RS, Jaume JC, Chen H. Higher serum TSH in thyroid cancer patients occurs independent of age and correlates with extrathyroidal extension. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2009; 71(3):434-9.
6. Boelaert K. The association between serum TSH concentration and thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer*, 2009; 16(4):1065-72.
7. Haymart MR, Repplinger DJ, Levenson GE, Elson DF, Sippel RS *et al*. Higher serum thyroid stimulating hormone level in thyroid nodule patients is associated with greater risks of differentiated thyroid cancer and advanced tumor stage. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008; 93(3):809-14.
8. Fiore E, Rago T, Provenzale MA, Scutari M, Ugolini C, Basolo F, *et al*. Lower levels of TSH are associated with a lower risk of papillary thyroid cancer in patients with thyroid nodular disease: thyroid autonomy may play a protective role. *Endocr Relat Cancer*, 2009;16(4):1251-60.
9. Rosário PW, Tavares Júnior WC, Biscolla RP, Purisch S, Maciel RM. Usefulness of neck ultrasonography in the follow-up of patients with differentiated thyroid câncer. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 2007; 51(4):593-600.
10. Sheth S. Role of ultrasonography in thyroid disease. *Otolaryngol Clin North Am*, 2010;43(2):239-55.
11. Sakorafas GH. Thyroid nodules; interpretation and importance of fine-needle aspiration (FNA) for the clinician - practical considerations. *Surg Oncol*, 2010;19(4):130-9.
12. Lupoli GA, Fonderico F, Colarusso S, Panico A, Cavallo A, Di Micco L *et al*. Current management of differentiated thyroid carcinoma. *Med Sci Monit*, 2005;11(12):368-73
13. Kim HK, Yoon JH, Kim SJ, Cho JS, Kweon SS, Kang HC. Higher TSH level is a risk factor for differentiated thyroid cancer. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2013;78(3):472-7.
14. Rio AL, Biscolla RP, Andreoni DM, Camacho CP, Nakabashi CC, Mamone Mda C *et al*. Evaluation of clinical, laboratorial and ultrasonographic predicting factors of malignancy in thyroid nodules. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 2011;55(1):29-37.
15. Miller RT, Kubier P. Immunohistochemistry on cytologic specimens and previously stained slides (When no paraffin block is available). *J Histotechnol*, 2002;25:251-7.

16. Varsegi GM, Shidham V. Cell block preparation from cytology specimen with predominance of individually scattered cells. *J Vis Exp*, 2009;29:1316.

7. Considerações Finais

O objetivo principal do presente estudo foi avaliar de forma prospectiva e consecutiva se o hormônio tireoestimulante (TSH) sérico poderia ser um preditor independente de malignidade em nódulos de tireoide em pacientes submetidos à punção aspirativa por agulha fina. A amostra foi composta por 100 indivíduos, sendo 89 mulheres e 11 homens. É importante ressaltar que a maioria destes estudos em nosso meio são retrospectivos e contemplam amostras muito maiores.

Diversos estudos publicados anteriormente sugerem que valores elevados do TSH, mesmo dentro dos limites da normalidade, estão associados a um maior risco de neoplasia maligna da tireoide. Desta forma, este hormônio pode servir como fator preditivo de malignidade em nódulos tireoidianos.

A correlação entre as concentrações séricas de TSH com o diagnóstico citopatológico através da PAAF em conjunto com os resultados histológicos do bloco celular não demonstrou valores significantes estatisticamente ($p > 0,05$) apesar de haver uma variação entre os níveis de TSH entre os grupos refletindo, provavelmente, o pequeno tamanho da amostra. No entanto, os achados deste estudo concordam com a literatura e reforçam as observações de outros autores.

Por fim, avaliamos a eficiência da PAAF, tendo em vista este ser o método de primeira escolha para diferenciar lesões benignas de lesões malignas na glândula tireoide. Em nosso centro ambulatorial, constatamos que este método foi bastante eficaz, apresentando sensibilidade e especificidade adequadas de, respectivamente, 100% e 83%.

Nossas perspectivas com este estudo são prosseguir de forma a contemplar uma amostragem maior para a avaliação do TSH como fator preditor de malignidade. Além disso, há a necessidade de investigações moleculares que abordem possíveis alterações genéticas que possam estar associadas à malignidade nodular tireoidiana.

8. Anexos

Table 1: Results of FNA, Cell Block and Final Diagnosis of 100 patients.

Technique	FNA	Cell Block	Final Diagnosis (FNA + Cell Block)
Insufficient	23	9	8
Benign	57	59	70
Indeterminate	10	9	11
Follicular Lesion	2		3
Suspicious	5		
Malignant	3	3	8
Total	100	80	100

Table 2: Means of TSH (uUI/mL).

