Fernando Moreno Sebastianes

**Alterações da PET-FDG na avaliação pré-operatória de pacientes
com nódulos tireoidianos e correlação com marcadores imuno-
histoquímicos**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências

Programa de: Endocrinologia

Orientadora: Dra. Maria Adelaide Albergaria Pereira

São Paulo

2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Sebastianes, Fernando Moreno

Alterações da PET-FDG na avaliação pré-operatória de pacientes com nódulos
tireoidianos e correlação com marcadores imuno-histoquímicos / Fernando Moreno
Sebastianes. -- São Paulo, 2011.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Endocrinologia.

Orientadora: Maria Adelaide Albergaria Pereira.

Descritores: 1.Nódulo da glândula tireóide 2.Neoplasias da glândula tireóide
3.Glândula tireóide/citologia 4.Tomografia por emissão de pósitrons 5.Compostos
radiofarmacêuticos/metabolismo 6.Imunoistoquímica 7.Tireoidite 8.Doença de
Hashimoto

USP/FM/DBD-099/11

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho especialmente a seis pessoas:

A *Fernanda Luiza de Souza Sebastianes*, minha esposa, cujo amor me contagia todos os dias.

A *Davi de Souza Sebastianes*, meu filho querido, que me trouxe mais garra para enfrentar os desafios.

Aos meus queridos e dedicados pais, *Vânia Bragaia Moreno* e *Juan Antonio Moreno Sebastianes*, pela vida, por seus ensinamentos e por serem minha inspiração.

Aos meus irmãos, *Patrícia Moreno Sebastianes* e *Ricardo Moreno Sebastianes*, irmanados também na profissão, pelo apoio recebido.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha existência e por abençoar o meu caminho e das pessoas que amo, agradeço por tudo o que conquistei.

Aos pacientes, que, durante toda a minha vida médica, permitiram-me ajudá-los e acumular novos conhecimentos.

À minha orientadora Dra. Maria Adelaide Albergaria Pereira, por seu invejável ritmo de trabalho e dedicação à docência e à pesquisa, por aplicar com maestria o imenso conhecimento que possui no diagnóstico e tratamento dos pacientes, agradeço a honra de tê-la como orientadora e amiga.

Ao Dr. Juliano Júlio Cerci, por compartilhar seus valiosos conhecimentos em medicina nuclear e pelo imenso apoio fornecido ao andamento da pesquisa.

Ao Dr. Cláudio Meneghetti e Dr. José Soares Junior, por terem acreditado no projeto e pela colaboração na condução do estudo.

À amiga Patrícia Helena Zanoni, médica endocrinologista, por todo o importante auxílio prestado no recrutamento dos pacientes.

À Dra. Rosalinda Yossie Asato de Camargo e ao Dr. Eduardo Tomimori, pelos conhecimentos compartilhados em ultrassonografia e citologia.

Aos médicos da disciplina de Patologia, Dr. Venâncio Alves, Dr. Iberê Soares, Dr. Leandro Liporoni, Dra. Vanessa Baudichon Domingues e Dr. René Gerhard, e à funcionária Alda, pela colaboração no estudo.

A Sonia Maria de Stefano Piedade, Dr José Eluf Neto e Dr Alexander Augusto de Lima Jorge pelo conhecimento compartilhado em análise estatística.

A Suzanne Rogers, professora da Universidade de Melbourne, Austrália, que

gentilmente cedeu o anticorpo contra GLUT 12 utilizado no estudo.

A todos os amigos da Divisão de Medicina Nuclear do InCor-FMUSP.

A todos os médicos e funcionários da Disciplina de Endocrinologia, em especial aqueles da Unidade de Tiróide, pelo apoio à pesquisa.

A todos os médicos da Disciplina de Cirurgia de Cabeça e Pescoço, em especial ao Dr.

Alberto Ferraz e à Dra Marília D'Elboux Guimarães Brescia, pelo apoio à pesquisa.

À Fundação Faculdade de Medicina, por ter financiado a compra do material para a realização da imuno-histoquímica.

NORMATIZAÇÃO ADOTADA

Essa dissertação está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento da publicação:

Referências: adaptado do International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. Guia de Apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Júlia de A. L. Freddi, Maria Fazanelli Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2ª Ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas, símbolos e siglas

Lista de tabelas

Lista de figuras

Lista de Anexos

Resumo

Summary

1. INTRODUÇÃO.....	01
1.1 Avaliação pré-operatória de nódulos de tireóide.....	01
1.2 Tomografia por emissão de pósitrons com FDG e neoplasias.....	02
1.3 Tomografia por emissão de pósitrons e neoplasias de tireóide.....	05
1.4 Tomografia por emissão de pósitrons e tireoidite autoimune crônica.....	06
1.5 Marcadores imuno-histoquímicos relacionados à captação de FDG na Tomografia por Emissão de Pósitrons.....	07
2 JUSTIFICATIVA.....	09
2.1 Avaliação pré-operatória de nódulos de tireóide com PET-FDG.....	09
2.2 Correlação de achados histológicos de tireoidite autoimune crônica (TAC) com a presença de captação difusa à PET-FDG.....	10
2.3 Correlação de marcadores imuno-histoquímicos com o diagnóstico etiológico do nódulo e com a captação de FDG pelo nódulo.....	10
3 OBJETIVOS.....	11

4 MÉTODOS.....	12
4.1 Local da Pesquisa.....	12
4.2 Casuística.....	13
4.2.1 Exames Laboratoriais.....	13
4.2.2 Ultrassonografia.....	14
4.2.3 Diagnóstico citológico.....	16
4.2.4 Diagnóstico Histológico.....	17
4.2.5 Imuno-histoquímica do tecido tireoidiano normal e patológico.....	21
4.2.6 Imagem da PET-FDG.....	25
4.2.7 Pacientes e Critérios de Exclusão.....	27
4.3 Análises Estatísticas.....	28
5 RESULTADOS.....	30
5.1 Captação focal de FDG no leito tireoidiano e carcinoma de tireóide.....	31
5.1.1 Características ultrassonográficas dos nódulos.....	35
5.1.2 Subgrupo de pacientes com nódulos tireoidianos com citologia indeterminada...	37
5.2 Infiltração linfocitária, tireoidite autoimune crônica, autoanticorpos tireoidianos e alterações à PET-FDG.....	39
5.3 Marcadores imuno-histoquímicos.....	45
5.3.1 GLUT 1.....	45
5.3.2 GLUT 3.....	46
5.3.3 GLUT 12.....	47
5.3.4 Hexoquinase 2.....	50
5.3.5 Hexoquinase 3.....	52

6. DISCUSSÃO.....	55
6.1 PET-FDG na avaliação de nódulos de tireóide.....	55
6.1.1 Sensibilidade da PET-FDG para o diagnóstico de carcinoma de tireóide.....	55
6.1.2 Especificidade na avaliação de nódulos de tireóide com citologia indeterminada.....	61
6.1.3 PET-FDG na avaliação de nódulos de tireóide em pacientes com tireoidite autoimune crônica.....	62
6.1.4 Outros fatores pesquisados quanto à associação com malignidade na população estudada.....	64
6.1.5 Marcadores imuno-histoquímicos possivelmente relacionados à captação de FDG.....	67
6.1.5.1 GLUT 1.....	67
6.1.5.2 GLUT 3.....	69
6.1.5.3 Hexoquinases.....	70
6.1.5.2 GLUT 12.....	72
6.1.6 Perspectivas e limitações da PET-FDG na avaliação de nódulos de tireóide.....	74
6.1.6.1 Seleção de pacientes.....	74
6.1.6.2 Relação custo-benefício da PET-FDG.....	75
6.1.6.3 Presença de captação anômala incidental em outros sítios.....	75
6.1.7 Perspectivas e limitações dos marcadores moleculares relacionados à captação de glicose na avaliação de nódulos de tireóide.....	77
6.2 Captação difusa no leito tireoidiano à PET-FDG.....	78
7. CONCLUSÕES.....	86

8. PRODUÇÃO CIENTÍFICA.....	87
8.1. Publicações científicas.....	87
9 ANEXOS.....	88
10. REFERÊNCIAS.....	95

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS:

ATPO	anticorpo antitreoperoxidase
ATG	anticorpo antitreoglobulina
cm	centímetro(s)
Dr.	doutor
Dra.	doutora
et al.	e outros
FDG	2-(18F)-fluoro-2-desóxi-D-glicose
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
GLUT	Transportadores de Glicose Transmembrana
HC	Hospital das Clínicas
HP	histopatológico
IL	infiltrado linfocitário
LIM	Laboratório de Investigação Médica
NB	nódulo benigno
NM	nódulo maligno
PAAF	punção aspirativa por agulha fina
PET	tomografia por emissão de pósitrons
PET-FDG	tomografia por emissão de pósitrons com 2-(18F)-fluoro-2-desóxi-D-glicose
PET-TC	tomografia por emissão de pósitrons acoplada à tomografia computadorizada

RT-PCR	transcrição reversa-reação de cadeia de polimerase
SUV	Valor Padrão de Captação (“Standard Uptake Value”)
SUVmax	Valor Padrão de Captação máximo
T4	tiroxina
TAC	tireoidite autoimune crônica
TSH	hormônio tireoestimulante
USG	ultrassonografia
WHO	<i>World Health Organization</i>

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Anticorpos primários utilizados na imuno-histoquímica.....	24
Tabela 2: Característica dos nódulos puncionados à ultrassonografia quanto à presença de componente líquido (sólido-cístico ou sólido) e à ecogenicidade (hipoecogênico, isoecogênico ou hiperecogênico) em relação ao exame histopatológico final dos 56 pacientes incluídos no estudo.....	36
Tabela 3: Número de pacientes com tireoidite autoimune crônica e com diferentes graus de infiltrado linfocitário que apresentaram captação difusa no leito tireoidiano à PET-FDG e concentrações aumentadas de anticorpos antitireoidianos.....	41
Tabela 4: Número de pacientes com concentrações elevadas de anticorpos antitireoidianos (ATPO e/ou ATG) e presença de captação difusa de FDG no leito tireoidiano, isoladamente ou em combinação, dispostos em relação à presença de TAC.....	42
Tabela 5: Resumo dos principais estudos sobre uso da PET-Scan com FDG na avaliação pré-operatória de pacientes com nódulos tireoidianos com padrão citológico indeterminado.....	56

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Via seguida pela FDG até ser retida no espaço intracelular.....	03
Figura 2: Exemplo de corte histológico (aumento de 40 vezes) de paciente com parênquima tireoidiano sem focos de infiltrado linfocitário (paciente número 35 do anexo 3).....	19
Figura 3: Exemplo de corte histológico (aumento de 40 vezes) revelando quadro de tireoidite autoimune crônica (paciente número 52 do Anexo 4). Múltiplos focos de infiltração linfocitária, alguns deles formando folículos linfóides, e focos de destruição do parênquima e metaplasia oxifílica.....	20
Figura 4: Exemplo de corte histológico (aumento de 100 vezes) revelando folículo linfóide em paciente com quadro de tireoidite autoimune crônica (paciente número 56 do Anexo 5).....	20
Figura 5: Resultados de PET-FDG em pacientes com nódulos tireoidianos com citologia indeterminada.....	32
Figura 6: Imagens de PET-FDG exemplificando paciente com captação difusa intensa de FDG no leito tireoidiano (paciente número 56 do Anexo 5). Cortes sagitais da região posterior até a região cervical anterior.....	43
Figura 7: Corte histológico da mesma paciente (paciente número 56 do Anexo 4) revelando alterações compatíveis com tireoidite autoimune crônica.....	44
Figura 8: Corte histológico em aumento de 100 vezes com imuno-histoquímica para GLUT 1 do nódulo tireoidiano (adenoma folicular) do paciente número 31 do Anexo 2, não evidenciando imunoexpressão dessa enzima. É possível notar imunoexpressão de GLUT 1 pelas hemácias, que adquirem a cor amarronzada.....	46

Figura 9: Corte histológico em aumento de 100 vezes com imuno-histoquímica para GLUT 3 do nódulo tireoidiano (carcinoma folicular) da paciente número 33 do Anexo 3, não evidenciando imunoexpressão de GLUT 3.....	47
Figura 10: Corte histológico em aumento de 400 vezes com imuno-histoquímica para GLUT 12 do nódulo tireoidiano (carcinoma folicular) do paciente número 33 do Anexo 3, revelando uma imunoexpressão de intensidade fraca em todas as células epiteliais.....	49
Figura 11: Corte histológico em aumento de 400 vezes com imuno-histoquímica de GLUT 12 do nódulo tireoidiano (adenoma folicular) do paciente número 31 do Anexo 2, revelando uma imunoexpressão de intensidade forte em todas as células epiteliais.....	49
Figura 12: Corte histológico em aumento de 100 vezes com imuno-histoquímica para hexoquinase 2 do nódulo tireoidiano (adenoma folicular) do paciente número 31 do Anexo 2, não evidenciando imunoexpressão dessa enzima.....	51
Figura 13: Corte histológico em aumento de 100 vezes com imuno-histoquímica de hexoquinase 3 do nódulo tireoidiano (carcinoma folicular) da paciente número 33 do Anexo 3, revelando uma imunoexpressão em todas as células epiteliais de intensidade fraca.....	53
Figura 14: Corte histológico em aumento de 100 vezes com imuno-histoquímica de hexoquinase 3 do nódulo tireoidiano (adenoma folicular) do paciente número 31 do Anexo 2, revelando uma imunoexpressão em todas as células epiteliais de intensidade forte.....	53

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Características dos pacientes excluídos do estudo.....	89
Anexo 2: Pacientes com resultado citológico indeterminado e nódulos benignos ao exame histopatológico: características clínicas e laboratoriais e respectivos resultados de exame ultrassonográfico, histopatológico e de PET-FDG.....	90
Anexo 3: Pacientes com resultado citológico indeterminado e nódulos malignos ao exame histopatológico: características clínicas e laboratoriais e respectivos resultados de exame ultrassonográfico, histopatológico e de PET-FDG.....	92
Anexo 4: Pacientes com resultado citológico compatível com diagnóstico de carcinoma papilífero: características clínicas e laboratoriais e respectivos resultados de exame ultrassonográfico, histopatológico e de PET-FDG.....	93
Anexo 5: Pacientes com resultado citológico benigno (pacientes 53, 54 e 55 com citologia diagnóstica de nódulo adenomatoso e paciente 46 com citologia diagnóstica de tireoidite de Hashimoto): características clínicas e laboratoriais e respectivos resultados de exame ultrassonográfico, histopatológico e de PET-FDG.....	94

RESUMO

Sebastianes FM. *Alterações da PET-FDG na avaliação pré-operatória de pacientes com nódulos tireoidianos e correlação com marcadores imuno-histoquímicos* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2011. 106p.

INTRODUÇÃO: Cerca de 80% dos nódulos de tireóide com citologia indeterminada são benignos. É possível que a tomografia por emissão de pósitrons (PET) com 2-[18F]-fluoro-2-desoxi-D-glicose (FDG) ajude a identificar quais dessas lesões são malignas. A captação de FDG depende da expressão de GLUTs (transportadores de glicose transmembrana) e hexoquinases. Captação difusa de FDG no leito tireoidiano tem ainda sido associada à tireoidite autoimune crônica (TAC), embora haja evidências de que pacientes com parênquima tireoidiano aparentemente sadio possam ter essa alteração. **OBJETIVOS:** (1) Determinar a sensibilidade e especificidade da PET-FDG no diagnóstico pré-operatório de malignidade dos nódulos tireoidianos, especialmente daqueles com resultados citológicos indeterminados, e avaliar esse desempenho no subgrupo de pacientes com TAC. (2) Determinar a correlação entre o achado de captação difusa tireoidiana da FDG à PET com o diagnóstico histopatológico de TAC e compará-la às concentrações plasmáticas dos anticorpos antitireoidianos. (3) Determinar a correlação entre a expressão dos marcadores imuno-histoquímicos GLUT 1, GLUT 3, GLUT 12, hexoquinase 2 e hexoquinase 3 com o diagnóstico histopatológico dos nódulos e com a captação de FDG apresentada pelos mesmos. **MÉTODOS:** 56 pacientes com nódulo de tireóide (42 com citologia indeterminada, 10 compatíveis com carcinoma papilífero e 4 com citologia benigna) realizaram PET-FDG e foram submetidos à tireoidectomia. Os resultados da PET-FDG foram comparados com o diagnóstico histopatológico do nódulo, com o infiltrado linfocitário no parênquima tireoidiano, com o diagnóstico de TAC e com os resultados do estudo imuno-histoquímico de micromatriz tecidual de tecido correspondente ao nódulo tireoidiano puncionado e ao tecido tireoidiano não nodular. **RESULTADOS:** 1) Todos os 21 pacientes com câncer de tireóide (11 com citologia indeterminada) apresentaram captação focal de FDG na tireóide. 2) Captação focal de FDG correlacionou-se com maior risco de malignidade ($p<0,001$). 3) Dos 31 pacientes com nódulos benignos com citologia indeterminada, 12 não tinham captação focal de FDG (especificidade de 39%). 4) Captação difusa no leito tireoidiano à PET-FDG foi associada à presença de TAC no exame histopatológico ($p=0,019$). Porém, 5 pacientes, sem sinais de infiltrado linfocitário, apresentaram captação difusa à PET-FDG. 5) Imunoexpressão dos anticorpos contra GLUTs 1, 3 e 12 e hexoquinases 2 e 3 nas células epiteliais dos nódulos não esteve positivamente associada com captação de FDG e com malignidade. 6) Não houve associação entre captação difusa de FDG no leito tireoidiano e imunoexpressão desses marcadores no parênquima tireoidiano não nodular. **CONCLUSÕES:** 1) A PET-FDG tem alta sensibilidade para diagnóstico de lesões malignas de tireóide, com especificidade de 39% para nódulos com citologia indeterminada. 2) Captação difusa de FDG no leito tireoidiano está associada à presença de TAC, mas pode ocorrer em pacientes sem infiltrado linfocitário. 3) A imuno-histoquímica para os anticorpos contra GLUTs 1, 3 e 12 e hexoquinases 2 e 3 não contribui para a diferenciação de nódulos malignos dos benignos e não se associa com a captação de FDG pelos nódulos.

Descritores: 1.Nódulo da glândula tireóide 2.Neoplasias da glândula tireóide 3.Glândula tireóide/citologia 4.Tomografia por emissão de pósitrons 5.Compostos radiofarmacêuticos/metabolismo 6.Imunoistoquímica 7.Tireoidite 8.Doença de Hashimoto

SUMMARY

Sebastianes FM. *FDG PET abnormalities in preoperative evaluation of patients with thyroid nodules and association with immunohistochemical biomarkers*. [thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2011. 106p.

INTRODUCTION: Around 80% of thyroid nodules with indeterminate cytological result are benign. Positron emission tomography (PET) with 2-[18F]-fluoro-2-deoxy-D-glucose (FDG) might help to identify malignant thyroid lesions. FDG uptake depends on GLUTs expression (transmembranous glucose transporters) and on hexokinases. Although diffuse FDG thyroid uptake has been associated with chronic autoimmune thyroiditis (CAT), there is some evidence that patients with apparently normal thyroid parenchyma can display this pattern of FDG uptake. **OBJECTIVES:** (1) To assess the sensitivity and specificity of FDG PET in identifying thyroid malignancy in the preoperative evaluation of thyroid nodules and evaluate these results in the subgroup of patients with indeterminate cytological results and in the subgroup with CAT. (2) To compare the finding of diffuse FDG thyroid uptake with the histopathologic diagnosis of CAT and with the serum levels of antithyroid antibodies. (3) To evaluate the immunoexpression by thyroid nodules of GLUT 1, GLUT 3, GLUT 12, hexokinase 2 and hexokinase 3 and to compare it with the histopathologic diagnosis of these nodules and with FDG uptake. **METHODS:** 56 patients with thyroid nodules (42 with indeterminate cytological result, 10 with papillary carcinoma and 4 with benign cytological result) underwent FDG PET and, subsequently, thyroidectomy. FDG PET results were compared with the histopathologic diagnosis of the nodule, lymphocytic infiltrate of thyroid parenchyma, CAT diagnosis and immunohistochemical results of tissue microarray of the tissue from the thyroid nodule and the normal thyroid parenchyma. **RESULTS:** 1) All the 21 patients with thyroid cancer (11 with indeterminate cytological result) had focal thyroid FDG uptake. 2) Focal FDG uptake was associated with malignancy ($p < 0.001$). 3) From 31 patients with benign nodules whose cytological result was indeterminate, 12 did not display focal FDG uptake (specificity of 39%). 4) Diffuse FDG uptake in thyroid bed was associated with CAT in the histopathologic exam ($p = 0.019$). However, 5 patients without lymphocytic infiltrate had diffuse FDG uptake. 5) Immunoexpression of GLUTs 1, 3 and 12 and hexokinases 2 and 3 by epithelial cells of thyroid nodules was not positively associated with FDG uptake and malignancy. 6) There was no association between diffuse FDG uptake in thyroid bed and immunoexpression of these markers in the normal thyroid tissue. **CONCLUSIONS:** 1) FDG PET has high sensitivity to the diagnosis of malignancy in thyroid bed, with a specificity of 39% for thyroid nodules with indeterminate cytological result. 2) Diffuse FDG uptake in the thyroid bed is associated with CAT, but can be found in patients without lymphocytic infiltrate. 3) Immunohistochemistry against GLUTs 1, 3 and 12 and hexokinases 2 and 3 does not add in the differentiation of malignant and benign thyroid nodules and is not associated with FDG uptake by these nodules.

Keywords: 1.Thyroid nodule 2.Thyroid neoplasms 3.Thyroid gland/ cytology 4.Positron-emission tomography 5.Radiopharmaceuticals/metabolism 6.Immunohistochemistry 7.Thyroiditis 8.Hashimoto Disease

1. INTRODUÇÃO

1.1 Avaliação pré-operatória de nódulos de tireóide

Nódulos de tireóide são bastante prevalentes na população em geral.¹ Nos Estados Unidos, 4 a 7% da população adulta apresenta nódulo de tireóide palpável. Entretanto, somente 1 em cada 20 nódulos identificados clinicamente é maligno. Nódulos são mais comuns em mulheres e sua frequência aumenta com a idade. A prevalência de nódulos de tireóide na população geral se torna maior com a inclusão de nódulos identificados exclusivamente por ultrassonografia.

A citologia de material obtido por punção aspirativa com agulha fina (PAAF) tem importante papel na avaliação de pacientes com nódulos de tireóide, especialmente naqueles com níveis de TSH não suprimidos. É indicada, em geral, em pacientes com nódulos de tireóide maiores que 1 cm com componente sólido ou com nódulos que apresentam características suspeitas à ultrassonografia.^{2, 3, 4}

Atualmente, os resultados citológicos têm sido classificados, de acordo com a classificação de Bethesda⁵, em benigno, atipia de significado indeterminado, neoplasia folicular, suspeito para malignidade, maligno e não diagnóstico. Por ocasião da realização do presente trabalho, os resultados citológicos da PAAF eram classificados em: benigno, indeterminado para neoplasia folicular, suspeito para neoplasia maligna, maligno e insuficiente para o diagnóstico.⁶

Resultados citológicos indeterminados ocorrem em cerca de 15 a 20% dos pacientes e resultados repetidamente insuficientes em até 10% dos pacientes.¹ O risco de malignidade dessas lesões, embora varie entre os estudos, encontra-se ao

redor de 20%.¹ Frente a essa incerteza de malignidade, alguns autores recomendam a realização de cintilografia de tireóide.^{2, 3, 4} Na grande maioria dos casos, entretanto, um nódulo quente não é observado, recomendando-se então a cirurgia para que seja possível o exame histológico da lesão.^{2, 3, 4} Como a maioria dos pacientes com nódulo benigno que se apresenta com citologia indeterminada é submetida à tireoidectomia parcial ou total, métodos que permitam reduzir o número de cirurgias nesses pacientes têm sido constantemente pesquisados.

1.2 Tomografia por Emissão de Pósitrons com FDG e neoplasias

Nos últimos anos, a tomografia por emissão de pósitrons (PET) revolucionou o diagnóstico, estadiamento e seguimento de pacientes com diversos tipos de câncer.⁷ No fim da década de 80 e, principalmente, no início da década de 90, surgiram os primeiros trabalhos que evidenciaram a superioridade da PET utilizando 2-[18F]-fluoro-2-desoxi-D-glicose (FDG) na avaliação de pacientes com neoplasias de alta taxa metabólica em relação aos outros métodos de imagem. Dessa forma, esse exame passou a ser recomendado para uma gama cada vez maior de pacientes com neoplasias. Nos Estados Unidos da América, a PET-FDG é reembolsada pelo Medicare quando indicada na avaliação de nódulo pulmonar solitário, no estadiamento e reestadiamento de pacientes com neoplasia de cabeça e pescoço, pulmão (não pequenas células), esôfago, cólon, mama e linfoma.⁸

O radiofármaco mais utilizado na PET é a FDG - um análogo da glicose - marcada com um isótopo emissor de pósitrons (¹⁸F). A FDG compete com a glicose normal (figura 1) para ser incorporada à célula por um mecanismo de transporte

facilitado.⁸ Da mesma forma que a glicose, no meio intracelular, a FDG sofre fosforilação pela hexoquinase, formando FDG-6-fosfato. Entretanto, diferentemente da glicose 6-fosfato, a FDG-6-fosfato não é mais metabolizada, ficando retida nas células. Uma das características bioquímicas que frequentemente é encontrada em células malignas é a alta taxa de metabolismo glicolítico devido ao aumento de proteínas transportadoras de glicose de superfície (GLUTs) e do nível intracelular da enzima hexoquinase. A grande maioria das neoplasias malignas metaboliza a glicose em uma taxa anormalmente alta e, assim, a PET-FDG tem condições de demonstrar o grau de metabolismo glicolítico “in vivo” das regiões estudadas, evidenciando suas diferenças.⁸

Modificado de Kapoor V, 2004.

Figura 1: Via seguida pela FDG até ser retida no espaço intracelular

Uma vantagem da PET sobre os outros métodos anatômicos de imagem reside no fato de os critérios da PET-FDG para malignidade não serem baseados em

alterações morfológico-anatômicas, mas sim na atividade metabólica tecidual. As alterações metabólicas celulares precedem as alterações anatômicas, tendo o potencial de serem detectadas mais precocemente.⁸

A avaliação da captação do radiotraçador FDG por tecidos normais ou patológicos é realizada habitualmente de duas formas⁸: através de inspeção visual por um examinador que procura identificar eventual captação anômala (avaliação qualitativa), ou através da mensuração do valor padrão de captação (SUV ou “Standard Uptake Value”). Esta é uma medida semi-quantitativa da captação do radiotraçador de uma imagem estática (ponto único no tempo) da imagem da PET. O SUV de um tecido é calculado pela seguinte equação: atividade traçadora do tecido dividido pela razão entre dose radiotraçadora injetada pelo peso do paciente; a atividade traçadora do tecido é medida em microcuries por grama, a dose traçadora injetada em microcuries e o peso do paciente em quilogramas. O SUV de um tecido pode ser calculado como mínimo, médio ou máximo. O SUV médio é a média matemática de todos os pixels na região de interesse, enquanto o SUV mínimo e o SUV máximo são valores do pixel com o menor e o maior SUV, respectivamente.⁸ As medidas do SUV mínimo e médio sofrem maior variação intra-examinadores e inter-examinadores secundariamente a variações na seleção da região de interesse a ser avaliada. Dessa forma, a medida de SUV mais utilizada nos estudos clínicos é de SUV máximo (SUVmax).

1.3 Tomografia por emissão de pósitrons e neoplasias de tireóide

O tecido tireoidiano normal geralmente não acumula FDG ou o acumula em grau discreto⁹ e, por isso, a tireóide normal frequentemente não é visualizada nos estudos com este marcador. Essa observação corrobora com a hipótese de que ácidos graxos livres, e não a glicose, sejam os substratos preferidos pela glândula tireóide, conforme sugerido por estudos em modelos animais e em culturas de células.¹⁰

Em Agosto de 2005, quando se iniciou o presente estudo, o número de pacientes com nódulos de tireóide avaliados com PET-FDG em outros estudos¹¹⁻¹⁷ era pequeno e a maioria deles¹²⁻¹⁷ não havia sido desenhada para avaliar a aplicabilidade desse exame em nódulos com resultados citológicos indeterminados. Esses resultados, porém, sugeriam que a PET-FDG teria um alto valor preditivo negativo na detecção de carcinomas de tireóide. Dos 58 nódulos malignos avaliados por esses estudos, somente um não foi detectado na PET-FDG e esse resultado ocorreu em um estudo¹⁷ que não empregou um aparelho de PET de alta resolução.

Kresnik e cols.¹¹ haviam publicado a maior série de casos até aquele momento, com 43 pacientes, dos quais 35 apresentavam resultados citológicos indeterminados ou insuficientes. A sensibilidade relatada foi de 100% nos 16 pacientes com carcinomas de tireóide e a especificidade de 63%. Entretanto, os pacientes eram provenientes de uma área deficiente em iodo e, consequentemente, seus resultados não poderiam ser generalizados a outras populações, como a brasileira. No Brasil, a população apresentou, durante a última década, um nível médio de ingestão de iodo considerado suficiente ou até mesmo excessivo.¹⁸

1.4 Tomografia por emissão de pósitrons e tireoidite autoimune crônica

A tireoidite crônica autoimune (tireoidite de Hashimoto) é uma doença tireoidiana bastante comum. Entretanto, a sua prevalência difere entre os estudos em função dos diferentes critérios adotados para o diagnóstico. Tireoidite intensa ao exame histopatológico (mais de 40 focos de agregados linfocitários por cm^2)¹⁹ é observada em 5 a 15% das mulheres e 1 a 5% dos homens.

Como já mencionado, o exame de PET-FDG tem sido recomendado com frequência cada vez maior na prática clínica, com finalidade de diagnóstico e seguimento de pacientes oncológicos⁷. Captação difusa de FDG no leito tireoidiano pode ser encontrada incidentalmente nesse exame. Esse achado tem sido relacionado à presença de tireoidite autoimune crônica (TAC) por diversos estudos^{20, 21, 22}. O principal e mais provável mecanismo fisiopatológico para essa associação seria a infiltração da glândula tireóide por linfócitos ativados. Estes são caracteristicamente ávidos por FDG²³, o que justificaria um aumento na captação de FDG pelo leito tireoidiano. Embora tal mecanismo venha sendo aventado, nenhum estudo até o momento comparou os resultados da PET-FDG com resultados histopatológicos da glândula tireóide para confirmá-la. Por outro lado, é possível que a presença de captação difusa no leito tireoidiano possa ocorrer em indivíduos normais.^{23, 24} Assim, é importante determinar se a ocorrência de captação difusa à PET-FDG está sempre relacionada à presença de infiltrado linfocitário tireoidiano e à tireoidite autoimune crônica ou pode ocorrer em glândula normal.

Deve-se ressaltar ainda que alguns estudos evidenciam que a presença de malignidade tireoidiana pode estar associada à maior infiltração linfocitária na

glândula tireóidea^{25, 26}. Com isso, faz-se necessário avaliar se o desempenho da PET-FDG no diagnóstico de câncer de tireóide pode estar comprometido nos pacientes com infiltração linfocitária tireoidiana e naqueles com TAC.

Dessa forma, são desconhecidas a sensibilidade e a especificidade da PET-FDG em diagnosticar TAC em comparação aos autoanticorpos antitireoidianos. Uma vez que a PET-FDG apresenta alto custo e que a mensuração de anticorpos antitireoidianos e a avaliação ultrassonográfica apresentam bom desempenho para o diagnóstico de TAC, o exame não é recomendado para esse diagnóstico. Entretanto, com a aplicação cada vez mais freqüente da PET-FDG na avaliação de pacientes visando o diagnóstico ou estadiamento de diversos tipos de neoplasias, a determinação dessas variáveis pode ser importante para uma melhor interpretação de achado incidental de captação difusa no leito tireoidiano.

1.5 Marcadores imuno-histoquímicos relacionados à captação de FDG na Tomografia por Emissão de Pósitrons.

Como já mencionado (figura 1), a captação de glicose é dependente do seu transporte transmembrana e da fosforilação da glicose pelas hexoquinases (cujos tipos existentes são de 1 a 4). Os transportadores facilitados de glicose (GLUTs) são proteínas transmembranas responsáveis por transportar a glicose para o interior das células usando o gradiente natural existente entre os meios extracelular e intracelular.²⁷ Existem 13 tipos conhecidos de GLUTs, embora o mais comumente expresso em todos os tecidos seja o GLUT 1. A imuno-histoquímica, para os GLUTs e hexoquinases, permite a avaliação da expressão dessas proteínas.

Cada um dos GLUTs tem afinidades diferentes para glicose e outras hexoses como a frutose. GLUT 1, GLUT 3 e GLUT 4 têm uma alta afinidade por glicose, permitindo o transporte de grande quantidade de glicose em condições fisiológicas normais.²⁸ Por isso, esses transportadores seriam os mais provavelmente envolvidos com a regulação do transporte de glicose e FDG pela membrana plasmática celular. O GLUT 4, entretanto, é quase completamente seqüestrado no compartimento intracelular durante o estado basal “in vitro”, e é transportado para a membrana celular na presença de insulina.²⁸ Como o exame de PET-FDG é realizado em jejum, onde os níveis de insulina são baixos, o GLUT 4 provavelmente não tem um papel importante na determinação do grau de captação da FDG. O GLUT 1 está presente em quantidades variáveis em muitos tecidos e se acredita que seja o maior responsável pela captação basal de glicose na maioria deles.²⁸ GLUT 2 e GLUT 5 têm menor afinidade pela glicose e não parecem ter importância na captação basal de glicose.²⁸ Dessa forma, os GLUTs mais provavelmente implicados na captação da FDG por nódulos tireoidianos, por serem aqueles com maior afinidade pela glicose e por não terem sua regulação dependente de insulina, seriam os GLUTs 1 e 3.

Existem poucos estudos relativos à afinidade para glicose ou parâmetros cinéticos para os demais GLUTs, que foram recentemente identificados. Tem se destacado um aparente papel do GLUT 12 na captação de glicose por tecidos com altas taxas metabólicas, como o músculo esquelético e cardíaco.²⁹ Não há estudos na literatura a respeito da expressão de GLUT 12 em tecido tireoidiano normal ou patológico.

2. JUSTIFICATIVA

2.1 Avaliação pré-operatória de nódulos de tireóide com PET-FDG.

Embora seja amplamente conhecido que a maioria dos pacientes com nódulo de tireóide com citologia indeterminada é portadora de doença benigna, a maior parte deles é encaminhada para tireoidectomia, por existir risco de malignidade. Atualmente pacientes com citologia indeterminada cujos nódulos mostram-se benignos ao exame histopatológico geram um alto custo para a saúde, considerando a frequência dessa entidade e os gastos decorrentes de hospitalização, cirurgia, tratamento de eventuais complicações cirúrgicas (como, por exemplo, o hipoparatiroidismo e a disfonia) e reposição de levotiroxina a longo prazo, que uma parcela deles necessita.

Não existem, no Brasil, estudos que avaliaram o potencial da PET-FDG em fazer o diagnóstico pré-operatório de benignidade ou malignidade e desta forma reduzir o número de tireoidectomias desnecessárias, especialmente naqueles pacientes com resultados citológicos indeterminados.

2.2 Correlação de achados histológicos de tireoidite autoimune crônica (TAC) com a presença de captação difusa à PET-FDG.

Não existem estudos que correlacionem presença de alteração histopatológica de TAC com resultados da PET-FDG. Dessa forma, ainda é desconhecido se pacientes com alterações difusas da captação de FDG no leito tireoidiano apresentam sempre TAC. Portanto, o presente estudo poderá auxiliar na melhor interpretação de um resultado de captação difusa de FDG na tireóide e poderá contribuir para determinar se a infiltração linfocitária tireoidiana é fundamental para que esse tipo de captação ocorra. É possível ainda que pacientes com TAC apresentem alterações na PET-FDG que possam prejudicar o desempenho desse exame na avaliação de pacientes com nódulos tireoidianos. Assim, o presente estudo colaborará para a avaliação da PET-FDG nessa subpopulação de pacientes que é frequentemente encontrada na população geral.

2.3 Correlação de marcadores imuno-histoquímicos com o diagnóstico etiológico do nódulo e com a captação de FDG pelo nódulo.

Os marcadores imuno-histoquímicos relacionados à captação de glicose e FDG pelo nódulo têm o potencial de correlacionarem-se com malignidade. Caso sejam associados a um maior risco de malignidade, poderiam auxiliar no diagnóstico diferencial das lesões tireoidianas indeterminadas à citologia. Se ainda esses marcadores forem relacionados à captação de FDG pelo nódulo tireoidiano, terão o potencial de, isoladamente ou em conjunto, substituir a realização do exame da PET.

3. OBJETIVOS

- Determinar a sensibilidade e especificidade diagnóstica da PET-FDG no diagnóstico pré-operatório de nódulos tireoidianos, especialmente daqueles com resultados citológicos indeterminados, e avaliar esse desempenho no subgrupo de pacientes com TAC.

- Determinar a correlação entre o achado de captação difusa tireoidiana da FDG à PET com o diagnóstico histopatológico de TAC em uma população de pacientes com nódulos de tireóide e compará-la às concentrações plasmáticas dos anticorpos antitireoidianos.

- Determinar a correlação entre a expressão dos marcadores imuno-histoquímicos GLUT 1, GLUT 3, GLUT 12, hexoquinase 2 e hexoquinase 3 com o diagnóstico histopatológico final dos nódulos e com a captação de FDG apresentada pelos mesmos.

4. MÉTODOS

O projeto de estudo foi aprovado pela Comissão de Ética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. A todos os participantes foi solicitado consentimento livre e esclarecido, por escrito, após detalhada explicação realizada pessoalmente. Esse é um estudo do tipo corte transversal.

4.1 Local da Pesquisa

Os pacientes foram recrutados dos ambulatórios das Disciplinas de Endocrinologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP).

O exame de PET-FDG foi realizado no Serviço de Medicina Nuclear do Instituto do Coração (InCor) do HC-FMUSP .

Os exames laboratoriais foram realizados no Laboratório do Instituto Central do Hospital das Clínicas e no Laboratório de Hormônios e Genética Molecular/LIM42 do HC-FMUSP .

A avaliação histopatológica e a avaliação imuno-histoquímica foram realizadas no departamento de Patologia, LIM 14, da FMUSP.

4.2 Casuística

Todos os pacientes submetidos ao protocolo haviam realizado previamente PAAF de nódulo de tireóide. Os pacientes com citologia indeterminada foram selecionados de forma consecutiva. Pacientes com outras citologias (diagnóstica de carcinoma ou diagnóstica de lesões benignas) não foram selecionados de forma consecutiva. Os pacientes realizaram o exame de PET-FDG e foram operados entre Agosto de 2005 e Fevereiro de 2007.

4.2.1 Exames Laboratoriais

Todos os pacientes realizaram dosagem de TSH e T4 livre antes de serem submetidos à PET-FDG e à tireoidectomia. Embora fizesse parte do protocolo, em sete pacientes do estudo não foram determinados ao menos um dos dois anticorpos antitireoidianos – anticorpo antitireoperoxidase (ATPO) e/ou anticorpo antitireoglobulina (ATG). Sendo assim, dos 56 pacientes eutireoidianos operados, somente 49 apresentaram ambos os anticorpos antitireoidianos (ATPO e ATG) mensurados.

O hormônio TSH foi mensurado através de ensaio com método de fase sólida, imunofluorimétrico de 2 sítios, baseado em técnica de sanduíche direto com 3 anticorpos monoclonais (AutoDELFIA[®]), sendo considerados valores normais aqueles entre 0,35 a 5,5 mUI/L. A sensibilidade do método é de 0,01 mUI/L. A dosagem de T4 livre foi realizada através de ensaio de fase sólida imunofluorimétrico tempo-resolvido, usando separação com segundo anticorpo

(AutoDELFIA[®]). São considerados normais valores entre 0,7 a 1,7 ng/dL. A mensuração de ATPO e ATG foi realizada, cada uma separadamente, através de ensaio de fase sólida, imunofluorimétrico, baseado em técnica de sanduíche indireta não competitiva, na qual anticorpo contra a fração comum do IgG humano é dirigido contra o ATPO ou ATG da amostra (AutoDELFIA[®]). Para ambos os testes, são considerados normais valores menores do que 35 UI/L.

Foram excluídos do estudo pacientes com concentrações de TSH alteradas ($< 0,35$ mUI/L ou $> 5,5$ mUI/L) pois esse hormônio é um dos determinantes do grau de captação de FDG pelas lesões tireoidianas³⁰ e, possivelmente, pelo parênquima tireoidiano.

4.2.2 Ultrassonografia

Todos os pacientes haviam sido submetidos a exame de ultrassonografia antes de serem encaminhados para a PET-FDG e a tireoidectomia. Os pacientes da Disciplina de Endocrinologia fizeram o exame na Unidade de Tireóide da Disciplina de Endocrinologia, enquanto os pacientes da Disciplina de Cirurgia de Cabeça e Pescoço realizaram o exame, em sua maioria, no serviço de Radiologia do HC-FMUSP. Os aparelhos usados para exames foram os aparelhos Logic 5 Pro e Logic Book, ambos da marca GE Health Care, com transdutor de pequenas partes (frequência utilizada de 10 MHz).

Uma vez que os dados consistentemente reportados à ultrassonografia constituíram-se na ecogenicidade do nódulo e na presença de componente cístico, a análise baseou-se nesses dados.

Apenas a descrição dos nódulos que foram puncionados foi utilizada para avaliação, sendo as lesões classificadas como: (a) nódulos sólido-císticos, quando havia a presença de componente sólido e cístico e (b) nódulos sólidos, quando eram completamente sólidos. Um paciente (paciente número 34 do Anexo 3), portador de lesão multinodular, não teve a ecogenicidade dos nódulos descrita e por isso foi classificado como portador de “lesões sólidas multinodulares”. A parte sólida dos nódulos era classificada, de acordo com sua ecogenicidade, como hipoecogênica, isoecogênica e hiperecogênica. A descrição de microcalcificações nos respectivos nódulos também foi avaliada.

Dados sobre a ecogenicidade do parênquima tireoidiano extra-nodular (normal, hipoecogênico leve, hipoecogênico moderado e hipoecogênico intenso), quando presente, também foram utilizados para análises no estudo.

Dos 56 pacientes incluídos no estudo, somente 2 pacientes apresentavam nódulos puncionados menores de 1 cm à ultrassonografia (pacientes número 41 e 49). Esses pacientes tiveram seus nódulos submetidos à PAAF por apresentarem características altamente suspeitas à ultrassonografia (presença de microcalcificação e/ou bordas irregulares). Outros três pacientes (número 18, 44 e 45), cujo diagnóstico histopatológico revelou nódulo menor do que 1 cm, apresentavam nódulos cujos diâmetros à ultrassonografia eram maiores (respectivamente, 2,0 cm, 1,4 cm e 1,3 cm).

Dos exames ultrassonográficos nos 45 pacientes que foram incluídos no estudo para a avaliação histológica de infiltrado linfocitário e TAC, 36 relatavam a ecogenicidade do parênquima glandular (ecogenicidade normal ou hipoecogenicidade discreta, moderada ou intensa).

4.2.3 Diagnóstico citológico

Todos os pacientes foram submetidos à PAAF, guiada por ultrassonografia, no HC-FMUSP. Aqueles provenientes da Disciplina de Endocrinologia realizaram os procedimentos na Unidade de Tireóide da disciplina, enquanto aqueles provenientes do Serviço de Cirurgia de Cabeça e Pescoço o fizeram no Instituto de Radiologia. A avaliação citológica foi realizada no serviço de Patologia. Todas as lâminas foram coradas pelo método de Papanicolaou.

Os seguintes padrões citológicos foram utilizados para o laudo da avaliação de nódulos de tireóide^{6, 31}:

- Compatível com diagnóstico de carcinoma papilífero: células isoladas, em blocos sólidos ou em arranjo papilífero com núcleos apresentando anisocariose, cromatina irregularmente distribuída, nucléolos proeminentes, presença de dobras da membrana nuclear e inclusão citoplasmática intranuclear.

- Padrão citológico suspeito para carcinoma: grande quantidade de células isoladas, em blocos sólidos ou arranjo microfolicular, em meio a colóide escasso ou ausente, com núcleos apresentando anisocariose, cromatina irregularmente distribuída e nucléolos proeminentes.

- Padrão citológico indeterminado: compreende nódulos foliculares hipercelulares e oxífilos sugestivos de neoplasia folicular. As células são isoladas, em blocos sólidos ou em arranjo folicular. Os núcleos são redondos ou ovalados com a cromatina regularmente distribuída e nucléolos, por vezes, proeminentes. O colóide é escasso ou ausente. O padrão citológico indeterminado pode ser subdividido

naquele com presença de células oxifílicas e naquele sem células oxifílicas (células de Hürthle).

- Compatível com bócio adenomatoso ou colóide: células isoladas, em blocos sólidos ou em arranjo folicular e com núcleos redondos ou ovalados, cromatina uniformemente distribuída e presença de colóide em quantidade variável e, por vezes, macrófagos em atividade fagocítica.

- Compatível com TAC: grande quantidade de linfócitos em diferentes fases de maturação, plasmócitos e histiócitos, com colóide escasso ou ausente. As células foliculares podem estar presentes, assim como células oxifílicas, células gigantes multinucleadas e fibras do tecido conjuntivo.

4.2.4 Diagnóstico Histológico

O critério usado para diagnóstico histopatológico de lesões benignas e malignas foi baseado na classificação histológica de neoplasias de tireóide da Organização Mundial da Saúde³². Carcinomas papilíferos, que não haviam sido observados à ultrassonografia ou puncionados, não foram incluídos nas análises. O tecido tireoidiano ressecado foi fixado em formalina a 10% e os cortes histológicos foram corados com hematoxilina e eosina.

Todas as lâminas de cortes histológicos de pacientes que apresentavam dosagem prévia de anticorpos antitireoidianos (ATPO e ATG) foram ainda submetidas à avaliação pelo médico patologista, assistente na Divisão de Anatomia Patológica do Hospital das Clínicas da FMUSP, Iberê Cauduro Soares, em microscópio binocular, acompanhado do executor do estudo, Fernando Moreno

Sebastianes. Independentemente, foram também avaliadas pelo Dr. Leandro Liporoni. Tal avaliação foi realizada apenas com o conhecimento do gênero do paciente e com dados da localização dos nódulos à ultrassonografia. O objetivo da mesma foi de se realizar avaliação semiquantitativa do grau de infiltrado linfocitário e da presença de TAC do ponto de vista histopatológico.

O número de lâminas avaliado de cada tireóide variou de 2 a 38 (média de $11,9 \pm 8$).

O critério usado para o diagnóstico de infiltrado linfocitário na tireóide foi aquele de Williams e Doniach^{33, 34}. Pelo mesmo, a densidade de agregados linfocitários, quando presente, é graduada semiquantitativamente no tecido tireoidiano não tumoral em:

- Grau 0 (nenhum): 0 a 1 foco por corte representativo padrão (2 cm^2).
- Grau 1 (leve): 2 a 8 focos por corte representativo padrão.
- Grau 2 (moderada): 9 a 40 focos por corte representativo padrão.
- Grau 3 (intensa): mais de 40 focos por corte representativo padrão.
- Grau 4 (muito intensa): mais da metade do parênquima tireoidiano comprometido por corte representativo padrão.

Um “foco” (figuras 3 e 4) é definido como um agregado de 50 ou mais linfócitos. Apenas regiões não tumorais a pelo menos 5 mm de distância dos limites do nódulo foram selecionadas a fim de evitar áreas com infiltração celular linfocitária reativa em volta do nódulo. O corte representativo com as alterações linfocitárias mais proeminentes era utilizado na avaliação quando o número de focos variava entre os diferentes cortes representativos.

Como a presença de infiltrado linfocitário não é necessariamente específica para o diagnóstico de TAC, a mesma foi definida pelo achado de infiltrado linfocitário de intensidade ao menos moderada associada à presença de centros germinativos ocasionais (figuras 3 e 4), folículos tireoidianos de dimensões reduzidas contendo colóide escasso, fibrose e metaplasia oxifílica¹⁹.

Figura 2: Exemplo de corte histológico (aumento de 40 vezes) de paciente com parênquima tireoidiano sem focos de infiltrado linfocitário (paciente número 35 do Anexo 3)

Figura 3: Exemplo de corte histológico (aumento de 40 vezes) revelando quadro de TAC (paciente número 52 do Anexo 4). Múltiplos focos de infiltração linfocitária, alguns deles formando folículos linfóides, focos de destruição do parênquima e metaplasia oxifílica

Figura 4: Exemplo de corte histológico (aumento de 100 vezes) revelando folículo linfóide em paciente com quadro de tireoidite autoimune crônica (paciente número 56 do Anexo 5).

4.2.5 Imuno-histoquímica do tecido tireoidiano normal e patológico

Foram realizados estudos imuno-histoquímicos em tecidos tireoidianos de 47 pacientes. Apenas 45 pacientes, porém, foram incluídos nessa análise uma vez que os cilindros correspondentes aos nódulos de 2 pacientes (pacientes números 41 e 42 do Anexo 3) não eram representativos do nódulo puncionado e, por isso, foram excluídos do estudo. Os cortes histológicos representativos dos casos, corados pela hematoxilina e eosina, foram revisados e as áreas de interesse foram selecionadas nas lâminas. As mesmas áreas foram marcadas nos respectivos blocos de parafina dos doadores dos tecidos. Cilindros de 1,0 mm de diâmetro das áreas marcadas nos blocos de parafina dos doadores foram transportados para um bloco de parafina receptor através de um sistema mecanizado de precisão (Beecher Instruments), com um intervalo de 0,3 mm entre os cilindros. Cada cilindro amostral foi alocado numa posição do bloco receptor definida num sistema cartesiano de coordenadas, e o conjunto das amostras constituiu uma micromatriz tecidual (TMA) com 13 linhas e 15 colunas. No total, o TMA construído conteve 195 posições (contendo 188 amostras de 47 casos, com 1 amostra em duplicata de tecido contendo o nódulo de referência e 1 amostra em duplicata de tecido tireoidiano não pertencente ao nódulo). Dois espaços em branco, correspondendo aos 2 últimos cilindros, e os 5 primeiros cilindros da série, contendo tecido pulmonar, foram usados para determinar o posicionamento do TMA. Uma vez pronto, o bloco de TMA foi cortado em secções histológicas numeradas e consecutivas de 3 μ m (Leica Instruments).

Para a imuno-histoquímica, foi escolhido um conjunto de 2 lâminas (uma lâmina de cada bloco de TMA da duplicata) para cada um dos marcadores examinados. O procedimento, já descrito por Shi et al³⁵, constituiu em:

1. Desparafinização dos cortes de 3 μ de espessura, do material incluído em parafina: incubação com xilol a 60° C por 15 minutos, seguido de outra incubação com xilol à temperatura ambiente por 15 minutos.

2. Hidratação dos cortes em concentrações de etanol a 100% com 3 banhos de 30 segundos cada, seguido de banhos de etanol a 95%, 80% e 70% por 30 segundos e lavagem em água corrente e água destilada.

3. Recuperação antigênica mediante incubação das lâminas em solução de ácido cítrico 10 mM pH 6,0 (Merck, E.U.A.) em panela a vapor. Após a fervura da água, as lâminas foram colocadas em solução de recuperação, por 40 minutos e, a seguir, esfriadas por 20 minutos à temperatura ambiente. Foram realizadas lavagens em água corrente e água destilada.

4. Bloqueio da peroxidase endógena com água oxigenada a 6% diluída v/v em etanol, em 3 banhos de 10 minutos cada. A seguir, realizada lavagens em água corrente e água destilada e lavagem com solução salina tamponada com fosfatos (PBS) 10 mM pH 7,4 por 5 minutos.

5. Bloqueio de proteínas com Cas Block (Zymed) por 10 minutos a 37° C. A seguir, incubação com o anticorpo primário.

6. Incubação das lâminas com anticorpo primário (Tabela 1), em título definido previamente no laboratório com casos sabidamente positivos, diluído em solução de albumina bovina (BSA) (SIGMA, E.U.A) a 1,0% e azida sódica NaN₃ (Inla, São Paulo) 0,1% em PBS, em câmara úmida: 30 min a 37° C e, em seguida, 18

horas (overnight) a 4°C. A seguir, realizadas lavagens em tampão PBS com 3 trocas de 5 minutos cada.

7. Incubação com o bloqueador pós-primário (Post Primary Block, NovoLink Max Polymer Detection System, Nexcastle, Reino Unido) por 30 minutos a 37° C, seguida de lavagens com tampão PBS com 3 trocas de 3 a 5 minutos cada.

8. Revelação com solução de substrato cromogênico contendo diaminobenzidina (Sigma, E.U.A.) a 0,1%, peróxido de hidrogênio a 0,06%, dimetil sulfóxido (Labsynth) a 1% em PBS, em banho de 5 minutos, a 37° C. Após, lavagens em água corrente e água destilada.

10. Contra-coloração com Hematoxilina de Harris por 1 minuto, lavagens em água corrente e água destilada. Imersão rápida em água amoniacal (solução de hidróxido de amônia 0,5%) seguido de lavagens em água corrente e água destilada.

11. Desidratação dos cortes em banhos de etanol a 50%, 80%, 95% e etanol absoluto (3 trocas de 1 minuto cada), diafanização em banhos de xilol e montagem em meio permanente. (Entellan Merck) com lamínula.

Os controles utilizados na reação imuno-histoquímica compreenderam um controle sabidamente positivo para o anticorpo em estudo (Tabela 1) e um controle negativo com incubação em PBS e eliminação do anticorpo primário, sendo efetuados todos os demais procedimentos imuno-histoquímicos. Para GLUT 1, as hemácias em cada cilindro também serviram de controle interno positivo.

Como cada reação foi analisada em duplicata, foi selecionado o maior dentre os 2 valores obtidos que passou a representar o caso quando das análises estatísticas.

Tabela 1: Anticorpos primários utilizados na imuno-histoquímica.

<i>Anticorpo</i>	<i>Clone</i>	<i>Fornecedor</i>	<i>Controle positivo</i>	<i>Título</i>	<i>Compartimento celular relevante</i>
Anti GLUT 12	Policlonal (R1396)	Univ de Melbourne, Australia	Músculo esquelético	1:6000	Citoplasma e membrana
Anti GLUT 1 (C-terminal)	Policlonal	Labvision	Adenocarcinoma de endométrio	1:3200	Citoplasma e membrana
Anti GLUT 3 (C-terminal)	Policlonal	ABR (Affinity)	Testículo	1:400	Citoplasma e membrana
Anti HK 2 (N-terminal)	Policlonal	Abgent	Músculo esquelético	1:100	Citoplasma
Anti HK 3 (N-terminal)	Policlonal	Abgent	Hepatocarcinoma	1:200	Citoplasma

NOTA: Os títulos das amostras foram definidos *in locu*.

Para leitura das reações imuno-histoquímicas, foi utilizado o microscópio inicialmente em pequeno aumento (objetiva 10x) e, a seguir, com objetiva de 40x, quando necessário. Foi avaliada a totalidade das células epiteliais presentes em cada cilindro. Foram considerados cilindros válidos aqueles onde mais da metade da sua área continha tecido relevante. Para os anticorpos contra GLUT, somente células coradas positivas no citoplasma ou membrana foram consideradas. Para os anticorpos contra hexoquinases, apenas a expressão citoplasmática foi avaliada. Na avaliação da marcação para hexoquinase procurou-se ignorar a marcação nuclear inespecífica, a qual é frequentemente notada para todas as hexoquinases³⁶. Efeitos na extremidade, nas áreas necróticas e no colóide foram ignorados para os resultados. A

reação positiva foi indicada pela presença de precipitado granulado amarronzado nas células epiteliais dos tecidos tireoidianos dos espécimes. Os casos positivos receberam a seguinte classificação, baseada na qualidade relativa de células positivas:

- 0: ausência de células epiteliais positivas para o antígeno.
- +: positividade em menos de 10% das células no local examinado.
- ++: positividade de 11 a 50% das células.
- +++: positividade estimada em mais de 50% das células.

Quando houve a detecção de imunoexpressão em pelo menos parte das células epiteliais, esta foi ainda classificada como fraca, média ou forte, conforme sua intensidade.

A avaliação das lâminas coradas por imuno-histoquímica foi realizada independentemente por dois patologistas (Iberê Cauduro Soares e Vanessa Baudichon Domingues) em um microscópio multicabeça, na presença do doutorando Fernando Moreno Sebastianes, que não emitiu nenhuma opinião a cerca das avaliações. Os patologistas não tiveram conhecimento dos resultados da PET-FDG do paciente. As avaliações dos dois examinadores foram idênticas em 88,3% das lâminas avaliadas. Quando foi constatada discordância, foi selecionado para a análise estatística o resultado da avaliação do examinador onde maior imunoexpressão foi identificada.

4.2.6 Imagem da PET-FDG

O intervalo entre a realização da PAAF e da PET-FDG foi maior de 30 dias em 52 dos 56 pacientes desse estudo. Os quatro pacientes que realizaram a PET-FDG menos de 30 dias após a PAAF (pacientes números 16, 46, 47 e 50 dos Anexos 2 e 4) o fizeram com intervalo de 17 , 17 , 15 e 10 dias, respectivamente.

Todos os pacientes mantiveram-se em jejum de pelo menos 6 horas antes do exame e foram submetidos à determinação da glicemia capilar para assegurar que a glicemia estava dentro de um valor de referência (<160 mg/dL). A aquisição de imagem da PET-FDG foi feita 60 minutos após a aplicação intravenosa de 296-444 MBq (8-12mCi) de FDG. Os pacientes foram instruídos para permanecer em repouso, entre a injeção e a aquisição de imagem. A imagem foi obtida usando uma aquisição 2-D em um scanner PET Advance (General Electric Medical Systems Advance; Milwaukee, Wisconsin, EUA). Imagens de alta resolução foram obtidas com correção de atenuação em 2 ou 3 posições na cama, da base do crânio ao centro do tórax.

As imagens da PET foram dispostas como projeções e como secções tomográficas transaxiais, coronais e sagitais. A inspeção visual das imagens foi feita, independentemente, por dois observadores (José Soares Junior e Juliano Júlio Cerci). Esses observadores estavam cientes apenas da localização do nódulo puncionado, não tendo conhecimento sobre os resultados do exame ultrassonográfico e da PAAF. Quando a avaliação era discordante, um terceiro examinador (Marisa Izaki) avaliava, em conjunto com os dois examinadores já mencionados, as imagens para se definir o laudo.

Captação focal foi definida como presença de qualquer concentração pontual de FDG na topografia da tireóide, aumentada acima da concentração basal da glândula. Captação difusa no leito tireoidiano foi definida como qualquer hiperconcentração de FDG distribuída por todo o parênquima tireoidiano de tal forma que as bordas da glândula pudessem ser delimitadas ao exame de PET. Dessa forma, a captação difusa obrigatoriamente determinava uma radiação maior do que a radiação de fundo, dos tecidos adjacentes. Em um paciente (paciente número 45 do Anexo 4), que havia sido submetido previamente à ressecção de um lobo tireoidiano, a avaliação foi realizada apenas no lobo tireoidiano presente.

Regiões de interesse foram selecionadas para calcular o SUVmax nas lesões visíveis com captação aumentada do traçador. Se um nódulo de tireóide não pudesse ser visto nas imagens da PET-FDG, regiões de interesse maiores eram selecionadas para incluir a tireóide na região onde o nódulo estaria localizado, conforme laudo prévio da ultrassonografia.

4.2.7 Pacientes e Critérios de Exclusão

Os critérios de exclusão de entrada no estudo foram: (a) diabetes mellitus pobremente controlado (HbA1C maior do que 7% ou glicemia de jejum acima de 150 mg/dL), (b) coexistência de outras neoplasias malignas conhecidas, (c) gravidez e (d) concentrações prévias conhecidas anormais de TSH. Um paciente foi excluído devido a esse último critério, após já ter realizado o exame de PET-FDG.

Um total de 65 pacientes realizou a PET-FDG de tireóide, sendo que destes foram excluídos de todas as análises 9 pacientes (Anexo 1).

Dessa forma, 56 pacientes foram incluídos no estudo com o objetivo de avaliação da presença de captação de FDG pelo nódulo tireoidiano (captação focal). Destes, 42 (75%) foram provenientes do ambulatório de endocrinologia e 14 (25%) do ambulatório de cirurgia de cabeça e pescoço.

Na avaliação de resultados da captação difusa no leito tireoidiano, foram ainda excluídos 7 pacientes que não realizaram a dosagem de ATPO e ATG como parte dos exames pré-operatórios solicitados e 4 pacientes cuja avaliação histológica revelou bócio multinodular sem a presença de parênquima tireoidiano não tumoral suficiente para se realizar avaliação adequada, ou seja, com distância maior de 5 mm da borda tumoral.

4.3 Análises Estatísticas

As variáveis contínuas foram expressas em médias e desvio-padrão; as variáveis categóricas foram expressas em valores percentuais e absolutos. Para testar a normalidade da distribuição das variáveis, foi aplicado o teste de Kolmogorov-Smirnov. Para avaliar a diferença entre as variáveis categóricas, foi utilizado o teste exato de Fisher ou o teste qui-quadrado.

Para variáveis contínuas, foi utilizado o teste T de students quando as mesmas apresentavam distribuição paramétrica, e o teste de Mann-Whitney quando a distribuição era não-paramétrica. Correlações foram determinadas usando os testes de Spearman e Pearson, como mostrado na seção “Resultados”. Carcinomas papilíferos incidentais não foram considerados para a análise.

Foram consideradas como estatisticamente significantes as diferenças com $p < 0,05$, bicaudal. A análise estatística foi realizada no programa *SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows* versão 13.0.

5. RESULTADOS

Dos 56 pacientes do estudo, 52 (93%) eram mulheres e 4 (7%) eram homens. A idade desses pacientes variou de 18 a 80 anos, sendo que a média foi de $45,0 \pm 15,7$ anos. Os resultados da citologia do nódulo de tireóide desses pacientes foram os seguintes:

- 42 pacientes apresentavam citologia indeterminada (Anexos 2 e 3). Desses, 38 eram mulheres e 4 eram homens. A média de idade desses pacientes foi de $45,3 \pm 16,3$ anos. Os pacientes número 8 e 14 do Anexo 2 e o paciente número 42 do Anexo 3 apresentavam resultado citológico indeterminado com presença de células oxifílicas. O paciente número 7 do Anexo 2 apresentava dois nódulos com resultado citológico indeterminado, com resultados da PET e do exame histopatológico concordantes, sendo incluído, na análise, somente o nódulo maior.

- 6 pacientes apresentavam citologia compatível com o diagnóstico de carcinoma papilífero e 4 apresentavam citologia suspeita para carcinoma papilífero (Anexo 4).

- 4 pacientes apresentavam citologia compatível com diagnóstico de lesão benigna da tireóide, sendo que 3 apresentavam citologia compatível com bócio adenomatoso e 1 citologia compatível com TAC (Anexo 5).

Nenhum paciente do estudo foi encaminhado à tireoidectomia devido a nódulo com resultado citológico insuficiente.

Os resultados histopatológicos finais revelaram 21 pacientes (37,5%) com carcinoma de tireóide bem diferenciado, 25 (44,6%) com bócio adenomatoso ou colóide, 8 (13,3%) com adenoma folicular e 2 (3,6%) exclusivamente com TAC. De

21 pacientes com carcinoma de tireóide bem diferenciado, 17 apresentavam carcinoma papilífero, 3 carcinoma folicular e 1 carcinoma bem diferenciado de tireóide sem outra especificação.

5.1 Captação focal de FDG no leito tireoidiano e carcinoma de tireóide

A concordância entre os dois primeiros observadores foi de 100% quanto ao achado de presença de captação focal de FDG no leito tireoidiano. A presença de captação focal no leito tireoidiano ocorreu em 41 (73%) dos 56 pacientes do estudo. A mesma esteve presente em todos os 21 pacientes com carcinoma de tireóide e esteve ausente em 15 dos 35 pacientes com nódulos benignos ao exame histopatológico. Dessa forma, a sensibilidade desse achado à PET-FDG nessa população foi de 100% e a especificidade de 43%. A presença de captação tireoidiana focal esteve associada a um risco aumentado de malignidade (Teste Qui-Quadrado, $p < 0,001$). A captação focal, quando presente, estava localizada na região onde havia sido descrito o nódulo puncionado à ultrassonografia. Exemplos de resultados de exames estão dispostos na figura 5.

Figura 5: Resultados de PET-FDG em pacientes com nódulos tireoidianos com citologia indeterminada

A. Imagem de PET-FDG de paciente de 74 anos (paciente número 2 do Anexo 2) não demonstrando captação focal de FDG no leito tireoidiano. Exame histopatológico: nódulo adenomatoso de 5,4 cm no diâmetro máximo (resultado verdadeiro-negativo da PET-FDG).

B. Imagem de PET-FDG de paciente de 39 anos (paciente número 39 do Anexo 3) mostrando lesão com uma captação focal heterogênea da FDG no lobo tireoidiano esquerdo. A imagem imediatamente acima e medial à lesão tireoidiana representa captação fisiológica de FDG em corda vocal. Exame histopatológico: carcinoma folicular da tireóide (resultado verdadeiro-positivo da PET-FDG).

C. Imagem de PET-FDG de paciente de 44 anos (paciente número 30 do Anexo 2) mostrando lesão com captação focal homogênea da FDG no lobo tireoidiano direito. Exame histopatológico: nódulo adenomatoso (resultado falso-positivo da PET-FDG).

D. Imagem de PET-FDG de paciente de 43 anos (paciente número 41 do Anexo 3) mostrando captação difusa de intensidade discreta de FDG em ambos os lobos

tireoidianos, associada a 2 áreas de captação focalmente aumentada em lobos inferiores. Um microcarcinoma papilífero multicêntrico, no 1/3 inferior dos lobos tireoidianos, foi identificado pelo exame histopatológico, sendo o resultado classificado como verdadeiro-positivo da PET-FDG.

Os valores de SUVmax foram significativamente maiores nos nódulos tireoidianos malignos do que nos benignos (teste de Mann-Whitney, $p=0,011$). Os resultados do SUVmax, entretanto, não melhoraram a precisão da PET-FDG além daquela obtida pela análise da presença de captação focal. Todos os nódulos sem captação focal da FDG tiveram um nível de SUVmax menor do que 3,7, com a exceção de um paciente com captação difusa de FDG, mas sem captação focal, que teve um nível de SUVmax de 3,9 (paciente número 14 no Anexo 2). Esse paciente apresentou diagnóstico histopatológico de TAC e bócio adenomatoso no exame histopatológico. Se $SUVmax \geq 3,7$ fosse usado como preditor de malignidade, a sensibilidade seria de 100% e a especificidade de 40%.

Embora o diâmetro máximo dos nódulos tireoidianos malignos ($3,2 \pm 2,5$ cm) fosse maior do que o dos nódulos benignos ($2,6 \pm 1,2$ cm), essa diferença não foi considerada estatisticamente significativa (Teste de Mann-Whitney, $p=0,93$). Não houve correlação entre o tamanho do nódulo tireoidiano e o valor de SUVmax (Spearman, $p=0,92$).

Dos 56 pacientes do estudo, 28 (50%) apresentavam, à ultrassonografia, um nódulo, 14 (25%) apresentavam dois nódulos, 5 (9%) apresentavam três nódulos e 9 quatro ou mais nódulos (16%). Na grande maioria dos pacientes com mais de 1 nódulo, os nódulos tinham o mesmo diagnóstico ao exame histopatológico. Nos

pacientes com mais de um nódulo à ultrassonografia, existiria a possibilidade de que uma eventual captação focalmente aumentada de FDG à PET pudesse ter ocorrido em decorrência de um nódulo diferente daquele que se pretendia analisar. Após a revisão dos casos, considerando o diagnóstico histopatológico, a localização e as dimensões dos nódulos, foi identificado apenas 1 paciente onde tal achado possa ter sido relevante – paciente número 41 do Anexo 3 (figura 5D). A mesma apresentava 2 nódulos tireoidianos em lobo esquerdo e 1 à direita. À PET, foi identificada captação difusa de intensidade discreta de FDG em ambos os lobos tireoidianos, associada a 2 áreas de captação focalmente aumentada em lobos inferiores. Um microcarcinoma papilífero multicêntrico, no 1/3 inferior dos lobos tireoidianos, foi identificado pelo exame histopatológico, sendo o resultado classificado como verdadeiro-positivo da PET-FDG. No lobo Esquerdo, um dos nódulos era um nódulo adenomatoso, que poderia ter sido responsável pelo achado de captação focal de FDG neste lobo. Essa paciente não apresentava folículos linfóides e sinais de TAC no exame histopatológico, o que excluía a possibilidade de que um folículo linfóide fosse responsável pela captação focal de FDG no lobo direito, que poderia ser atribuída apenas ao microcarcinoma papilífero.

Microcarcinomas papilíferos incidentais foram verificados em 4 pacientes com PET-FDG positivo e lesões benignas. Seus diâmetros máximos eram, respectivamente, de 1, 2, 5 e 5 mm (todos esses casos foram considerados como falso-positivos na análise – pacientes número 17, 30, 12 e 29). Em 1 paciente com carcinoma folicular (paciente número 33), também foi encontrado um microcarcinoma papilífero de 4 mm, incidental. Essa paciente já apresentava captação focal de FDG proveniente do carcinoma folicular.

A PET-FDG também revelou achados adicionais inesperados que requereram investigação adicional em 2 dos 56 pacientes (3,6%): ausência de captação de FDG em um lobo cerebelar em um paciente (a tomografia computadorizada revelou uma neoplasia cística e o resultado histopatológico da ressecção dessa lesão revelou tratar-se de um hemangioblastoma) e presença de captação focal no mediastino em outro paciente com lesão tireoidiana benigna (a tomografia computadorizada com contraste intravenoso foi normal).

5.1.1 Características ultrassonográficas dos nódulos

Conforme exposto na Tabela 2, dos 56 pacientes avaliados, 26 (46%) apresentaram nódulos sólidos com característica hipoecogênica à ultrassonografia, 12 (21%) nódulos sólidos isoecogênicos ou hiperecogênicos e 17 (30%) nódulos sólido-císticos. Um paciente apresentou bócio multinodular cuja ecogenicidade não foi descrita.

Tabela 2: Característica dos nódulos puncionados à ultrassonografia quanto à presença de componente líquido (sólido-cístico ou sólido) e à ecogenicidade (hipoecogênico, isoecogênico ou hiperecogênico) em relação ao exame histopatológico final dos 56 pacientes incluídos no estudo

	Nódulo colóide ou adenomatoso	Adenoma Folicular	TAC	CA Bem diferenciado	Total	% de pacientes com CA
Sólido-cístico	8	1	1	7	17	41%
Sólido hipo	10	4	1	11	26	42%
Sólido iso ou hiper	7	3	0	2	12	17%
Multinod sólido	0	0	0	1	1	100%

Notas: hipo, hipoecogênico; iso, isoecogênico; hiper, hiperecogênico; Multinod, multinodular; TAC, tireoidite autoimune crônica; CA, carcinoma.

A frequência de malignidade em nódulos completamente sólidos foi de 36%, enquanto foi de 41% para os nódulos sólido-císticos ($p=0,7$, qui-quadrado). Entre os pacientes com nódulos sólidos, a prevalência de malignidade tireoidiana naqueles com nódulos hipoecogênicos foi de 42%, sendo de 17% naqueles com nódulos isoecogênicos ou hiperecogênicos – não houve, entretanto, significância estatística ($p=0,16$, Teste Exato de Fisher).

Presença de microcalcificações no nódulo avaliado foi relatada em apenas 3 pacientes do estudo (5,4%), sendo que em todos os casos os nódulos confirmaram malignidade (pacientes número 41 e 42 do anexo 3 e número 48 do anexo 4). Dessa forma, 14,3% dos pacientes com carcinoma de tireóide (3 de 21) no presente estudo apresentaram microcalcificações nesses nódulos à ultrassonografia.

5.1.2 Subgrupo de pacientes com nódulos tireoidianos com citologia indeterminada

Os resultados histológicos finais dos 42 pacientes revelaram 11 pacientes (26%) com carcinoma de tireóide bem diferenciado, 22 (52,4%) com bócio adenomatoso, 8 (19%) com adenoma folicular e 1 (2,4%) exclusivamente com TAC (Anexos 2 e 3). De 11 pacientes com carcinoma de tireóide bem diferenciado (Anexo 3), 8 apresentavam carcinoma papilífero, 2 carcinoma folicular e 1 carcinoma bem diferenciado de tireóide sem outra especificação. A presença de captação tireoidiana focal esteve associada a um risco aumentado de malignidade (Teste Exato de Fisher, $p=0,02$). Todos os nódulos malignos exibiram captação focal (sensibilidade de 100%). Dos 31 pacientes com nódulos benignos, havia 12 (38,7%) sem captação focal (especificidade de 39%). A probabilidade pré-PET de câncer era de 26% (11/42), sendo o valor preditivo positivo (probabilidade de câncer após PET ser positivo) de 37% (11/30).

Os resultados da SUVmax não melhoraram a precisão da PET-FDG além daquela obtida pela análise da presença de captação focal. Os valores de SUVmax não foram significativamente maiores nos nódulos tireoidianos malignos do que nos benignos (teste de Mann-Whitney, $p=0,7$). Se um SUVmax de 3,7 ou mais fosse usado como um preditor de malignidade tireoidiana, a sensibilidade seria de 100% e a especificidade de 35%.

Dos parâmetros clínicos, laboratoriais, ultrassonográficos e histopatológicos, o único que foi associado com malignidade foi a idade. Os pacientes mais jovens apresentaram risco significativamente maior ($p=0,048$) de apresentarem carcinoma

de tireóide. Idade, entretanto, não foi associada com o valor do SUVmax (Spearman, $p=0,7$) ou com a presença de captação focal (Teste T, $p=0,34$).

O sexo ($p=1,0$; Teste Exato de Fisher), concentrações de T4L ($p=0,9$, Teste T de Student), e concentrações de ATPO e ATG (respectivamente, $p=0,84$ e $0,72$, Teste de Mann-Whitney) não estiveram associadas à malignidade. Presenças de infiltrado linfocitário e de TAC no exame histopatológico também não se associaram à malignidade (respectivamente, $p=0,39$ e $0,94$, Teste Qui-quadrado). Nódulos malignos ocorreram em 33% dos pacientes com nódulos únicos à ultrassonografia e em 19% daqueles com mais de 1 nódulo ($p=0,29$, Teste do Qui-Quadrado). Nódulos hiperecogênicos ou isoecogênicos foram benignos com mais frequência do que nódulos com outras características, porém tal diferença não foi significativa ($p=0,16$, Teste Exato de Fisher). Concentrações de TSH foram, na média, de $1,55 \pm 0,15$ mUI/L para pacientes com nódulos malignos e de $1,96 \pm 0,21$ mUI/L para aqueles com nódulos benignos ($p=0,27$, Teste T de Student). A mediana do diâmetro máximo dos nódulos ao exame histopatológico foi de 3,4 cm para pacientes com nódulo maligno e de 2,5 cm para aqueles com nódulo benigno ($p=0,1$, Teste de Mann-Whitney).

Deve-se destacar, ainda, que não houve correlação entre o tamanho do nódulo tireoidiano e o valor de SUVmax do mesmo (Spearman, $p=0,96$).

5.2 Infiltrado linfocitário, tireoidite autoimune crônica, autoanticorpos tireoidianos e alterações à PET-FDG.

Quarenta e cinco pacientes (4 homens e 41 mulheres), com média de idade de $46,7 \pm 15,8$ anos, foram avaliados com a finalidade de comparar a presença de captação difusa com o diagnóstico de TAC. Vinte e oito (62%) pacientes foram submetidos à ressecção de ambos os lobos tireoidianos e 17 (38%) à ressecção de apenas 1 lobo. Nódulo único à ultrassonografia estava presente em 26 pacientes (58%), dois nódulos em 10 pacientes (22%), 3 nódulos em 4 pacientes (9%) e 4 ou mais nódulos em 5 pacientes (11%).

A análise histológica final dos 45 pacientes avaliados revelou 20 com qualquer grau de infiltrado linfocitário não tumoral, dos quais 2 eram leves, 7 moderados, 10 intensas e 1 muito intensa. Houve concordância total entre os 2 observadores quanto a essa classificação. Desses pacientes, 13 foram classificados como tendo TAC por um dos examinadores e 15 pelo outro examinador. Para efeito de análise estatística, foram considerados portadores de TAC do ponto de vista histopatológico apenas aqueles pacientes onde houve concordância entre os 2 observadores. Dessa forma, 13 pacientes foram considerados portadores de TAC, incluindo todos os pacientes com infiltrado linfocitário intenso e muito intenso e 2 dos 7 pacientes com infiltrado linfocitário moderado. Portanto, 44% e 29%, respectivamente, dos pacientes nessa série, apresentaram presença de infiltrado linfocitário e de TAC.

Embora 10 (53%) dos 19 pacientes com carcinoma tenham apresentado evidência de infiltrado linfocitário, em oposição a somente 10 (38%) dos 26

pacientes com nódulos benignos, tal diferença não foi estatisticamente significativa ($p=0,34$, teste qui-quadrado). TAC ocorreu em 8 de 19 pacientes (42%) com carcinoma no exame histopatológico e em 5 de 26 pacientes (19%) sem malignidade ($p=0,09$, teste qui-quadrado). A prevalência de concentrações aumentadas de ATPO e ATG foi de 33% na presente série, sendo de 37% (7 de 19) nos pacientes com carcinoma de tireóide e de 31% (8 de 26) naqueles sem carcinoma ($p=0,67$, teste qui-quadrado).

Três dos 13 (23%) pacientes com TAC e 5 dos 32 (16%) pacientes sem TAC estavam sob regime de levotiroxina. Um desses pacientes sem TAC havia sido submetido à ressecção de um lobo tireoidiano previamente à avaliação (paciente número 45 do Anexo 4). Embora os prontuários e exames laboratoriais tenham sido revisados, não foram encontrados dados indicativos do motivo da introdução de levotiroxina nos outros 4 pacientes sem TAC (número 22, 26, 29 e 39 nos Anexos 2 e 3). Deles, 2 não apresentaram qualquer grau de infiltrado linfocitário, 1 apresentou infiltrado de grau leve (grau 1) e outro de grau moderado (grau 2). As doses de levotiroxina em uso eram de 50 microgramas/dia para os três primeiros e de 25 microgramas/dia para o último. As doses de levotiroxina que os 3 pacientes com TAC faziam uso eram de 50 microgramas/dia, 75 microgramas/dia e 100 microgramas/dia. Mesmo excluindo-se a paciente com hemitireoidectomia prévia da análise, o uso de levotiroxina não foi associado ao achado de TAC no exame histopatológico ($p=0,4$, teste do qui-quadrado).

Captação difusa de FDG no leito tireoidiano estava presente em 13 pacientes (29%). A presença de captação difusa teve concordância entre os dois primeiros observadores de 89,5% (6 de 57 pacientes apresentaram laudos inicialmente

discordantes quanto a esse achado, requerendo a avaliação de um 3º examinador). Captação difusa de FDG no leito tireoidiano esteve significativamente associada à presença de TAC ($p=0,019$, teste qui-quadrado). Houve ainda tendência de associação entre graus moderados e intensos de infiltrado linfocitário com a presença de captação difusa à PET-FDG, embora não tenha sido alcançada significância estatística ($p=0,06$, teste do qui-quadrado). Presença de qualquer grau de infiltrado linfocitário também não se associou à presença de captação difusa de FDG no leito tireoidiano ($p=0,141$, teste do qui-quadrado). Deve-se ressaltar que 5 pacientes com grau 0 de infiltrado linfocitário (ou seja, sem qualquer sinal de infiltração linfocitária) apresentaram captação difusa à PET-FDG (Tabela 4). Três desses pacientes apresentaram captação difusa de intensidade discreta e dois deles moderada.

Na Tabela 3, estão dispostos os resultados dos exames dos pacientes conforme o diagnóstico de infiltrado linfocitário e de TAC.

Tabela 3: Número de pacientes com tireoidite autoimune crônica e com diferentes graus de infiltrado linfocitário que apresentaram captação difusa no leito tireoidiano à PET-FDG e concentrações aumentadas de anticorpos antitireoidianos

	N de pac	Captação difusa de FDG no leito tireoidiano	ATPO aum	ATPO e/ou ATG aum	ATPO e/ou ATG aumentados e/ou captação difusa de FDG no leito tireoidiano
IL Grau 0	25	5	2	2	6
IL Grau 1	2	0	0	2	2
IL Grau 2	7	2	1	4	4
IL Grau 3	10	5	6	6	8
IL Grau 4	1	1	1	1	1
TAC	13	7	8	9	11

IL, infiltrado linfocitário; N, número; TAC, tireoidite autoimune crônica; pac, pacientes; aum, aumentado; ATPO, anticorpo antitireoperoxidase; ATG, anticorpo antitireoglobulina.

Conforme exposto na Tabela 4, observamos que a presença, em um mesmo paciente, de ao menos um dos anticorpos antitireoidianos elevados associados à presença de captação difusa de FDG no leito tireoidiano à PET foi sugestiva da presença de TAC (valor preditivo positivo de 71%; $p=0,015$, Teste Exato de Fisher). Por outro lado, somente um terço dos pacientes com presença de captação difusa de FDG no leito tireoidiano com ambos os autoanticorpos tireoidianos negativos apresentaram TAC (prevalência de TAC de 33% nessa situação).

Tabela 4: Número de pacientes com concentrações elevadas de anticorpos antitireoidianos (ATPO e/ou ATG) e presença de captação difusa de FDG no leito tireoidiano, isoladamente ou em combinação, dispostos em relação à presença de TAC.

Anticorpo e Captação Difusa de FDG (CD)	Ausência de TAC	Presença de TAC	Total
Anticorpos elevados e CD presente	2	5	7
Anticorpos elevados sem presença de CD	4	4	8
Presença de CD sem elevação de anticorpos	4	2	6
Ausência de CD e ausência de elevação de anticorpos	22	2	24
Total	32	13	45

Notas: TAC, tireoidite autoimune crônica; CD, captação difusa de FDG.

Altos títulos de ATPO, como aqueles acima de 200 UI/mL, são considerados mais fortemente sugestíveis de TAC¹⁹. Na presente série, entretanto, o uso desse valor de corte para as concentrações de ATPO não aumentou a precisão para o diagnóstico de TAC no exame histopatológico.

Figura 6: Imagens de PET-FDG exemplificando paciente com captação difusa intensa de FDG no leito tireoidiano (paciente número 56 do Anexo 5). Cortes sagitais da região posterior até a região cervical anterior

Figura 7: Corte histológico da mesma paciente (paciente número 56 do Anexo 4) revelando alterações compatíveis com tireoidite autoimune crônica

Dados ultrassonográficos referentes à ecogenicidade do parênquima tireoidiano estavam presentes em 36 dos 45 pacientes incluídos nessa seção do estudo. Desses, 9 apresentavam TAC no exame histopatológico, dos quais 5 apresentavam ecogenicidade normal do parênquima tireoidiano, 2 apresentavam hipoeogenicidade leve e 2 apresentavam hipoeogenicidade moderada. Houve ainda 3 pacientes com hipoeogenicidade leve do parênquima tireoidiano à ultrassonografia e 1 com hipoeogenicidade moderada cujo diagnóstico histopatológico não foi compatível com TAC. Dessa forma, não houve associação significativa entre hipoeogenicidade de qualquer grau do parênquima tireoidiano e diagnóstico de TAC ($p=0,086$, Teste Exato de Fisher).

A presença de TAC levou à presença de captação focal de FDG no leito tireoidiano em ao menos 2 pacientes (pacientes número 28 e 56, nos Anexos 2 e 5). Ambas apresentaram associadamente presença de captação difusa moderada e

intensa, respectivamente. As pacientes não apresentavam quaisquer outras lesões no exame histopatológico que pudessem justificar tais alterações à PET-FDG. Dessa forma, em ao menos 2 pacientes de um total de 15 com TAC, houve resultados falso-positivos de captação focal de FDG no leito tireoidiano em consequência da TAC.

5.3 Marcadores imuno-histoquímicos

5.3.1 GLUT 1

Houve imunoexpressão de GLUT 1 pelas células foliculares em apenas 3 (6,7%) dos 45 nódulos avaliados, todos eles com expressão em menos de 10% das células avaliadas. Em 2 deles, a imunoexpressão foi de intensidade fraca e em 1 deles de intensidade forte. Em apenas 1 desses 3 pacientes houve presença de captação focal de FDG no leito tireoidiano correspondente ao nódulo. Todos esses pacientes eram portadores de nódulos benignos. Não houve, assim, associação entre imunoexpressão de GLUT 1 com malignidade e com captação anômala de FDG à PET. Foi constatado, em todos os pacientes, expressão intensa de GLUT 1 nas hemácias dos tecidos avaliados (figura 8).

Figura 8: Corte histológico em aumento de 100 vezes com imuno-histoquímica para GLUT 1 do nódulo tireoidiano (adenoma folicular) do paciente número 31 do Anexo 2, não evidenciando imunoexpressão dessa enzima. É possível notar imunoexpressão de GLUT 1 pelas hemácias, que adquirem a cor amarronzada.

5.3.2 GLUT 3

A avaliação do GLUT 3 foi realizada em 44 tecidos nodulares e em 44 parênquimas tireoidianos não nodulares.

Houve imunoexpressão de GLUT 3 em 7 (16%) nódulos, sendo que em 6 (14%) deles foi identificada imunoexpressão em menos de 10% das células e em 1 deles (2%) imunoexpressão em mais que 50% das células avaliadas. Desses 7 nódulos com alguma imunoexpressão, 6 apresentaram imunoexpressão de intensidade fraca e 1 de intensidade moderada. Não houve associação estatística entre a presença de imunoexpressão de GLUT 3 pelos nódulos com malignidade ($p=0,45$, teste do Qui-Quadrado) ou com captação focal à FDG ($p=0,48$, teste do qui-quadrado).

No parênquima tireoidiano não nodular, em apenas 3 pacientes (7%) houve imunoexpressão de GLUT 3, sendo esta sempre em menos de 10% das células avaliadas e de intensidade fraca. Em apenas 1 desses 3 pacientes, houve presença de captação difusa de FDG no leito tireoidiano ($p=0,88$, teste do qui-quadrado).

Figura 9: Corte histológico em aumento de 100 vezes com imuno-histoquímica para GLUT 3 do nódulo tireoidiano (carcinoma folicular) da paciente número 33 do Anexo 3, não evidenciando imunoexpressão de GLUT 3.

5.3.3 GLUT 12

A avaliação do GLUT 12 foi realizada nos 45 nódulos dos 45 pacientes e em 44 amostras de tecido tireoidiano não nodular. Todos os nódulos tireoidianos expressaram GLUT 12. Em 2 deles (4%), houve expressão entre 10 e 50% das células avaliadas, sendo um desses nódulos maligno e ambos captantes de FDG. Nos demais pacientes (96%), houve imunoexpressão em mais da metade das células

avaliadas de seus nódulos. Não houve associação estatística entre o percentual de células coradas e a presença de captação de FDG aumentadas pelo nódulo ($p=0,33$, qui-quadrado). Também não houve associação com malignidade ($p=0,77$, qui-quadrado).

Desses 45 nódulos, 30 (67%) apresentaram imunoexpressão de intensidade fraca, 9 (20%) de intensidade moderada e 6 (13%) de intensidade forte. Não houve associação entre a intensidade da imunoexpressão de GLUT 12 pelo nódulo com a presença de captação focal de FDG ($p=0,82$ comparando intensidade fraca com intensidade moderada/forte, teste do qui-quadrado). Dos nódulos malignos, 22% apresentaram imunoexpressão de intensidade moderada ou forte, enquanto 41% daqueles benignos apresentaram esse grau de imunoexpressão ($p=0,20$, comparando intensidade fraca com intensidade média/forte, teste do qui-quadrado).

No parênquima tireoidiano não nodular, em 2 pacientes (5%) houve imunoexpressão em 11 a 50% dessas células e em 42 pacientes (95%) houve imunoexpressão em mais de 50% das células. Não houve associação entre o percentual de células com imunoexpressão de GLUT 12 com a presença de captação difusa de FDG no leito tireoidiano ($p=0,52$, teste do qui-quadrado).

A intensidade da imunoexpressão de GLUT 12 no parênquima tireoidiano não nodular não se associou com a presença de captação difusa de FDG no leito tireoidiano ($p=0,83$, qui-quadrado, comparando expressão fraca com moderada/forte). Trinta e oito pacientes apresentaram imunoexpressão de intensidade fraca (87%), 5 pacientes (11%) de intensidade moderada e 1 (2%) de intensidade forte, no parênquima tireoidiano não nodular.

Figura 10: Corte histológico em aumento de 400 vezes com imuno-histoquímica para GLUT 12 do nódulo tireoidiano (carcinoma folicular) do paciente número 33 do Anexo 3, revelando uma imunoexpressão de intensidade fraca em todas as células epiteliais.

Figura 11: Corte histológico em aumento de 400 vezes com imuno-histoquímica de GLUT 12 do nódulo tireoidiano (adenoma folicular) do paciente número 31 do Anexo 2, revelando uma imunoexpressão de intensidade forte em todas as células epiteliais.

5.3.4 Hexoquinase 2

Todos os 45 nódulos foram avaliados. Em 19 deles (42%), não houve imunoexpressão da hexoquinase 2. Em 16 pacientes (36%), houve imunoexpressão em menos de 10% das células avaliadas. Em 8 pacientes (18%) e em 2 pacientes (4%), houve imunoexpressão em 11 a 50% e em mais de 50% das células avaliadas, respectivamente. Apenas 5 dos 31 nódulos (16%) de pacientes com captação focal de FDG apresentaram imunoexpressão em mais de 10% das células, enquanto 5 de 14 (36%) daqueles sem captação de FDG apresentaram esse grau de imunoexpressão ($p=0,14$, teste do qui-quadrado). Nódulos malignos apresentaram imunoexpressão em mais de 10% das células com o mesmo percentual que nódulos benignos (22% cada; $p=1,0$, qui-quadrado).

Dos 26 nódulos com algum grau de imunoexpressão de hexoquinase 2, 17(65%) apresentaram imunoexpressão de intensidade fraca, 7 moderada (27%) e 2 forte (8%). Apenas 3 de 31 nódulos (10%) de pacientes com captação focal de FDG apresentaram imunoexpressão de intensidade média ou forte, enquanto 6 de 14 (43%) daqueles sem captação focal de FDG apresentaram esse grau de imunoexpressão. Dessa forma, houve associação entre imunoexpressão de intensidade moderada ou forte com ausência de captação focal de FDG à PET ($p=0,01$, qui-quadrado). Apenas 1 de 18 nódulos malignos (6%) apresentou imunoexpressão de intensidade moderada ou intensa, enquanto 8 de 27 benignos (30%) apresentaram esse grau de imunoexpressão. Essa diferença foi estatisticamente significativa ($p=0,048$, teste do qui-quadrado).

Dos 44 pacientes onde o tecido tireoidiano não pertencente ao nódulo foi

avaliado, 18 (41%) apresentaram ausência de imunexpressão de hexoquinase 2, vinte e dois (50%) apresentaram imunexpressão em menos de 10% das células avaliadas e 4 (9%) em 10 a 50% das células avaliadas. Não houve associação entre captação difusa de FDG no leito tireoidiano e presença de células com imunexpressão de hexoquinase 2 no parênquima tireoidiano não nodular ($p=0,83$, teste do qui-quadrado). Destes pacientes com algum grau de imunexpressão, 23 (88%) apresentaram imunexpressão de intensidade fraca, 2 (8%) de intensidade moderada e 1 (4%) de intensidade forte. Não houve associação entre presença de captação difusa de FDG com a imunexpressão de hexoquinase 2 em mais de 10% das células avaliadas ($p=0,83$, qui-quadrado).

Figura 12: Corte histológico em aumento de 100 vezes com imunohistoquímica para hexoquinase 2 do nódulo tireoidiano (adenoma folicular) do paciente número 31 do Anexo 2, não evidenciando imunexpressão dessa enzima.

5.3.5 Hexoquinase 3

Foram avaliados 44 pacientes quanto à imunoexpressão de hexoquinase 3. Todos apresentaram imunoexpressão da hexoquinase 3 em mais de 50% das células epiteliais avaliadas no nódulo. Assim, não houve associação estatística entre nódulos malignos ou captação de FDG à PET e maior percentual de células com imunoexpressão positiva para hexoquinase 3 ($p=1,0$, qui-quadrado). A intensidade da imunoexpressão (fraca, média ou forte) também não teve associação com captação de FDG à PET ou com malignidade (qui-quadrado, $p=0,8$ e $0,7$ para comparação entre imunoexpressão moderada/forte X fraca, respectivamente). Vinte e seis nódulos (59%) apresentaram imunoexpressão fraca, 17 (39%) moderada e 1 (2%) forte.

O parênquima tireoidiano não pertencente ao nódulo expressou hexoquinase 3 em todos os 44 pacientes avaliados. Em 1 (2%) deles, a imunoexpressão foi de 10 a 50% das células foliculares e em 43 (98%) deles a imunoexpressão foi em mais de 50% das células foliculares. Não houve associação entre a presença de captação difusa no leito tireoidiano de FDG e o percentual de células expressando hexoquinase 3 no parênquima tireoidiano normal ($p=1,0$, qui-quadrado). Trinta e quatro (77%) pacientes apresentaram imunoexpressão de intensidade fraca no parênquima tireoidiano normal e 10 (23%) apresentaram imunoexpressão de intensidade moderada. Não houve diferença estatisticamente significativa entre esse dado e a presença de captação difusa de FDG no leito tireoidiano ($p=0,41$, qui-quadrado).

Figura 13: Corte histológico em aumento de 100 vezes com imunohistoquímica de hexoquinase 3 do nódulo tireoidiano (carcinoma folicular) da paciente número 33 do Anexo 3, revelando uma imunoreexpressão em todas as células epiteliais de intensidade fraca.

Figura 14: Corte histológico em aumento de 100 vezes com imunohistoquímica de hexoquinase 3 do nódulo tireoidiano (adenoma folicular) do

paciente número 31 do Anexo 2, revelando uma imunoeexpressão em todas as células epiteliais de intensidade forte.

6. DISCUSSÃO

6.1 PET-FDG na avaliação de nódulos de tireóide

6.1.1 Sensibilidade da PET-FDG para o diagnóstico de carcinoma de tireóide

A sensibilidade do achado de captação focal de FDG no leito tireoidiano à PET-FDG foi de 100% nos 21 pacientes com carcinoma de tireóide no presente estudo (11 deles com resultado citológico prévio indeterminado). Tal resultado está de acordo com a maioria dos estudos que, recentemente, vem sendo publicados, também demonstrando uma sensibilidade bastante elevada da PET-FDG no diagnóstico desses carcinomas. Dez outros estudos^{11-17, 37-39} com PET-scan e quatro estudos⁴⁰⁻⁴³ com PET-TC avaliaram o uso da PET-FDG no diagnóstico pré-operatório de nódulo de tireóide. Em sete estudos, incluídos os dados já publicados do nosso estudo⁴⁴, a maioria^{11, 40} ou a totalidade^{37-39, 41, 42, 44} dos nódulos avaliados apresentavam resultados citológicos indeterminados - os estudos com PET-Scan estão representados na Tabela 5. Os demais estudos^{12-17, 43} apresentavam pacientes com resultados citológicos variados e não foram desenhados para avaliar primordialmente pacientes com nódulos de tireóide com resultados citológicos indeterminados.

Tabela 5: Resumo dos principais estudos sobre uso da PET-Scan com FDG na avaliação pré-operatória de pacientes com nódulos tireoidianos com padrão citológico indeterminado

Fonte bibliográfica	Número de pacientes operados	Critério		
		Diagnóstico (no leito tireoidiano)	Sensibilidade	Especificidade
Kresnik et al ¹¹	37	CF Presente	100% (10 pt)	56% (15 de 27 pt)
De Geus-Oei et al ³⁷	44	CF Presente	100% (6 pt)	66% (25 de 38 pt)
Kim et al ³⁸	36	CF Presente	100% (15 pt)	0% (0 de 21 pt)
Sebastianes et al ⁴⁴	42	CF Presente	100% (11 pt)	39% (12 de 31 pt)
Smith et al ³⁹	23	CF Presente	100% (5 pt)	0% (0 de 18 pt)

CF, Captação Focal; pt, pacientes.

A sensibilidade da PET-FDG, em nove estudos^{11-16, 37-39} e no presente estudo, para o diagnóstico pré-operatório de câncer de tireóide, foi de 100%. Porém, em um estudo¹⁷ com PET-scan e em 4 estudos⁴⁰⁻⁴³ com PET-TC (PET acoplado à tomografia computadorizada), que serão comentados a seguir, a sensibilidade foi menor. Ao todo, já foram avaliados mais de 100 pacientes^{11-17, 37-44} com nódulos de tireóide malignos e poucos resultados falso-negativos foram relatados na avaliação de carcinomas não incidentais. Os resultados falso-negativos relatados pelos estudos estão discutidos abaixo:

- Em um estudo que utilizou uma gama-câmara de PET/SPECT para realização de PET¹⁷ (que apresenta menor sensibilidade na detecção de neoplasias malignas quando comparado com os equipamentos modernos de PET utilizados nos demais estudos e em nosso estudo), um paciente com carcinoma tireoidiano não apresentou presença de captação focal.

- No estudo de Mitchell e cols⁴⁰, 7 resultados falso-negativos também foram relatados. Esse trabalho, entretanto, apresentou algumas particularidades: (1) Foi utilizada análise por nódulo avaliado e não por paciente; vários nódulos em um mesmo paciente eram incluídos separadamente na análise. (2) Ao contrário dos demais estudos, houve a inclusão de microcarcinomas incidentais em sua análise. (3) O exame foi realizado em equipamento de PET-TC ao invés de PET dedicado e identificou nódulos muito pequenos, alguns menores que 5 mm, que foram incluídos no estudo. (4) Os autores utilizaram como critério diagnóstico captação de SUVmax acima de 5,0 com a finalidade de aumentar a especificidade (91%) em detrimento de uma queda na sensibilidade (60%). Com essas particularidades, houve sete nódulos malignos que foram classificados como falso-negativos nesse estudo⁴⁰. No entanto, cinco destes eram microcarcinomas incidentais, que não haviam sido avaliados do ponto de vista citológico no pré-operatório, e que, na maioria das vezes, têm um comportamento indolente^{2, 4}. Um mesmo paciente desse estudo apresentou outros dois nódulos com SUV máximo menor que cinco, cujos diagnósticos foram de um carcinoma papilífero medindo 3,5 x 2,6 cm e de um carcinoma metastático de rim. Esse paciente apresentava TSH suprimido, o que poderia levar a uma maior captação de FDG por tecidos extra-tireoidianos como musculatura esquelética e timo⁴⁵ e redução da intensidade de captação de neoplasias malignas de tireóide³⁰. Além disso, ambos os nódulos apresentaram SUV máximo de 2,3 e, segundo os critérios diagnósticos do estudo, foram considerados como resultados falso-negativos. Entretanto, uma vez que ambos apresentaram presença de algum grau de captação de FDG, caso o critério diagnóstico utilizado fosse a presença de $SUV > 2,0$, como no estudo de Hales et al⁴¹, ambos seriam considerados resultados verdadeiro-positivos.

Se esse critério tivesse sido adotado, em relação aos 24 nódulos com citologia indeterminada incluídos nesse estudo, a sensibilidade do exame aumentaria para 100% e a especificidade se reduziria para 48%. Se o critério utilizado fosse de $SUV > 0$, a especificidade seria ainda menor (39%).

- No estudo de Hales et al⁴¹, realizado com PET-TC, 3 pacientes apresentaram resultados falso-negativos (definido como SUV menor do que 2,0). Entretanto, um desses pacientes apresentava um carcinoma papilífero de 0,1 cm de diâmetro, que certamente não correspondia ao nódulo que havia sido puncionado no pré-operatório. Esse carcinoma deveria ser considerado como incidental; a avaliação desse nódulo pela PET-FDG não era o objetivo desse estudo. Um dos outros dois pacientes apresentava carcinoma papilífero (cujas dimensões não foram descritas) em um cisto hemorrágico e o outro carcinoma papilífero de 1,4 cm com SUV de 1,5.

- No estudo de Traugott e cols⁴², com PET-TC, 2 pacientes com carcinoma bem diferenciado de tireóide, ambos menores de 1,0 cm, apresentaram captação ausente de FDG. Para os 51 pacientes incluídos nesse estudo, todos com resultados citológicos indeterminados, a sensibilidade para o diagnóstico de carcinoma foi de 80% e a especificidade de 61%. Considerando-se somente os nódulos maiores de 1,0 cm, a sensibilidade aumentou para 100% (com Intervalo de Confiança 95% de 69 a 100%). Os autores consideram que a resolução espacial da PET-TC pode não ser suficiente para avaliar adequadamente nódulos muito pequenos. Esses resultados são ainda preliminares, pois os autores pretendem atingir o número de 125 pacientes na avaliação.

- D'Souza e cols.⁴³ realizaram um estudo onde PET-TC foi realizada em 200 pacientes com nódulos de tireóide submetidos à PAAF, a grande maioria com

resultados benignos. Nesse estudo, apenas 36 pacientes foram submetidos à tireoidectomia. Vinte e seis pacientes, dos quais 22 foram operados, apresentavam câncer de tireóide. Destes, 21 apresentavam carcinoma bem diferenciado de tireóide. O valor de 8,1 do SUVmax em 60 minutos levou a uma sensibilidade de 80,8% e uma especificidade de 84,5%. O aumento de SUVmax acima de 10% na medida de 120 minutos levou a uma discreta melhora nesses resultados (sensibilidade de 84,6% e especificidade de 85,6%). A avaliação ultrassonográfica, por sua vez, apresentou uma sensibilidade de 80,6% e especificidade de 81,6% na determinação da malignidade do nódulo. Essa diferença não significativa entre o desempenho da PET-TC e da ultrassonografia levou à conclusão de que a PET-TC não deve substituir a ultrassonografia na avaliação inicial de nódulos de tireóide.

No estudo de Smith et al³⁹, todos os 23 pacientes do estudo (5 com carcinoma e 18 com lesões benignas) apresentaram captação aumentada de FDG no leito tireoidiano, embora algumas vezes tenha sido somente pouco maior do que a radiação de fundo. Os autores atribuem esse achado possivelmente ao maior tempo de aquisição das imagens. Nesse estudo, observou-se ainda que o incremento do SUV entre 60 e 120 minutos após a administração da FDG é consideravelmente maior nos nódulos malignos do que nos benignos. Os nódulos malignos apresentaram, ainda, uma maior área sob a curva de SUV quando comparados aos benignos – utilizando como corte uma área sob a curva de 175,5, a sensibilidade seria de 100% e a especificidade de 44% para o diagnóstico de câncer. A sensibilidade, por sua vez, seria de 100% e a especificidade de 33% para um valor de corte de SUV de 2,7 após 60 minutos da injeção e de 39% para um valor de corte

de SUV de 2,9 após 120 minutos da injeção.

Em vista dos resultados discutidos acima, concluímos que o critério de presença de captação focal ao exame de PET-FDG tem se mostrado de alta sensibilidade para o diagnóstico de carcinomas de tireóide não incidentais e maiores que 1 cm. Em vista do número de nódulos malignos avaliados até o momento, a sensibilidade estaria acima de 90%. Entretanto, resultados falso-negativos podem ocorrer e, portanto, o exame não pode afastar totalmente a possibilidade de um carcinoma de tireóide.

A sensibilidade da PET-FDG no diagnóstico de carcinoma de tireóide parece ser menor em pacientes com microcarcinomas incidentais, embora não existam estudos conduzidos com esse objetivo. No estudo de Mitchell et al³⁴, houve a identificação de vários microcarcinomas incidentais sem qualquer captação de FDG; Adler et al¹² descreveu um microcarcinoma incidental de 0,8 cm que não foi identificado à PET-FDG e Hales et al⁴¹ relatou um microcarcinoma de 0,1 cm com resultado falso-negativo. Traugott e cols.⁴² identificaram 2 pacientes com microcarcinomas não incidentais sem captação de FDG. Yun et al⁴⁶ avaliou 87 pacientes com microcarcinoma papilífero e identificou que somente 53% deles apresentavam captação aumentada de FDG à PET-TC. A captação de FDG nesses tumores, porém, correlacionou-se com metástases linfonodais e com extensão extra-tireoidiana dos mesmos, sugerindo que possa ter um fator prognóstico. No presente estudo, 5 pacientes apresentaram microcarcinomas incidentais, porém todos eles já apresentavam presença de captação focal de FDG das lesões as quais a PET se propunha a avaliar.

Um dado relevante em nosso estudo foi que a medida da SUVmax não

contribuiu para aprimorar a especificidade da PET-FDG. Tal resultado também já foi verificado em outros estudos^{37, 38}. Dessa forma, essa medida parece não auxiliar na distinção entre nódulos tireoidianos benignos e nódulos malignos além do que já contribui a avaliação da presença de captação focal de FDG no leito tireoidiano. Ressalta-se que os valores de SUVmax que se correlacionaram com a presença de captação focal nos exames de PET-FDG têm sido variáveis. A variabilidade decorrente de diferenças na metodologia da aferição da SUVmax, de diferentes equipamentos e do efeito de volume parcial podem contribuir para essas diferenças⁴⁷. Por isso, não se recomenda que a medida da SUVmax seja utilizada como único fator na discriminação entre lesões malignas e benignas³⁷.

6.1.2 Especificidade na avaliação de nódulos de tireóide com citologia indeterminada

A especificidade da PET-FDG na avaliação de nódulos de tireóide no presente estudo foi de 42%, sendo de 39% no subgrupo de pacientes com nódulos com resultado citológico indeterminado. A especificidade do achado de captação focal à PET-FDG de tireóide na avaliação de nódulos com citologia indeterminada tem sido bastante variável nos diversos estudos (Tabela 5). Os quatro maiores estudos apresentaram especificidades de 66%³⁷, 56%¹¹ e 0%^{38, 39} para presença de captação focal. Há ainda os estudos com PET-TC de Mitchell et al⁴⁰, cuja especificidade seria de 39%, considerando-se como critério diagnóstico a presença de qualquer captação de FDG pelo nódulo (SUV>0), aquele de Hales et al⁴¹, cuja

especificidade foi de 50% e aquele de Tragoutt et al⁴², cuja especificidade seria de 61%. Ainda não está bem definida a razão destas diferenças entre os estudos referentes à especificidade, especialmente em relação ao estudo de Kim et al³⁸ e Smith et al³⁹, onde todos os pacientes com nódulos benignos apresentaram captação focal em leito tireoidiano à PET. Uma possibilidade seria a presença de diferenças ambientais (como diferente ingestão de iodo) ou étnicas entre as populações avaliadas, que poderiam se refletir em perfis distintos, nos nódulos tireoidianos benignos, de expressão de genes com papel na captação (GLUT) e armazenamento (hexoquinase) da FDG no espaço intracelular. Outras possibilidades seriam diferenças na técnica de execução da PET-FDG e na seleção de pacientes para os estudos. Uma possibilidade referente ao estudo de Smith et al³⁹, aventada pelos próprios autores, seria o tempo de aquisição substancialmente maior de dados, sendo observadas as imagens até 2 horas, enquanto os estudos habitualmente a avaliaram até 1 hora. Variabilidade na interpretação pelos examinadores também poderia levar a diferentes resultados. Deve-se ressaltar, porém, que, no nosso estudo, onde 2 examinadores avaliaram independentemente a PET-FDG quanto à presença de captação focal no leito tireoidiano, a concordância foi de 100% para esse achado.

6.1.3 PET-FDG na avaliação de nódulos de tireóide em pacientes com tireoidite autoimune crônica

Outro dado interessante é o efeito da coexistência de TAC em um paciente submetido ao exame de PET-FDG. Diversos estudos já descreveram aumento da concentração de FDG na tireóide, na maioria dos casos apresentando um padrão

difuso de captação^{48, 49}, mas também observaram padrão de captação focal^{45, 50}, semelhante ao encontrado em nódulos tireoidianos. No presente estudo, de um total de 13 pacientes com TAC, 2 apresentaram resultado falso-positivo (presença de captação focal) devido exclusivamente à TAC, uma vez que não apresentavam ao exame histopatológico nódulos tireoidianos de outra natureza. A possibilidade de que TAC tenha sido responsável pelo achado de captação focal em outros pacientes não pode ser totalmente excluída. Entretanto, essa possibilidade é pouco provável, uma vez que em todos os outros pacientes com nódulo de tireóide e TAC onde foi identificada captação focal, a localização e as dimensões dessa captação foram compatíveis com aquelas dos nódulos identificados à ultrassonografia. A seguir, estão descritos os achados nos três principais pacientes com carcinoma e TAC onde essa possibilidade poderia ser aventada:

- (1) Paciente número 32, do Anexo 3: apresentava um carcinoma de 3,0 cm em lobo D, associada à captação difusa de FDG e TAC. Apresentava captação difusa de FDG e extensa área hipercaptante na topografia da região superior do lobo direito com SUV de 3,8, a mesma onde se localizava o nódulo tireoidiano.
- (2) Paciente número 44, do Anexo 4: apresentava um microcarcinoma no terço médio do lobo esquerdo da tireóide, de 0,8 cm, e apresentou à PET-FDG presença de captação focalmente aumentada apenas nessa região da tireóide.
- (3) Paciente número 50, do Anexo 4: apresentava dois microcarcinomas localizados em lobo esquerdo e, à PET, foram identificadas apenas 2 áreas de captação focalmente aumentadas de FDG, ambas no lobo esquerdo.

Na eventualidade de captação difusa intensa, deve-se considerar que um nódulo maligno com captação aumentada poderia não ser identificado e, nesse caso, o exame não conseguiria afastar a presença de um carcinoma (exame com menor sensibilidade). Uma solução para esses casos poderia ser a realização da PET-TC em vez da PET-FDG, onde o nódulo pode ser avaliado sem a interferência da captação presente no restante do parênquima tireoidiano. Porém, se essa infiltração linfocitária se estender ao nódulo, a PET-TC também poderia gerar um resultado falso-positivo. Em nosso estudo, a sensibilidade para o diagnóstico de câncer de tireóide foi idêntica, de 100%, entre os pacientes com e sem diagnóstico histológico de TAC.

6.1.4 Outros fatores pesquisados quanto à associação com malignidade na população estudada

Alguns autores demonstraram que a prevalência de carcinomas de tireóide em pacientes com TAC é aumentada^{25, 26}, mesmo naqueles submetidos à tireoidectomia onde o diagnóstico de câncer não havia sido aventado na avaliação pré-operatória⁵¹. Em nosso estudo, entretanto, não foi encontrada associação estatística entre a presença de TAC ao exame histopatológico com o diagnóstico de carcinoma de tireóide, embora a amostra fosse pequena. TAC ocorreu em 8 de 19 pacientes (42%) com carcinoma não incidental no exame histopatológico e em 5 de 26 pacientes (19%) sem malignidade ($p=0,09$). Incluindo os carcinomas incidentais na análise, não há alteração significativa no resultado - TAC esteve presente em 8 de 22 pacientes (36%) com carcinoma e em 5 de 23 pacientes (22%) sem carcinoma.

Dos parâmetros clínicos, laboratoriais, ultrassonográficos e histopatológicos, o único que foi associado com malignidade no subgrupo de pacientes com citologia indeterminada foi a idade. Os pacientes com nódulos malignos apresentaram média de idade inferior àqueles com nódulos benignos. Tal associação, entretanto, não foi observada em diversos outros estudos⁵²⁻⁵⁴. Sabe-se que adolescentes ou crianças têm, na presença de um nódulo tireoidiano, risco maior de apresentarem um carcinoma.³ Porém, no presente estudo, havia apenas 2 pacientes com menos de 20 anos de idade (18 e 19 anos, respectivamente, sendo que somente o segundo apresentou carcinoma de tireóide). Logo, a inclusão de adolescentes no presente estudo não foi determinante para o achado dessa associação. Uma vez que a literatura não é concordante com esses achados, é possível que tal associação tenha sido encontrada devido ao acaso no presente estudo, pelas múltiplas análises estatísticas realizadas.

Atualmente, reconhece-se que o risco de câncer em pacientes com multinodularidade é semelhante àquele de pacientes com nódulos tireoidianos únicos^{3, 55}. Dessa forma, os resultados do presente estudo, onde não houve significância estatística entre multinodularidade e câncer, estão de acordo com a literatura.

É reconhecido que as características dos nódulos à ultrassonografia relacionam-se com risco de malignidade de um nódulo^{3, 5, 43, 53}. No presente estudo, houve apenas uma tendência, dentre os nódulos completamente sólidos, daqueles hipoeogênicos terem um risco maior de malignidade do que aqueles isoecogênicos ou hipereogênicos. Não houve diferença significativa entre os nódulos sólidos e aqueles sólido-císticos. Contrariamente, outros estudos já relataram um risco

reduzido de câncer de tireóide em nódulos com componentes císticos³ e um risco aumentado de câncer em nódulos hipoeecogênicos⁶. O resultado dessa análise deve ser, porém, interpretado de forma cautelosa, uma vez que os laudos ultrassonográficos foram realizados por diferentes observadores, com o uso de diferentes aparelhos, em uma amostra relativamente pequena de pacientes. Além disso, em um paciente, portador de bócio multinodular, o nódulo puncionado não teve sua ecogenicidade descrita.

Concentrações aumentadas de TSH têm sido associadas a um maior risco de câncer de tireóide em pacientes com nódulos tireoidianos. Tal associação tem sido observada mesmo em pacientes com concentrações normais de TSH⁵⁷⁻⁵⁹. No nosso estudo, porém, não houve associação entre as concentrações de TSH e a prevalência de câncer de tireóide. Altas concentrações de anticorpo antitireoglobulina também já foram relacionadas a um maior risco de malignidade na avaliação de nódulos de tireóide⁵⁹, embora não tenham apresentado associação com malignidade no nosso estudo.

Nódulos de maior dimensão apresentam, em alguns estudos, um risco maior de serem malignos². Dentre os nódulos com citologia indeterminada do presente estudo, porém, houve apenas uma tendência de os nódulos malignos serem maiores ao exame histopatológico do que os benignos (mediana de 3,4 cm para os malignos e de 2,5 cm para os benignos, com $p=0,10$).

6.1.5 Marcadores imuno-histoquímicos possivelmente relacionados à captação de FDG

A captação de glicose e de FDG por uma célula depende principalmente da expressão dos GLUTs e da expressão das hexoquinases, enzimas que realizam a fosforilação da glicose. Desses transportadores, o mais estudado foi o GLUT 1.

6.1.5.1 GLUT 1

Estudos prévios já relataram aumento da expressão gênica de GLUT 1⁶⁰ e da imunoexpressão da proteína GLUT 1⁶¹ no carcinoma de tireóide em relação a lesões tireoidianas benignas, apoiando a premissa de que a PET-FDG pode ser útil na diferenciação de nódulos tireoidianos benignos daqueles malignos. Entretanto, esses resultados têm sido encontrados, predominantemente, em carcinomas indiferenciados de tireóide.⁶¹⁻⁶⁴

Haber e cols.⁶¹ realizaram um estudo retrospectivo com 38 lesões benignas e 28 cânceres de tireóide, investigando a expressão de GLUT 1, e encontraram sua expressão em 46% (incluindo 9 de 17 casos de carcinoma papilífero e 2 de 6 casos de carcinoma folicular) das amostras de tumores malignos de tireóide, o que não foi observado no tecido tireoidiano normal e no patológico benigno. Schönberger et al⁶² revelou, em estudo com imuno-histoquímica de 45 pacientes com carcinoma de tireóide, que os mesmos expressam GLUT 1, 2, 4 e 5, mas não o 3. A expressão de GLUT 2, 4 e 5 foi semelhante ao tecido tireoidiano normal. Nesse estudo, o GLUT 1 teve expressão aumentada em 84% dos carcinomas de tireóide, embora de forma mais intensa e localizado na membrana naqueles carcinomas pouco diferenciados. O

tecido tireoidiano normal não expressou GLUT 1. A expressão foi discreta nos carcinomas bem diferenciados e intensa nos pouco diferenciados.

Yasuda e cols.⁶⁵ relataram que 71% dos 129 carcinomas papilíferos apresentaram expressão aumentada de GLUT 1 à imuno-histoquímica, a maioria com predominância citoplasmática, enquanto somente 5% dos 60 carcinomas foliculares e nenhum dos 57 adenomas foliculares e 22 nódulos adenomatosos apresentaram essa alteração. Concluíram, assim, que a expressão de GLUT 1 poderia ajudar na diferenciação entre carcinomas papilíferos e foliculares.

Há 3 estudos, porém, que, assim como o nosso, não encontraram imunoexpressão de GLUT 1 de forma significativa em carcinomas de tireóide bem diferenciados. Kim YW e cols.⁶³ não identificaram, durante avaliação em 86 casos de câncer de tireóide, imunoexpressão de GLUT 1 nos 60 carcinomas que eram bem diferenciados. Chandan e cols.⁶⁶, em um estudo com imuno-histoquímica em “cell blocks” de punção aspirativa por agulha fina, também não encontraram expressão de GLUT 1 tanto em carcinomas quanto em lesões benignas tireoidianas. Kim e cols.⁶⁷ avaliaram 14 pacientes com carcinomas papilíferos descobertos incidentalmente por serem captantes de FDG à PET-TC e identificaram imunoexpressão de GLUT 1 em apenas 1 paciente, de intensidade fraca.

Hooft e cols.⁶⁸, por sua vez, também não encontraram, no exame histológico em 36 pacientes com nódulos com resultado citológico indeterminado (12 benignos e 24 malignos à avaliação histopatológica), associação entre a expressão de GLUT 1 com malignidade. Nele, 42% dos nódulos benignos e 58% dos nódulos malignos apresentaram imunoexpressão de GLUT 1.

Hoofst e cols.³⁶ compararam a captação de FDG por carcinomas bem diferenciados de tireóide metastáticos com a imunoexpressão de GLUT 1. Mesmo nesses pacientes houve imunoexpressão fraca ou ausente de GLUT 1 em 47% (9 de 19) das metástases de carcinomas avaliados. GLUT 1 não se associou de forma significativa com a captação de FDG pelas metástases. Jung e cols.⁶⁴ revelaram, por outro lado, que as metástases cervicais de carcinoma de tireóide exibem uma imunoexpressão maior de GLUT 1 do que o tumor primário em mais da metade das vezes. Dessa forma, resultados de estudos com metástases de carcinoma de tireóide não podem ser generalizados para o tumor primário. Neste estudo, de 24 carcinomas de tireóide primários, 8 apresentaram imunoexpressão positiva, 7 fraca e 9 negativa.

No nosso estudo, observamos que, dos 45 pacientes avaliados, apenas 3 nódulos, todos benignos, apresentaram expressão de GLUT 1 em menos de 10% das células. Em conjunto, embora haja alguns estudos com resultados conflitantes na literatura, esses resultados sugerem que a imuno-histoquímica para GLUT 1 não auxilia na avaliação de nódulos tireoidianos com citologia indeterminada. O presente estudo sugere ainda que a expressão de GLUT 1 não é responsável pela captação anormalmente aumentada de FDG observada nos nódulos de tireóide malignos e em parte dos nódulos benignos.

6.1.5.2 GLUT 3

Imunoexpressão de GLUT 3 foi identificada na minoria (16%) dos nódulos, sendo que na maior parte destes esteve presente em menos de 10% das células. Tais resultados são semelhantes ao estudo de Schönberger et al⁶², que encontrou, em

imuno-histoquímica de 45 pacientes com carcinoma de tireóide, que os mesmos expressam GLUT 1, 2, 4 e 5, mas não o 3. Kim e cols.⁶⁷, por sua vez, avaliaram 14 pacientes com carcinomas papilíferos descobertos incidentalmente por serem captantes de FDG à PET-TC e identificaram imunoexpressão de GLUT 3 em apenas 5 pacientes, que não se relacionou com os resultados de SUVmax.

Matsuzu et al⁶⁰ e Ciampi et al²⁷ por sua vez, não identificaram, por transcrição reversa-reação de cadeia de polimerase (RT-PCR), uma expressão maior de RNA mensageiro em nódulos tireoidianos malignos em relação ao tecido tireoidiano normal. Neste último estudo²⁷, GLUT 3 foi a isoforma mais expressa no tecido tireoidiano normal.

Expressão aumentada de Glut 3 em tecido tumoral tireoidiano foi encontrada apenas em estudos com linhagens de células^{27,69}. Nas linhagens de células WRO (de carcinoma folicular de tireóide), houve expressão aumentada de GLUT 3 à RT-PCR²⁷. Na linhagem ML-1, também de carcinoma folicular, houve expressão de GLUT 3, mas não de GLUT 1, por Western Blot⁶⁹. Como já demonstrado⁷⁰, porém, modelos “in vitro” podem não ser representativos do que ocorre “in vivo”, uma vez que linhagens celulares de carcinoma bem diferenciado de tireóide podem se desdiferenciar como consequência da evolução a longo prazo “in vitro”.

6.1.5.3 Hexoquinases

A expressão do gene da hexoquinase, importante regulador da concentração celular de FDG, é um forte candidato a contribuir para a diferença de captação de FDG encontrada em nódulos benignos e malignos. Já se demonstrou que a

imunoexpressão dessa proteína pode se relacionar com a captação de FDG em carcinomas de tireóide³⁶, embora estudos sobre esse tema ainda sejam escassos. Além disso, estudo⁷¹ da década de 80 mostrou que a atividade da hexoquinase é consistentemente aumentada nos carcinomas de tireóide em relação ao tecido tireoidiano normal. Nesse estudo, os adenomas foliculares apresentaram padrão de expressão bastante variável. Um grupo apresentou atividade aumentada semelhante ao dos carcinomas, outro apresentou atividade reduzida semelhante ao tecido tireoidiano normal e outro apresentou atividade intermediária⁷¹. O grupo de adenomas que tinha maior expressão de hexoquinase apresentava marcadores histológicos sugestivos de menor diferenciação e maior proliferação celular. Por outro lado, o grupo que tinha menor expressão dessa enzima apresentava marcadores de maior diferenciação e menor proliferação celular.

Hooft e cols.⁶⁸ encontraram, no exame histológico em 36 pacientes com nódulos com resultado citológico indeterminado (12 com resultado histopatológico benigno e 24 maligno), um aumento da expressão à imuno-histoquímica da hexoquinase 3 em 79% dos pacientes com carcinoma de tireóide, enquanto nenhum paciente com lesão benigna apresentou o mesmo (sensibilidade de 79% e especificidade de 100%). A hexoquinase 1 também foi significativamente mais positiva nos carcinomas que nas lesões benignas, embora de uma forma menos significativa que a hexoquinase 3. A hexoquinase 2 teve apenas uma tendência de maior frequência de positividade nos carcinomas.

Em 14 pacientes com carcinomas papilíferos descobertos incidentalmente por serem captantes de FDG à PET-TC, houve imunoexpressão de hexoquinase 2 em apenas 3 pacientes, não sendo a mesma associada a maiores valores de SUVmax⁶⁷.

Em outro estudo⁶⁴, imunoexpressão de hexoquinase 2 esteve presente em todos os 24 carcinomas de tireóide (21 dos quais eram bem diferenciados), sendo considerada de intensidade fraca em 8 deles.

No nosso estudo, não houve correlação positiva entre a imunoexpressão da hexoquinase pelos nódulos tireoidianos com a captação aumentada de FDG e com a presença de malignidade. A hexoquinase 3 foi expressa em mais de 50% das células em todos os nódulos, embora a intensidade da expressão tenha sido fraca na maioria deles. Já a hexoquinase 2 foi expressa em 58% dos nódulos avaliados, sendo que na maioria deles ocorreu em menos de 10% das células epiteliais.

Hooft e cols.³⁶ compararam a captação de FDG por carcinomas bem diferenciados de tireóide recorrentes com a imunoexpressão de hexoquinas. A imunoexpressão dessas hexoquinas esteve fraca ou ausente em quase metade das metástases de carcinoma de tireóide. Não encontraram, ainda, associação entre a expressão de hexoquinase 2 e de hexoquinase 3 com a captação de FDG à PET. Nesse estudo, apenas a expressão de hexoquinase 1, a qual não foi avaliada no nosso estudo, se associou com a captação de FDG pelos nódulos malignos.

6.1.5.4 GLUT 12

A expressão de GLUT 12, em tecidos adultos normais, é restrita principalmente a músculo esquelético, coração e gordura.²⁹

Estudos avaliando a expressão de GLUT 12 em tecido tireoidiano normal e em lesões tireoidianas nunca foram publicados. Em um estudo, Rogers et al.⁷² encontraram, na imuno-histoquímica e em RT-PCR, expressão de GLUT 12 em 8 de

10 carcinomas de mama invasivos, além de carcinomas de células ductais in situ. A expressão pela imuno-histoquímica nos ductos benignos foi menos intensa, com poucas células coradas positivamente.

Em carcinoma de próstata, foi demonstrado que a expressão de GLUT 12 é aumentada, embora a mesma não ocorra usualmente na hiperplasia prostática benigna ou em tecido normal.⁷³ As únicas células de hiperplasia prostática benigna onde a expressão de GLUT 12 foi encontrada foram naquelas circundantes dos ductos cancerígenos, sendo aventada a hipótese de que essas células pudessem já estar em processo de transformação maligna.⁷³

Esses resultados na avaliação de tumores de mama e de próstata tornaram o GLUT 12 um potencial marcador de neoplasias malignas. Dessa forma, o estudo de sua expressão no parênquima tireoidiano normal e em nódulos de tireóide foi também o alvo do presente estudo. Nessa avaliação inédita, observou-se que o GLUT 12 é expresso pelo parênquima tireoidiano normal em 95% das vezes em mais da metade das células foliculares. Em 87% das vezes, entretanto, essa expressão foi de intensidade fraca. A imunoexpressão de GLUT 12 também ocorreu, em mais da metade das células epiteliais dos nódulos, em 96% dos casos. Dois terços desses nódulos com algum grau de imunoexpressão de GLUT 12 apresentaram-na com intensidade fraca. Não houve, ainda, associação entre a presença de captação de FDG pelo nódulo ou de malignidade tireoidiana com a imunoexpressão de GLUT 12. Dessa forma, apesar dos resultados promissores em relação ao câncer de mama⁷² e de próstata⁷³, a expressão de GLUT 12 não é maior nos nódulos tireoidianos malignos do que nos benignos. A expressão de GLUT 12 também não se associou à captação de

FDG dos nódulos ou do parênquima tireoidiano normal e, por isso, parece não ter papel determinante na captação desse radiofármaco.

6.1.6 Perspectivas e limitações da PET-FDG na avaliação de nódulos de tireóide

6.1.6.1 Seleção de pacientes

Existe um grande número de trabalhos estudando a utilização desse exame na avaliação pré-operatória de nódulos de tireóide com citologia indeterminada. Entretanto, o número total de pacientes estudados ainda é relativamente pequeno e pelo menos dois dos estudos não foram capazes de diferenciar nódulos benignos de malignos^{38,39}. Portanto, embora os resultados em conjunto possam ser promissores, principalmente pela alta sensibilidade demonstrada, novos estudos com diferentes populações e maior número de pacientes são necessários para confirmar a alta sensibilidade e melhor definir a especificidade.

A realização da cintilografia de tireóide com ^{131}I , não utilizada no presente estudo, como avaliação prévia de pacientes com nódulos de tireóide com citologia indeterminada, poderia contribuir para uma melhor seleção de pacientes para a realização da PET-FDG. Isso se aplicaria principalmente para pacientes com valores de TSH suprimidos ou normais baixos. Alguns autores sugerem que para pacientes com valores normais de TSH, a cintilografia seria mais útil em áreas deficientes de iodo, onde os valores de TSH menos comumente estão suprimidos em pacientes com

nódulos tireoidianos autônomos³. Nódulos autônomos, ou seja, quentes à cintilografia, costumam apresentar mutações do receptor do TSH^{74, 75} ou da proteína G⁷⁶ que levam à ativação constitutiva dessa via. São quase que invariavelmente benignos, não requerendo avaliação adicional à procura de malignidade na maioria das vezes³. Por sua vez, a captação de glicose e de FDG pelo nódulo parece, em parte, ser dependente da ação estimulatória da via de sinalização do receptor do TSH⁷⁷. Assim, adenomas foliculares autônomos, com mutação do receptor do TSH ou da proteína G, apresentariam captação aumentada de FDG, levando a um padrão de captação focal à PET-FDG, como já relatado por Boerner et al⁷⁸. Dessa forma, isso acarretaria um resultado falso-positivo à PET-FDG. Portanto, a PET-FDG não está recomendada para avaliação de nódulos autônomos.

6.1.6.2 Relação custo-benefício da PET-FDG

O custo alto do exame e a disponibilidade limitada a poucos centros em países em desenvolvimento dificultam, no momento, uma maior utilização da PET-FDG com a finalidade de avaliar pacientes com nódulos de tireóide com citologia indeterminada. Também seria necessário definir com quais exames e com que periodicidade seguir um paciente com exame de PET-FDG normal. Dessa forma, análises de custo poderiam determinar se a introdução desse exame na avaliação rotineira de pacientes com nódulos tireoidianos com citologia indeterminada representaria um aumento ou redução do custo final no manejo desses pacientes. Atualmente, pacientes com citologia indeterminada cujos nódulos mostram-se benignos ao exame histopatológico geram um alto custo para o sistema de saúde,

considerando a frequência dessa entidade e os gastos decorrentes de internação, cirurgia, tratamento de eventuais complicações cirúrgicas (como, por exemplo, o hipoparatiroidismo e a disfonia) e reposição de levotiroxina a longo prazo, que uma parcela dos pacientes necessita após tireoidectomia parcial.

6.1.6.3. Presença de captação anômala incidental em outros sítios

Em exame de PET-FDG com a finalidade de avaliação de nódulo de tireóide, presença de captação anômala incidental em sítios extra-tireoidianos pode eventualmente ocorrer. Com isso, diagnósticos adicionais de importância clínica podem ser realizados. Por outro lado, exames adicionais podem ser necessários para avaliar pacientes sem doenças clinicamente importantes, levando a um incremento dos custos. No presente estudo, dos 65 pacientes que realizaram a PET-FDG, foi necessário exame adicional devido a alterações significativas incidentais à PET em 2 pacientes. Um apresentou presença de captação focal em região mediastinal e não apresentou carcinoma de tireóide ao anátomo-patológico. Sua tomografia de tórax com contraste foi normal. Outro paciente apresentou uma área focal com ausência de captação fisiológica em um hemisfério cerebelar, sendo diagnosticada uma neoplasia cística à tomografia computadorizada, havendo necessidade de ressecção cirúrgica.

6.1.7 Perspectivas e limitações dos marcadores moleculares relacionados à captação de glicose na avaliação de nódulos de tireóide

É ainda necessário melhor definir quais características gênicas levariam à maior frequência de captação de FDG por nódulos malignos de tireóide. Conhecer-las teria o potencial de auxiliar, através de técnicas de biologia molecular ou de imunocitoquímica, a afastar ou confirmar o diagnóstico de malignidade no material de citologia realizada por PAAF e no exame histopatológico de lesões tireoidianas foliculares.

Os resultados de nosso estudo sugerem que nenhum dos marcadores estudados (GLUT 1, GLUT 3, GLUT 12, hexoquinase 1 e hexoquinase 2) seja responsável pela diferente captação de FDG pelos nódulos tireoidianos benignos e malignos bem diferenciados em relação ao parênquima tireoidiano não nodular. A gama de transportadores de glicose é bastante ampla e é possível que outros tipos de GLUT, não avaliados no presente estudo, possam ser responsáveis pela diferente captação de FDG verificada nos nódulos. Outros subtipos de hexoquinase (1 e 4) também não foram testados, podendo ser responsáveis pela captação de FDG. Expressão diminuída da glicose 6 fosfatase, que desfosforila a glicose 6 fosfato, já foi observada em alguns tecidos tumorais.²⁸ Essas alterações na atividade dessas enzimas poderiam resultar em um acúmulo de FDG nas células cancerígenas independentemente da captação de glicose pelos GLUTs.

É provável ainda que cada nódulo de tireóide com captação de FDG aumentada apresente hiperexpressão de diferentes GLUTs e/ou hexoquinases, sendo que um padrão não possa ser identificado. Como exemplo, o paciente que apresentou

nódulo com o maior valor de SUV (paciente número 31 do Anexo 2) foi também o único que apresentou imunoeexpressão de intensidade forte da hexoquinase 3 e foi um dos cinco que apresentou imunoeexpressão de intensidade forte do GLUT 12 (figuras 11 e 14) . O mesmo paciente, porém, não apresentou imunoeexpressão da hexoquinase 2 (figura 12). Esse padrão, porém, não se repetiu em outros nódulos com captação de FDG aumentada.

A maior expressão de hexoquinase 2 por nódulos benignos e por nódulos não ávidos por FDG não foi descrita em outros estudos. Considerando que a hiperexpressão de hexoquinase levaria a um aumento na captação de FDG pelas células, provavelmente as neoplasias malignas de tireóide hiperexpressam outro tipo de hexoquinase (tipo 1 ou tipo 4), não avaliada em nosso estudo. É possível que a hexoquinase 2 seja expressa preferencialmente por lesões benignas, as quais mais frequentemente não são ávidas por FDG, enquanto outro subtipo de hexoquinase seja mais expressa nas células malignas. Considerando, porém, que outros autores⁶⁸ não identificaram esse padrão de expressão e que múltiplas análises foram realizadas no nosso estudo, não se pode também afastar a possibilidade de que o acaso tenha determinado essa diferença estatística.

6.2 Captação difusa no leito tireoidiano à PET-FDG

No presente estudo, demonstramos que a presença de captação difusa no leito tireoidiano associou-se de forma estatisticamente significativa ao achado de TAC no exame histopatológico, embora agregue pouco valor à dosagem dos autoanticorpos

tireoidianos. A mesma, por outro lado, não se associou à maior imunoexpressão dos marcadores imuno-histoquímicos avaliados. Estudos prévios evidenciaram que a prevalência de tireoidite de Hashimoto de acordo com diagnóstico clínico é aumentada em pacientes com captação difusa^{20, 22} ou bilateral²¹ de FDG no leito tireoidiano. Estudos de caso-controle^{10, 48} também já mostraram que TAC diagnosticada clinicamente é mais freqüente naqueles pacientes com captação difusa de FDG no leito tireoidiano. O nosso estudo, porém, foi o primeiro a avaliar e confirmar que a captação difusa de FDG no leito tireoidiano é mais comum nos pacientes com diagnóstico histopatológico de TAC bem caracterizado.

A presença de captação difusa de FDG em parte dos pacientes com TAC não levou a uma menor sensibilidade no diagnóstico de carcinoma de tireóide nesses pacientes. Dessa forma, foi possível, nesses casos, evidenciar uma captação focalmente aumentada de FDG na região do lobo onde se localizava o nódulo a ser avaliado nesses pacientes, mesmo quando havia a presença de captação de fundo no leito tireoidiano. Dos cinco pacientes com TAC que apresentaram o nódulo puncionado com diagnóstico histopatológico final benigno (pacientes número 14, 16, 19 e 28 do Anexo 2 e paciente número 56 do Anexo 5), apenas 1 não apresentou presença de captação focal de FDG. Considerando-se o número pequeno de pacientes com nódulos benignos onde havia a coexistência de TAC, não é possível tecer conclusões a respeito de uma possível menor especificidade da PET-FDG quando utilizada na avaliação de nódulos tireoidianos em pacientes portadores de TAC.

Um importante achado no presente estudo foi que cinco pacientes com captação difusa de FDG no leito tireoidiano não apresentaram evidência de anormalidade tireoidiana difusa sugestiva de TAC ou mesmo de infiltrado

linfocitário. Isso mostra que alguns pacientes podem ter captação difusa de FDG no leito tireoidiano mesmo sem apresentarem anormalidades tireoidianas difusas como TAC ou bócio multinodular sem parênquima tireoidiano residual normal. Dessa forma, corrobora com a visão introduzida por alguns autores^{23, 24} de que algumas vezes a presença de captação difusa de FDG no leito tireoidiano pode ser encontrada em pacientes sem doenças tireoidianas aparentes. Matsuzu et al⁶⁰ encontrou uma expressão variável de RNA mensageiro de diferentes tipos de GLUT no tecido tireoidiano normal. Alguns desses pacientes mostraram expressão gênica aumentada de GLUT 1, GLUT 3, GLUT 4 e/ou GLUT 10 no tecido tireoidiano normal avaliado por RT-PCR. Essa variabilidade na expressão desses genes poderia levar a uma captação de FDG aumentada na tireóide de alguns pacientes, a qual poderia ser responsável pelo achado de captação difusa de FDG verificada no presente estudo em cinco pacientes sem infiltração linfocitária. Entretanto, na avaliação imuno-histoquímica que realizamos dos marcadores GLUT 1, GLUT 3, GLUT 12, hexoquinase 2 e hexoquinase 3, não houve associação entre a presença de captação difusa de FDG no leito tireoidiano e a imunoexpressão desses marcadores. Dessa forma, os resultados encontrados não corroboram para essa hipótese na população de pacientes estudados. Entretanto, considerando a existência de outros tipos de GLUT e de hexoquinases, não se pode afastar a possibilidade de que a hiperexpressão de algum desses outros marcadores possa se relacionar com tal achado.

Não existiam estudos prévios na literatura comparando a imunoexpressão de marcadores relacionados à absorção de glicose e FDG pelas células tireoidianas com a presença de captação difusa de FDG pelo leito tireoidiano. Enquanto o GLUT 1 não foi expressado pelas células tireoidianas foliculares, houve expressão frequente

de hexoquinase 3, na maioria das vezes em intensidade fraca. Hexoquinase 2 foi expressa no parênquima tireoidiano normal na minoria dos pacientes.

Deve-se ressaltar que não existem descrições prévias da expressão de GLUT 12 em tecido tireoidiano na literatura. Nesse estudo, foi demonstrado que as células foliculares do tecido tireoidiano não nodular frequentemente apresentam expressão de GLUT 12, embora esta seja de intensidade fraca. A importância da expressão de GLUT 12 na célula tireoidiana folicular é ainda desconhecida.

Na presente série, uma porcentagem alta de pacientes apresentou infiltrado linfocitário e TAC no exame histopatológico final (44% e 29%, respectivamente). Em outros estudos, algum grau de infiltrado linfocitário também foi frequentemente encontrado no exame histopatológico: 40 a 45% das mulheres e 20% dos homens nos Estados Unidos e Inglaterra apresentam algum grau de tireoidite focal à autópsia^{33, 79}. Quando uma tireoidite mais intensa é considerada (mais de 40 focos por centímetro quadrado), a prevalência declinou para 5 a 15% nas mulheres e 1 a 5% nos homens nesses estudos^{33, 79}. Em nosso estudo, essa prevalência foi de 24%, valor maior do que das séries anteriores.

A população estudada, entretanto, apresenta duas características que poderiam explicar uma prevalência mais alta de TAC. Em primeiro lugar, foi verificada alta ingestão de iodo pela população brasileira durante o período do estudo¹⁸, o que é associado a uma prevalência aumentada de infiltrado linfocitário tireoidiano e TAC⁸⁰. Em segundo lugar, a imensa maioria dos pacientes da presente série era do gênero feminino, o que contribui para explicar uma prevalência consideravelmente maior de infiltrado linfocitário tireoidiano e TAC^{33, 79}.

O percentual de pacientes com captação difusa de FDG foi consideravelmente maior no presente estudo (29%) do que em qualquer outro^{9, 10, 20, 22, 48, 81-83}. Mesmo excluindo-se pacientes com algum grau de infiltrado linfocitário no exame histopatológico, a prevalência de captação difusa continua sendo consideravelmente alta (20%). Yasuda et al⁴⁸ e Karantanis et al¹⁰ encontraram, respectivamente, uma prevalência de 3,3% e 2,9% desse achado na população geral. Outros estudos^{22, 81, 82}, que excluíram pacientes com qualquer história prévia de doença tireoidiana, encontraram prevalências ainda menores (de 0,6 a 1,8%). Um único estudo⁸³, em uma população com alta prevalência de TAC, encontrou, assim como o nosso, uma prevalência alta (20%) de captação difusa de FDG no leito tireoidiano. As razões para essas diferenças na prevalência com os outros estudos são provavelmente várias. Podem estar relacionadas ao fato de que estudamos uma população com doença tireoidiana conhecida (nódulos de tireóide), diferentemente de outros estudos^{9, 10, 20, 21, 22, 48}. Critérios diferentes para o diagnóstico de captação difusa de FDG no leito tireoidiano e a subjetividade inerente a essa avaliação provavelmente também têm um papel. No presente estudo, esse achado foi considerado presente quando captação difusa de FDG na loja tireoidiana era capaz de definir as bordas da glândula, evidenciando captação acima dos tecidos responsáveis pela radiação de fundo. Kurata et al²⁰ descreveu o critério utilizado como o achado de “captação de FDG na glândula tireoidiana inteira”; Karantanis et al¹⁰ não definiu claramente como classificou os pacientes como portadores de captação difusa de FDG no leito tireoidiano; Yasuda et al⁴⁸ definiu como “captação difusa aumentada de FDG na tireóide”.

A maioria dos pacientes que foram classificados como tendo captação difusa de FDG no leito tireoidiano apresentavam-na de forma discreta no presente estudo. Uma possibilidade é de que esse achado não tenha sido considerado como anormal nos demais estudos. Nakamoto et al⁹, por exemplo, consideraram normal uma captação de FDG baixa ou ausente na glândula tireóide, o que ocorreu em 97% dos pacientes, sem doenças tireoidianas conhecidas, de sua série. Assim, é possível que pacientes classificados como portadores de captação difusa de FDG, de intensidade discreta, no leito tireoidiano, tenham sido classificados como normais em outros estudos. Em nosso estudo, a prevalência de captação difusa de FDG se reduziria para 13%, caso considerássemos apenas captação moderada ou intensa para o diagnóstico, e seria de 4,4% para captação difusa intensa. Deve-se, entretanto, ressaltar que a série de pacientes estudados não é própria para a avaliação de prevalência de nenhum desses achados na população geral, mas tem o intuito somente de correlacioná-los com o diagnóstico de infiltrado linfocitário e TAC. Isso decorre do fato de que existe um viés de seleção para essa análise, uma vez que pacientes com TAC podem ser mais susceptíveis a serem investigados quanto a nódulos. Esses pacientes com frequência já realizam exame ultrassonográfico de tireóide como parte do diagnóstico e/ou do seguimento. A própria TAC pode levar à formação de estruturas nodulares cuja citologia pode ter ocasionalmente resultado indeterminado, como ocorrido com a paciente número 28 do Anexo 2. Além disso, uma paciente com resultado citológico já diagnóstico de TAC foi incluída na análise.

Deve-se ressaltar ainda que, se a captação difusa leve de FDG no leito tireoidiano fosse considerada como normal no nosso estudo, a sensibilidade desse achado para o diagnóstico de TAC seria consideravelmente reduzida. Nesse caso, as

determinações de ATPO e ATG seriam consideravelmente mais sensíveis para o diagnóstico de TAC. Assim, a descrição de captação difusa discreta de FDG no leito tireoidiano durante exames de PET-FDG pode ajudar a identificar um maior número de pacientes com TAC e, conseqüentemente, possivelmente um maior número de pacientes em risco para ter ou desenvolver hipotireoidismo. Por outro lado, como 20% dos pacientes sem infiltrado linfocitário apresentaram tal achado na presente série, revelando uma baixa especificidade, muitos pacientes sem doenças tireoidianas poderiam requerer avaliação e seguimento adicionais. A identificação de uma TAC com expressão exclusivamente do ponto de vista histopatológico também pode ter pouco significado clínico para o paciente.

Embora o presente estudo não tenha sido desenhado com poder suficiente para diferenciar a especificidade da captação difusa intensa de FDG no leito tireoidiano daquela menos intensa, é provável que a primeira tenha especificidade maior e que os pacientes identificados apresentem TAC com maior relevância clínica, como presença de hipotireoidismo, se não estiverem sob regime de suplementação com levotiroxina. Portanto, a descrição desse achado pode ser mais relevante do ponto de vista clínico. Essa suposição, entretanto, requer avaliação em novos estudos.

Considerando-se o que foi exposto, caso um paciente apresente de forma incidental captação difusa de FDG no leito tireoidiano, pode-se sugerir a realização de ATPO e ATG, se ainda não foram realizadas. Uma vez que essas determinações laboratoriais apresentam melhor desempenho para o diagnóstico de TAC, quando comparadas à presença de captação difusa de FGD no leito tireoidiano, a necessidade de exames adicionais (como ultrassonografia) e o seguimento poderiam ser definidos

de acordo com os seus resultados. Exame ultrassonográfico poderia ainda ser indicado se houver suspeita de nódulo tireoidiano ou alterações ao exame físico. Ressalta-se que a maioria dos pacientes com captação difusa de FDG no leito tireoidiano com ausência de anticorpos não apresenta TAC no exame histopatológico (Tabela 4).

Nosso estudo apresenta algumas limitações. Primeiramente, os resultados não podem ser estendidos para pacientes com hipotireoidismo cujas concentrações de TSH não tenham sido normalizadas pelo tratamento, uma vez que esses pacientes foram excluídos do estudo. Por outro lado, a existência de uma associação entre a presença de captação difusa de FDG no leito tireoidiano e TAC indica que concentrações séricas altas de TSH não são necessárias para que haja captação aumentada de FDG nos pacientes com TAC, como já demonstrado por Karantanis et al⁹ e Tateishi et al⁸³. Em segundo lugar, a população estudada não representa a população geral, mas pacientes com doença tireoidiana nodular para a qual a tireoidectomia foi recomendada. Na população geral, a prevalência de nódulo de tireóide é de 5% em mulheres e 1% em homens em áreas suficientes de iodo, com base na palpação². Mesmo utilizando-se exame ultrassonográfico de alta resolução, a prevalência varia de 19% a 67%². Entretanto, não seria eticamente possível conduzir um estudo nos quais pacientes sem uma indicação clara para tireoidectomia fossem encaminhados à mesma.

7. CONCLUSÕES

1. A PET-FDG apresenta alta sensibilidade (100% em nosso estudo) e baixa especificidade (39% em nosso estudo) no diagnóstico de câncer de tireóide na avaliação pré-operatória de nódulos tireoidianos com citologia indeterminada. A presença de TAC pode desencadear resultados falso-positivos. Resultados falso-negativos devido à TAC não foram identificados no estudo.

2. A presença de captação difusa de FDG no leito tireoidiano em pacientes com nódulos de tireóide está associada, na maior parte dos casos, à TAC no exame histopatológico final, mas pode ocorrer em pacientes com tireóide normal extra-nodular. Portanto, esse achado só deve ser valorizado nos pacientes com presença de autoanticorpos tireoidianos ou alterações sugestivas de TAC na ultrassonografia.

3. Não houve correlação entre a expressão imuno-histoquímica de GLUT 1, GLUT 3, GLUT 12, hexoquinase 2 e hexoquinase 3 nos nódulos tireoidianos com a captação de FDG e com o diagnóstico histopatológico.

8. PRODUÇÃO CIENTÍFICA

8.1 Publicações científicas

Sebastianes FM, Cerci JJ, Zanoni PH, Soares J Jr, Chibana LK, Tomimori EK, Camargo RYA, Izaki M, Giorgi MCP, Eluf-Neto J, Meneghetti JC, Pereira MAA. Role of ¹⁸F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography in preoperative assessment of cytologically indeterminate thyroid nodules. J Clin Endocrinol Metab 2007; 92:4485-8.

Sebastianes FM, Cerci JJ, Soares J Jr, Zanoni PH, Tomimori EK, Camargo RYA, Meneghetti JC, Pereira MAA. Avaliação Pré-Operatória com PET-¹⁸F-FDG de Nódulos de Tireóide com Citologia Indeterminada. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia 2008; 52 (7): 1176-84.

Sebastianes FM, Pereira MA, Cerci JJ. Letter: Fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography in cytologically indeterminate thyroid nodules. Am J Otolaryngol. 2009;30:291-292.

9. ANEXOS

Anexo 1: Características dos pacientes excluídos do estudo .

N	Idade/ Gênero	Características do nódulo à ultrassonografia	Máx diâm (cm) do nódulo	PET [#] / SUV _{max}	Motivo de exclusão do estudo
Citologia indeterminada					
57	F/62	Sólido isoecogênico	2,0	-/ 1,0	Concentração de TSH suprimida. No histopatológico, detectado bócio adenomatoso
58	F/64	Sólido hipoecogênico	0,5	-/1,0	Grande redução de diâmetro do nódulo (de 1,1 cm para 0,5 cm). Não foi tireoidectomizada
Citologia compatível com bócio adenomatoso					
59	F/56	Sólido-cístico	4,4	-/1,9	Más condições clínicas. Não foi tireoidectomizada
60	F/75	Sólido hipoecogênico	2,5	-/3,1	Citologia inicial indeterminada – repuncionada, citologia benigna. Não foi tireoidectomizada
61	F/60	Sólido hipoecogênico	1,3	+/6,1	Citologia inicial indeterminada – repuncionada, citologia benigna. Não foi tireoidectomizada
62	F/50	Multinodular isoecogênico	2,0	+/7,9	Más condições clínicas. Não foi tireoidectomizada
63	F/53	Sólido hipoecogênico	2,8	+/10,7	Citologia inicial indeterminada – repuncionada, citologia benigna. Não foi tireoidectomizada
64	F/61	Sólido hipoecogênico	3,0	+/13,9	Citologia inicial indeterminada – repuncionada, citologia benigna. Não foi tireoidectomizada
Citologia compatível com carcinoma papilífero					
65	F/83	Sólido hipoecogênico	2,0	+/25,0	Recusa da paciente em ser tireoidectomizada

N, número; M, masculino; F, feminino, Máx diâm, máximo diâmetro. [#] PET refere-se à presença de captação focal (+) ou ausência de captação focal (-).

Anexo 2: Pacientes com resultado citológico indeterminado e nódulos benignos ao exame histopatológico: características clínicas e laboratoriais e respectivos resultados de exame ultrassonográfico, histopatológico e de PET-FDG

N	Idade/ Gênero	Características do nódulo à USG	Diagnóstico Histopatológico	Máximo diâmetro (cm) do nódulo*	PET#/ SUV max	Uso de LT4 pré-op	Ecog parênq não nodular	ATPO (UI/L)	ATG (UI/L)	Infiltrado linfocitário (grau) ^{&}	Tireoidite de Hashimoto	Captação difusa de FDG
1	80 /F	Sólido hipo	Nódulo Ad	1.3	- / 1,0	0	NR	<35	<35	0	Não	Ausente
2	74/M	Sólido hipo	Nódulo Ad	5.4	- / 1,0	0	0	<35	<35	0	Não	Ausente
3	22/F	Sólido iso	Nódulo Ad	2.6	- / 1,0	0	0	NR	NR	NR	NR	NR
4	66/F	Sólido hipo	Nódulo Ad	3.5	- / 1,7	0	0	<35	142	1	Não	Ausente
5	51/F	Sólido-cístico	Nódulo Ad	2.3	- / 1,8	0	0	<35	<35	0	Não	Ausente
6	38/F	Sólido iso	Adenoma Fol	3.0	- / 1,8	0	0	<35	<35	0	Não	Ausente
7	66/F	Sólido hipo	Nódulo Ad	1.5	- / 1,9	0	NR	<35	<35	0	Não	Ausente
8	51/F	Sólido-cístico	Nódulo Ad	1.5	- / 2,4	0	0	<35	<35	2	Não	Ausente
9	18/F	Sólido iso	Nódulo Ad	2.4	- / 2,4	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR
10	22/F	Sólido iso	Adenoma Fol	2.0	- / 2,7	0	0	<35	<35	0	Não	Ausente
11	51/F	Sólido hipo	Nódulo Ad	1.5	- / 3,5	0	NR	<35	1152	2	Não	Ausente
12	37/F	Sólido-cístico	Nódulo Ad	4.8	+ / 3,7	0	0	<35	<35	0	Não	M
13	49/F	Sólido-cístico	Nódulo Ad	3.5	+ / 3,8	0	NR	<35	<35	NA	NA	D
14	50/F	Sólido hiper	Nódulo Ad	1.5	- / 3,9	0	NR	90	<35	3	Sim	Ausente
15	64/F	Sólido-cístico	Nódulo Ad	3.0	+ / 4,0	0	NR	<35	<35	NA	NA	M
16	43/F	Sólido hipo	Nódulo Ad	3.0	+ / 4,1	0	0	<35	<35	3	Sim	Ausente
17	47/F	Sólido iso	Nódulo Ad	3.5	+ / 4,5	0	0	895	40	0	Não	Ausente
18	23/M	Sólido hipo	Adenoma Fol	0.9	+ / 5,4	0	Hipo D	<35	<35	0	Não	Ausente
19	63/F	Sólido-cístico	Nódulo Ad	4.0	+ / 5,8	0	0	3000	776	4	Sim	Intensa
20	42/F	Sólido-cístico	Nódulo Ad	4.5	+ / 5,8	0	0	<35	<35	0	Não	Ausente
21	48/F	Sólido iso	Nódulo Ad	1.0	+ / 5,9	0	NR	<35	<35	0	Não	D
22	71/F	Sólido hipo	Nódulo Ad	3.5	+ / 9,8	50	0	<35	<35	0	Não	Ausente
23	39/F	Sólido iso	Adenoma Fol	2.0	+ / 9,9	0	0	<35	<35	NA	NA	Ausente
24	38/F	Sólido-cístico	Adenoma Fol	1.5	+ / 10,2	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR
25	30/F	Sólido hipo	Nódulo Ad	3.3	+ / 10,8	0	0	<35	<35	0	Não	Ausente
26	56/F	Sólido hipo	Nódulo Ad	2.5	+ / 12,5	25	0	35	637	1	Não	Ausente

continua

N	Idade/ Gênero	Características do nódulo à USG	Diagnóstico Histopatológico	Máximo diâmetro (cm) do nódulo*	PET#/ SUV max	Uso de LT4 pré-op	Ecog parênq não nodular	ATPO (UI/L)	ATG (UI/L)	Infiltrado linfocitário (grau) ^{&}	Tireoidite de Hashimoto	Captação difusa de FDG
27	30/F	Sólido hipo	Adenoma Fol	2.5	+/- 13,0	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR
28	65/F	Sólido hipo	Tireoidite de H	1.9	+/- 16,1	50	Hipo M	<35	<35	3	Sim	M
29	55/F	Sólido hipo	Adenoma O	1.1	+/- 21,7	50	Hipo M	<35	597	2	Não	M
30	44/F	Sólido hipo	Nódulo Ad	1.3	+/- 62,6	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR
31	61/M	Sólido hipo	Adenoma Fol	4.5	+/- 77,5	0	Hipo D	<35	<35	0	Não	Ausente

N, número; M, masculino; F, feminino; Ad, adenomatoso; Fol, Folicular; H, Hashimoto; O, oxifílico; NR, não realizada avaliação; NA, não avaliado (sem parênquima tireoidiano não nodular suficiente para avaliação); Ecog parênq, Ecogenicidade do parênquima; Hipo, hipoecogênico; Iso, isoecogênico; Hiper, hiperecogênico; D, discreta; M, moderada; USG, ultrassonografia. [#] PET refere-se à presença de captação focal (+) ou ausência de captação focal (-). * De acordo com exame histopatológico. [&] Conforme critérios de Williams e Doniach³³ (grau 0, nenhum; grau 1, leve; grau 2, moderada; grau 3, intensa; grau 4, muito intensa).

Anexo 3: Pacientes com resultado citológico indeterminado e nódulos malignos ao exame histopatológico: características clínicas e laboratoriais e respectivos resultados de exame ultrassonográfico, histopatológico e de PET-FDG

N	Idade/ Gênero	Características do nódulo à USG	Diagnóstico Histopatológico	Máximo diâmetro (cm) do nódulo*	PET [#] / SUV max	Uso de LT4 pré-op	Ecog parênq não nodular	ATPO (UI/L)	ATG (UI/L)	Infiltrado linfocitário (grau) ^{&}	Tireoidite de Hashimoto	Captação difusa de FDG
32	46/F	Sólido-cístico	CP V Clássica	3.0	+/- 3,8	0	Hipo M	<35	<35	3	Sim	D
33	30/F	Sólido hipo	CA Folicular	3.0	+/- 5,4	0	0	<35	<35	2	Não	Ausente
34	53/F	Sólido Multi	CP V Folicular	4.0	+/- 5,5	0	NR	155	298	3	Sim	Ausente
35	27/M	Sólido-cístico	CP V C Claras	2.0	+/- 6,3	0	0	<35	<35	0	Não	Ausente
36	21/F	Sólido hipo	CA BDSOE	8.5	+/- 7,1	0	0	<35	<35	0	Não	M
37	26/F	Sólido-cístico	CP V Folicular	7.0	+/- 7,4	0	0	<35	<35	2	Não	Ausente
38	32/F	Sólido-cístico	CP V Folicular	2.0	+/- 7,8	0	NR	<35	<35	0	Não	Ausente
39	39/F	Sólido hipo	CA Folicular	3.5	+/- 8,8	50	0	<35	<35	0	Não	Ausente
40	25/F	Sólido hipo	CP V Folicular	3.4	+/- 10,9	0	0	<35	<35	0	Não	Ausente
41	43/F	Sólido hipo	CP V Clássica	0.4	+/- 14,9	0	0	613	267	0	Não	D
42	65/F	Sólido-cístico	CP V Clássica	8.0	+/- 46,5	75	0	<35	<35	3	Sim	Ausente

N, número; M, masculino; F, feminino; Multi, multinodular; CA, carcinoma; CP, carcinoma papilífero; Ad, adenomatoso; V, variante; C Claras, células claras; BDSOE, Bem diferenciado sem outra especificação; NR, não realizada avaliação; NA, não avaliado (sem parênquima tireoidiano não nodular suficiente para avaliação); Ecog parênq, Ecogenicidade do parênquima; Hipo, hipoecogênico; Iso, isoecogênico; Hiper, hiperecogênico; D, discreta; M, moderada; USG, ultrassonografia. [#] PET refere-se à presença de captação focal (+) ou ausência de captação focal (-). ^{*}De acordo com exame histopatológico. [&] Conforme critérios de Williams e Doniach³³ (grau 0, nenhum; grau 1, leve; grau 2, moderada; grau 3, intensa; grau 4, muito intensa).

Anexo 4: Pacientes com resultado citológico suspeito e diagnóstico de carcinoma papilífero: características clínicas e laboratoriais e respectivos resultados de exame ultrassonográfico, histopatológico e de PET-FDG

N	Idade/ Gênero	Características do nódulo à USG	Diagnóstico Histopatológico	Máximo diâmetro (cm) do nódulo*	PET#/ SUV max	Uso de LT4 pré-op	Ecog parênq não nodular	ATPO (UI/L)	ATG (UI/L)	Infiltrado Linfocitário (grau) ^{&}	Tireoidite de Hashimoto	Captação difusa de FDG
43	29/F	Sólido-cístico	CP	1,2	+/- 4,3	0	NR	NR	NR	NR	NR	Ausente
44	56/F	Sólido hipo	CP	0,8	+/- 4,3	0	Hipo D	80	35	3	Sim	D
45	76/ F	Sólido hipo	CP	0,7	+/- 4,4	75	0	35	35	0	Não	Ausente
46	31/ F	Sólido hipo	CP	2,0	+/- 5,9	0	0	35	35	0	Não	Ausente
47	19/ F	Sólido iso	CA Folicular	5,0	+/- 7,0	0	0	538	287	3	Sim	D
48	33/ F	Sólido-cístico	CP	2,4	+/- 7,2	0	NR	NR	NR	NR	NR	D
49	34/ F	Sólido hipo	CP	0,5	+/- 8,7	0	0	35	35	0	Não	Ausente
50	52/ F	Sólido hipo	CP	1,1	+/- 19,2	0	0	39	35	2	Sim	Ausente
51	42/ F	Sólido iso	CP	2,3	+/- 25,1	0	NR	35	2644	2	Sim	D
52	45/ F	Sólido hipo	CP	6,5	+/- 25,9	0	NR	1401	69	3	Sim	Ausente

N, número; M, masculino; F, feminino; CA, carcinoma; CP, carcinoma papilífero; Ad, adenomatoso; V, variante; C Claras, células claras, NR, não realizada avaliação; Ecog parênq, Ecogenicidade do parênquima; Hipo, hipoecogênico; Iso, isoecogênico; D, discreta; Linfoc, Linfocítica; USG, ultrassonografia. # PET refere-se à presença de captação focal (+) ou ausência de captação focal (-). *De acordo com exame histopatológico. & Conforme critérios de Williams e Doniach³³ (grau 0, nenhum; grau 1, leve; grau 2, moderada; grau 3, intensa; grau 4, muito intensa).

Anexo 5: Pacientes com resultado citológico benigno (pacientes 53, 54 e 55 com citologia diagnóstica de nódulo adenomatoso e paciente 46 com citologia diagnóstica de tireoidite de Hashimoto): características clínicas e laboratoriais e respectivos resultados de exame ultrassonográfico, histopatológico e de PET-FDG

N	Idade/ Gênero	Características do nódulo à USG	Diagnóstico Histopatológico	Máximo diâmetro (cm) do nódulo*	PET [#] / SUV max	Uso de LT4 pré-op	Ecog parênq não nodular	ATPO (UI/L)	ATG (UI/L)	Tireoidite Linfoc Crônica ^{&}	Tireoidite de Hashimoto	Captação difusa de FDG
53	50/F	Sólido iso	Bócio colóide	3,0	- /1,7	0	0	<35	<35	0	Não	Ausente
54	52/F	Sólido-cístico	Bócio colóide	2,2	- /2,7	0	0	<35	<35	0	Não	Ausente
55	52/F	Sólido-cístico	Nódulo ad	4,5	- /3,4	100	0	<35	<35	NA	NA	D
56	45/F	Sólido-cístico	Tireoidite de H	2,2	+ /20,8	100	Hipo D	537	2151	3	Sim	Intensa

N, número; M, masculino; F, feminino; Ad, adenomatoso; H, Hashimoto; NA, não avaliado (sem parênquima tireoidiano não nodular suficiente para avaliação); Ecog parênq, Ecogenicidade do parênquima; Iso, isoecogênico; D, discreta; Linfoc, Linfocítica; USG, ultrassonografia. [#] PET refere-se à presença de captação focal (+) ou ausência de captação focal (-). ^{*} De acordo com exame histopatológico. [&] Conforme critérios de Williams e Doniach³³ (grau 0, nenhum; grau 1, leve; grau 2, moderada; grau 3, intensa; grau 4, muito intensa).

10. REFERÊNCIAS

1. Hegedüs L. Clinical practice: the thyroid nodule. *N Eng J Med* 2004; 351:1764-1771.
2. Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, Kloos RT, Lee SL, Mandel SJ et al. Revised American Thyroid Association Management Guidelines for Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer. *Thyroid* 2009; 19:1167-1214.
3. AACE/AME Task Force on Thyroid Nodules. American Association of Clinical Endocrinologists, Associazione Medici Endocrinologi and European Thyroid Association medical guidelines for clinical practice for the diagnosis and management of thyroid nodules. *Endocr Pract* 2010; 16(Suppl 1):1-43.
4. Pacini F, Schlumberger M, Dralle H, Elisei R, Smit JWA, Wiersinga W et al. European consensus for the management of patients with differentiated thyroid carcinoma of the Follicular epithelium. *European Journal of Endocrinol* 2006; 154:787–803.
5. Layfield LJ, Cibas ES, Gharib H, Mandel SJ. Thyroid Aspiration Cytology: current status. *CA Cancer J Clin* 2009; 59:99-110.
6. Tomimori, EK, Bisi H, Medeiros-Neto G, Camargo RYA. Avaliação ultrasonográfica dos nódulos tireóideos: comparação com exame citológico e histopatológico. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2004; 48:105-113.
7. Juweid ME, Cheson BD. Positron-Emission Tomography and Assessment of Cancer Therapy. *N Eng J Med* 2006; 354:496-507.

8. Kapoor V, McCook BM, Torok FS. An Introduction to PET-CT Imaging. *RadioGraphics* 2004; 24:523–543.
9. Nakamoto Y, Tatsumi M, Hammoud D, Cohade C, Osman MM, Wahl RL. Normal FDG distribution patterns in the head and neck: PET/CT evaluation. *Radiology* 2005; 234:879–885.
10. Karantanis D, Bogsrud TV, Wiseman GA, Mullan BP, Subramaniam RM, Nathan MA et al. Clinical significance of diffusely increased 18F-FDG uptake in the thyroid gland. *J Nucl Med* 2007; 48:896-901.
11. Kresnik E, Gallowitsch HJ, Mikosch P, Stettner H, Igerc I, Gomez I et al. Fluorine-18-fluorodeoxyglucose positron emission tomography in the preoperative assessment of thyroid nodules in an endemic goiter area. *Surgery* 2003; 133:294-99.
12. Adler LP, Bloom AD. Positron emission tomography of thyroid masses. *Thyroid* 1993; 3:195-200.
13. Uematsu H, Sadato N, Ohtsubo T, Tsuchida T, Nakamura S, Sugimoto K et al. Fluorine-18-fluorodeoxyglucose PET versus thallium-201 scintigraphy evaluation of thyroid tumors. *J Nucl Med* 1998; 39:453-459.
14. Wolf G, Aigner RM, Schaffler G, Schwarz T, Krippel P. Pathology results in 18F fluorodeoxyglucose positron emission tomography of the thyroid gland. *Nucl Med Commun* 2003; 24:1225-30.
15. Sasaki M, Ichiya Y, Kuwabara Y, Akashi Y, Yoshida T, Fukumura T et al. An evaluation of FDG-PET in the detection and differentiation of thyroid tumours. *Nucl Med Commun* 1997; 18:957-63.

16. Bloom AD, Adler LP, Shuck JM. Determination of malignancy of thyroid nodules with positron emission tomography. *Surgery* 1993; 114:728-734.
17. Joensuu H, Ahonen A, Klemi PJ. ^{18}F -FDG-fluorodeoxyglucose imaging in preoperative diagnosis of thyroid malignancy. *Eur J Nucl Med* 1988; 13:502-506.
18. Rossi A C, Tomimori E, Camargo R, Medeiros-Neto G. Searching for iodine deficiency in schoolchildren from Brazil: the THYROMOBIL project. *Thyroid* 2001; 11:659-61.
19. Dayan CM, Daniels GH. Chronic Autoimmune Thyroiditis. *New Eng J Med* 1996; 35:99-107.
20. Kurata S, Ishibashi M, Hiromatsu Y, Kaida H, Miyake I, Uchida M, Hayabuchi N. Diffuse and diffuse-plus-focal uptake in the thyroid gland identified by using FDG-PET: prevalence of thyroid cancer and Hashimoto's thyroiditis. *Ann Nucl Med*. 2007;21:325-30.
21. Chen YK, Chen YL, Cheng RH, Yeh CL, Lee CC, Hsu CH. The significance of FDG uptake in bilateral thyroid glands. *Nucl Med Commun* 2007; 28:117-22.
22. Kim TY, Kim WB, Ryu JS, Gong G, Hong SJ, Shong YK. ^{18}F -fluorodeoxyglucose uptake in thyroid from positron emission tomogram (PET) for evaluation in cancer patients: high prevalence of malignancy in thyroid PET incidentaloma. *Laryngoscope* 2005; 115:1074-8.
23. Shreve PD, Anzai Y, Wahl RL. Pitfalls in oncologic diagnosis with FDG PET imaging: physiologic and benign variants. *Radiographics* 1999; 19:61-77.

24. Gordon BA, Flanagan FL, Dehdashti F. Whole-body positron emission tomography: normal variations, pitfalls, and technical considerations. *Am Journal of Radiol* 1997; 169:1675–1680.
25. Repplinger D, Bargren A, Zhang YW, Adler JT, Haymart M, Chen H. Is Hashimoto's thyroiditis a risk factor for papillary thyroid cancer? *J Surg Res* 2008; 150:49-52.
26. Gul K, Dirikoc A, Kiyak G, Ersoy PE, Ugras NS, Ersoy R, Cakir B. The association between thyroid carcinoma and Hashimoto's Thyroiditis: the ultrasonographic and histopathologic characteristics of malignant nodules. *Thyroid* 2010; 20:873-878.
27. Ciampi R, Vivaldi A, Romei C, Del Guerra A, Salvadori P, Cosci B et al. Expression analysis of facilitative glucose transporters (GLUTs) in human thyroid carcinoma cell lines and primary tumors. *Mol Cell Endocrinol* 2008; 291:57-62
28. Macheda ML, Rogers S, Best JD. Molecular and cellular regulation of glucose transporter (GLUT) proteins in cancer. *J Cell Physiol.* 2005; 202:654-62.
29. Rogers S, Macheda ML, Docherty SE, Carty MD, Henderson MA, Soeller WC, Gibbs EM, James DE, Best JD. Identification of a novel glucose transporter-like protein-GLUT-12. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002; 282:E733-8.
30. Moog F, Linke R, Manthey N, Tiling R, Knesewitsch P, Tatsch K et al. Influence of thyroid-stimulating hormone levels on uptake of FDG in recurrent and metastatic differentiated thyroid carcinoma. *J Nucl Med* 2000; 41:1989-95.
31. Orell SR, Philips J. The Role of Fine-Needle Biopsy in the Investigation of Thyroid Disease and Its Diagnostic Accuracy. In: Orell S.R. editor. *Thyroid*

- Fine-Needle Biopsy and Cytological Diagnosis of Thyroid Lesions. 1a ed. Basel (Switzerland): Karger; 1997. p. 08-16.
32. DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, Eng C. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Endocrine Organs. Lyon: IARC Press, 2004.
 33. Williams, ED, Doniach I. The post-mortem incidence of focal thyroiditis. *Pathol Bacteriol* 1962; 83:255-64.
 34. Okayasu I, Fujiwara M, Hara Y, Tanaka Y, Rose NR. Association of chronic lymphocytic thyroiditis and thyroid papillary carcinoma. *Cancer* 1995; 76:2312-8.
 35. Shi SR, Key ME, Kalra KL. Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues: An enhancement method for immunohistochemical staining based upon microwave oven heating of tissue sections. *J Histochem Cytochem* 1991; 39: 741-748.
 36. Hooft L, van der Veldt AA, van Diest PJ, Hoekstra OS, Berkhof J, Teule GJ. [18F]fluorodeoxyglucose uptake in recurrent thyroid cancer is related to hexokinase I expression in the primary tumor. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:328-34.
 37. De Geus-Oei LF, Pieters GFFM, Bonenkamp JJ, Mudde AH, Bleeker-Rovers CP, Corstens FHM et al. ¹⁸F-FDG PET reduces unnecessary hemithyroidectomies for thyroid nodules with indeterminate cytologic results. *J Nucl Med* 2006; 47:770-775.
 38. Kim JM, Ryu JS, Kim TK, Kim WB, Kwon GY, Gong G et al. ¹⁸F-Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography does not predict

- malignancy in thyroid nodules cytologically diagnosed as Follicular neoplasm. *J Clin Endocrinol Metabol* 2007; 92:1630-4.
39. Smith RB, Robinson RA, Hoffman HT, Graham MM. Preoperative FDG-PET imaging to assess the malignant potential of follicular neoplasms of the thyroid. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2008; 138:101-6.
 40. Mitchell JC, Grant F, Evenson AR, Parker JA, Hasselgren PO, Parangi S. Preoperative evaluation of thyroid nodules with ¹⁸FDG PET/CT. *Surgery* 2005; 138:1166-75.
 41. Hales NW, Kreml GA, Medina JE. Is there a role for fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography in cytologically indeterminate thyroid nodules? *Am J Otolaryngol*. 2008; 29:113-8.
 42. Tragoutt AL, Dehdashti F, Trinkaus K, Cohen M, Fialkowski E, Quayle F et al. Exclusion of malignancy in thyroid nodules with indeterminate fine-needle aspiration cytology after negative 18 F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography: interim analysis. *World J Surg* 2010;34:1247-53.
 43. D'Souza MM, Marwaha RK, Sharma R, Jaimini A, Thomas S, Singh D et al. Prospective evaluation of solitary thyroid nodule on 18F-FDG PET/CT and high-resolution ultrasonography. *Ann Nucl Med* 2010;24:345-55.
 44. Sebastianes FM, Cerci JJ, Zanoni PH, Soares J Jr, Chibana LK, Tomimori EK, et al. Role of 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography in preoperative assessment of cytologically indeterminate thyroid nodules. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:4485-8.

45. Chen YK, Chen YL, Liao AC, Shen YY, Kao CH. Elevated ^{18}F -FDG uptake in skeletal muscles and thymus: a clue for the diagnosis of Graves' disease. *Nucl Med Commun* 2004; 25:115-21.
46. Krak NC, Boellaard R, Hoekstra OS, Twisk JW, Hoekstra CJ, Lammertsma AA. Effects of ROI definition and reconstruction method on quantitative outcome and applicability in a response monitoring trial. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2005; 32:294–301.
47. Yun Mijin, Noh TW, Cho A, Choi YJ, Hong SW, Park CS, Lee JD, Kim CK. Visually discernible ^{18}F Fluorodeoxyglucose uptake in papillary thyroid microcarcinoma: a potential new risk factor. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95:3182-3188.
48. Yasuda S, Shohtsu A, Ide M, Takagi S, Takahashi W, Suzuki Y, Horiuchi M. Chronic thyroiditis: diffuse uptake of FDG at PET. *Radiology* 1998; 207:775-8.
49. Yasuda S, Shohtsu A, Ide M, Takagi S, Susuki Y, Tajima T. Diffuse F-18 FDG uptake in chronic thyroiditis. *Clin Nucl Med* 1997; 22:341.
50. Schmid DT, Kneifel S, Stoeckli SJ, Padberg BC, Merrill G, Goerres GW. Increased ^{18}F -FDG PET uptake mimicking thyroid cancer in a patient with Hashimoto's Thyroiditis. *Eur Radiol* 2003; 13:2119-2121.
51. Shih ML, Lee JA, Hsieh CB, Yu JC, Liu HD, Kebebew E, Clark OH, Duh QY. Thyroidectomy for Hashimoto's thyroiditis: complications and associated cancers. *Thyroid* 2008; 18:729-34.
52. Lin JD, Chao TC, Huang BY, Chen ST, Chang HY, Hsueh C. Thyroid cancer in the thyroid nodules evaluated by ultrasonography and fine-needle aspiration cytology. *Thyroid* 2005; 15:708-17.

53. Kim ES, Nam-Goong IS, Gong G, Hong SJ, Kim WB, Shong YK. Postoperative findings and risk for malignancy in thyroid nodules with cytological diagnosis of the so-called "follicular neoplasm". *Korean J Intern Med* 2003; 18:94-7.
54. Raber W, Kaserer K, Niederle B, Vierhapper H. Risk factors for malignancy of thyroid nodules initially identified as follicular neoplasia by fine-needle aspiration: results of a prospective study of one hundred twenty patients. *Thyroid* 2000; 10:709-12.
55. Papini E, Guglielmi R, Bianchini A, Crescenzi A, Taccogna A, Taccogna S et al. Risk of malignancy in nonpalpable thyroid nodules: predictive value of ultrasound and color-Doppler features. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:1941-1946.
56. Kim JY, Lee CH, Kim SY, Jeon WK, Kang JH, An SK, Jun WS. Radiologic and pathologic findings of nonpalpable thyroid carcinomas detected by ultrasonography in a medical screening center. *J Ultrasound Med* 2008; 27:215-23.
57. 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; 93:809-14.
58. 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. *J Cancer Res Clin Oncol* 2008; 134:953-60.
59. 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; 20:885-91.

60. Matsuzu K, Segade F, Matsuzu U, Carter A, Bowden DW, Perrier ND. Differential expression of glucose transporters in normal and pathologic thyroid tissue. *Thyroid* 2004; 14:806-12.
61. Haber RS, Weiser KR, Pritsker A, Reder I, Burstein DE. GLUT-1 glucose transporter expression in benign and malignant thyroid nodules. *Thyroid* 1997; 7:363-367.
62. Schönberger J, Rüschoff J, Grimm D, Marienhagen J, Rümmele P, Meyringer R et al. Glucose Transporter 1 gene expression is related to thyroid neoplasms with an unfavorable prognosis: an immunohistochemical study. *Thyroid* 2002; 12:747-753.
63. Kim YW, Do IG, Park YK. Expression of the GLUT1 glucose transporter, p63 and p53 in thyroid carcinomas. *Pathol Res Pract* 2006; 202:759-65.
64. Jung YH, Hah JH, Sung MW, Kim KH, Cho SY, Jeon YK. Reciprocal immunohistochemical expression of Sodium/Iodide Symporter and Hexokinase I in primary thyroid tumors with synchronous cervical metastasis.
65. Yasuda M, Ogane N, Hayashi H, Kameda Y, Miyagi Y, Iida T, Mori Y, Tsukinoki K, Minematsu T, Osamura Y. Glucose transporter-1 expression in the thyroid gland: clinicopathological significance for papillary carcinoma. *Oncol Rep.* 2005; 14:1499-504.
66. Chandan VS, Faquin WC, Wilbur DC, Khurana KK. The role of immunolocalization of CD57 and GLUT-1 in cell blocks in fine-needle aspiration diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *Cancer (Cancer Cytopathology)* 2006; 108:331-6.

67. Kim BH, Kim IJ, Kim SS, Kim SJ, Lee CH, Kim YK. Relationship between biological marker expression and fluorine-18 florodeoxyglucose uptake in incidentally detected thyroid cancer. *Cancer Biother Radiopharm* 2010; 25:309-15.
68. Hooft L, van der Veldt AA, Hoekstra OS, Boers M, Molthoff CF, van Diest PJ. Hexokinase III, cyclin A and galectin-3 are overexpressed in malignant follicular thyroid nodules. *Clin Endocrinol* 2008; 68:252-7.
69. Prante O, Maschauer S, Fremont V, Reinfelder J, Stoehr R, Szkudlinski M et al. Regulation of uptake of 18F-FDG by a follicular human thyroid cancer cell line with mutation-activated K-ras. *J Nucl Med* 2009;50:1364-70.
70. van Staveren WC, Solís DW, Delys L, Duprez L, Andry G, Franc B et al. Human thyroid tumor cell lines derived from different tumor types present a common dedifferentiated phenotype. *Cancer Res* 2007;67:8113-20.
71. Verhagen JN, Van der Heijden MC, Rijksen G, Der Kinderen PJ, Van Unnik JA, Staal GE. Determination and characterization of hexokinase in thyroid cancer and benign neoplasms. *Cancer* 1985; 55:1519-24.
72. Rogers S, Docherty SE, Slavin JL, Henderson MA, Best JD. Differential expression of GLUT12 in breast cancer and normal breast tissue. *Cancer Lett.* 2003; 193:225-33.
73. Chandler JD, Williams ED, Slavin JL, Best JD, Rogers S. Expression and localization of GLUT1 and GLUT12 in prostate carcinoma. *Cancer.* 2003; 97:2035-42.

74. Van Sande J, Parma J, Tonacchera M, Swillens S, Dumont J, Vassart G. Somatic and germline mutations of the TSH receptor gene in thyroid diseases. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80:2577-2585.
75. Tonacchera M, Agretti P, Chiovato L, Rosellini V, Ceccarini G, Perri A et al. Activating thyrotropin receptor mutations are present in nonadenomatous hyperfunctioning nodules of toxic or autonomous multinodular goiter. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:2270-74.
76. Clapham DE. Mutations in G protein-linked receptors: novel insights on disease. *Cell* 1993; 75:1237-39.
77. Chin BB, Patel P, Cohade C, Ewertz M, Wahl R, Ladenson P. Recombinant human thyrotropin stimulation of Fluoro-D-Glucose positron emission uptake in well-differentiated thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:91-5.
78. Boerner AR, Voth E, Theissen P, Wienhard K, Wagner R, Schicha H. Glucose metabolism of the thyroid in autonomus goiter measured by F-18-FDG-PET. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2000; 108:191-6.
79. Okayasu I, Hara Y, Nakamura K, Rose NR. Racial and age-related differences in incidence and severity of focal autoimmune thyroiditis. *Am J Clin Pathol* 1994; 101:698-702.
80. Teng W, Shan Z, Teng X, Guan H, Li Y, Teng D et al. Effect of iodine intake on thyroid diseases in China. *N Engl J Med* 2006; 354:2783-93.
81. Kang KW, Kim SK, Kang HS, Lee ES, Sim JS, Lee IG et al. Prevalence and risk of cancer of focal thyroid incidentaloma identified by 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography for metastasis evaluation and cancer screening in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:4100–4104.

82. Are C, Hsu JF, Schoder H, Shah JP, Larson SM, Shaha AR. FDG-PET detected thyroid incidentalomas: need for further investigation? *Ann Surg Oncol* 2006; 14:239–247.
83. Tateishi U, Gamez C, Dawood S, Yeung HWD, Cristofanilli M, Inoue T et al. Chronic thyroiditis in patients with advanced breast carcinoma: metabolic and morphologic changes on PET-CT. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2009; 36:894-902.