Final Diagnosis	Mean	Std. Deviation	N
Malignant	2,48	1,67	8
Benign	1,59	,86	70
Indeterminate	2,21	1,19	11
Insufficient	2,35	1,61	8
Follicular Lesion	2,20	,09	3
Total	1,81	1,08	100

Table 3: Means of TSH (uUI/mL).

FNA	Mean	Std. Deviation	N
Bethesda I	1,91	1,08	23
Bethesda II	1,59	,93	57
Bethesda III	2,19	1,18	10
Bethesda IV	2,18	,12	2
Bethesda V	2,22	1,53	5
Bethesda VI	2,91	2,15	3
Total	1,81	1,08	100

Table 4: Means of TSH (uUI/mL) and Diagnostics Groups

FNA	Mean	Std. Deviation	N
Bethesda I	1,91	1,08	23
Bethesda II	1,59	,93	57
Bethesda III	2,19	1,18	10
Bethesda IV/V/VI	2,42	1,48	10
Total	1,81	1,08	100
Final Diagnosis			
Malignant/ Follicular Lesion	2,40	1,40	11
Benign	1,59	,86	70
Indeterminate	2,21	1,19	11
Insufficient	2,35	1,61	8
Total	1,81	1,08	100

Figure 1. Distribution of diagnostic FNA groups among serum TSH.

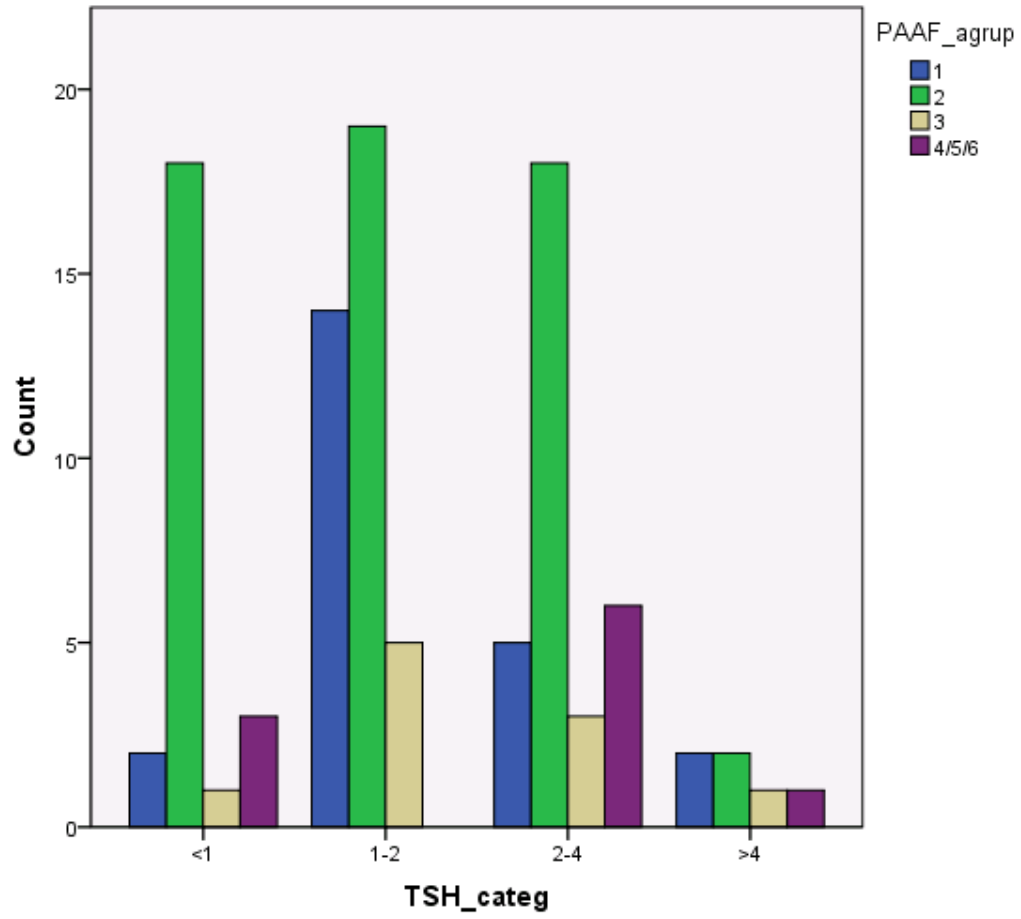


Figure 2. Distribution of Final Diagnosis category among serum TSH.

