

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 19/08/2023.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE  
MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE MEDICINA**

**Flávia Ramos Kazan Oliveira**

**Imunoexpressão das metaloproteinases 1 e 2 nos  
subtipos histológicos da variante folicular do carcinoma  
papilífero de tireoide: relação com prognóstico**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestra em Fisiopatologia em Clínica Médica.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Associada Dr<sup>ª</sup>. Gláucia M. F. S. Mazeto

Coorientador: Dr. Cristiano Claudino Oliveira

**Botucatu**

**2021**

Flávia Ramos Kazan Oliveira

Imunoexpressão das metaloproteinases 1 e 2 nos subtipos histológicos da variante folicular do carcinoma papilífero de tireoide: relação com prognóstico

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestra em Fisiopatologia em Clínica Médica.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Associada Dr<sup>a</sup>. Gláucia M. F. S. Mazeto

Coorientador: Dr. Cristiano Claudino Oliveira

Botucatu

2021

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Oliveira, Flávia Ramos Kazan.

Imunoexpressão das metaloproteinases 1 e 2 nos subtipos histológicos da variante folicular do carcinoma papilífero de tireoide : relação com prognóstico / Flávia Ramos Kazan Oliveira. - Botucatu, 2021

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Gláucia Maria Ferreira da Silva Mazeto

Coorientador: Cristiano Claudino Oliveira

Capes: 40101061

1. Biomarcadores tumorais. 2. Carcinoma papilar, Variante folicular. 3. Prognóstico. 4. Metaloproteinase 1 da matriz. 5. Metaloproteinase 2 da matriz.

Palavras-chave: Biomarcadores tumorais; Carcinoma papilar, Variante folicular; Metaloproteinase 1 da matriz; Metaloproteinase 2 da matriz; Prognóstico.

## EPÍGRAFE

*“Há, verdadeiramente, duas coisas diferentes: saber e crer que se sabe. A ciência consiste em saber; em crer que se sabe está a ignorância.”*

(Hipócrates)

## DEDICATÓRIA

Dedico este estudo à minha família, meu alicerce.

À minha mãe Sueli por ser um exemplo de vida e de força. Obrigada por todo o trabalho de bastidores cuidando do Bento e de todos nós.

Ao meu pai Bento (*in memoriam*) por me inspirar na escolha da medicina e sempre me incentivar a continuar estudando. Obrigada por ser meu maior exemplo de caráter, honestidade, inteligência e caridade.

Aos meus irmãos pelo apoio incondicional de sempre. Camila, obrigada por ser minha melhor amiga. Gustavo, obrigada pelo exemplo de perfeccionismo e buscar sempre o melhor. À minha cunhada Nathália pelas trocas de experiências e ao meu afilhado Pedro por completar nossa alegria.

Ao meu marido Nilo por estar ao meu lado durante os anos de mestrado. Obrigada pelo incentivo para continuar crescendo.

Ao meu filho Bento por me ensinar diariamente o que é o amor. Obrigada por fazer os meus dias mais felizes.



## AGRADECIMENTOS

---

Agradeço primeiro a Deus por ter me mantido na trilha certa durante este projeto de pesquisa com saúde e forças para chegar até o final.

Sou grata à minha família pelo apoio que sempre me deram durante toda a minha vida e que compreenderam minha ausência enquanto eu me dedicava à realização deste trabalho.

Deixo um agradecimento especial à minha orientadora pelo incentivo e pela dedicação do seu escasso tempo ao meu projeto de pesquisa. Muito obrigada Dr<sup>a</sup>. Gláucia por ter me corrigido quando necessário sem nunca me desmotivar, por sua escrita impecável, sua organização e toda a luta para que terminássemos esse trabalho. Por ter participado de toda a minha formação, pode ter a certeza que levarei um pouco da senhora por toda a minha vida médica e acadêmica.

Agradeço muito ao meu coorientador Dr. Cristiano por toda a contribuição desde a elaboração desse projeto. Mesmo com a distância, sempre se fez presente auxiliando em todas as etapas, em especial com todo o seu conhecimento e técnica na imunistoquímica.

Agradeço também ao Dr. Hélio, meu professor que desde a iniciação científica me auxiliou com seu vasto conhecimento em estatística. Obrigada por todos os ensinamentos e toda a paciência durante a análise dos nossos dados.

Obrigada Dr<sup>a</sup>. Vânia e Dr<sup>a</sup>. Adriana por toda a contribuição para minha formação de especialista e continuarem colaborando com a minha evolução acadêmica.

Agradeço ao meu amigo e cunhado Felipe Augusto pela contribuição com a coleta dos dados em meio à pandemia.

Quero agradecer à Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho e a todos os meus professores pela elevada qualidade de ensino oferecido. Obrigada por tornar-se a minha segunda casa. Saudades eternas e muito amor pela FMB-UNESP.

Grata à Rede D'Or São Luiz pela contribuição para a realização do estudo de imunistoquímica do nosso trabalho.

Por fim, a todos aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização desta dissertação, o meu sincero agradecimento.

Muito obrigada!

## SUMÁRIO

---

<b>1. LISTA DE ABREVIATURAS</b>	<b>11</b>
<b>2. ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>13</b>
<b>3. ÍNDICE DE TABELAS</b>	<b>16</b>
<b>4. RESUMO</b>	<b>18</b>
<b>5. ABSTRACT</b>	<b>21</b>
<b>6. INTRODUÇÃO</b>	<b>24</b>
<b>7. JUSTIFICATIVA</b>	<b>31</b>
<b>8. HIPÓTESE</b>	<b>33</b>
<b>9. OBJETIVOS</b>	<b>35</b>
<b>10. MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>37</b>
10.1 FINANCIAMENTO	38
10.2 DELINEAMENTO	38
10.3 SELEÇÃO DA AMOSTRA	39
10.4 METODOLOGIA	41
10.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	46
<b>11. RESULTADOS</b>	<b>48</b>
<b>12. DISCUSSÃO</b>	<b>81</b>
<b>13. CONCLUSÃO</b>	<b>89</b>
<b>14. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>91</b>
<b>15. ANEXOS</b>	<b>96</b>
ANEXO I: APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU	97
ANEXO II: EMENDA APROVADA PELO CEP	100
ANEXO III: PERSISTÊNCIA E RECORRÊNCIA DA DOENÇA NEOPLÁSICA	103
ANEXO IV: PROTOCOLO DE TRATAMENTO E SEGUIMENTO DOS CDT NO HC-FMB	104

## 1.LISTA DE ABREVIATURAS

---

<b>AF</b>	Adenoma folicular
<b>AJCC</b>	<i>American Joint Committee on Cancer</i>
<b>ATA</b>	<i>American Thyroid Association</i>
<b>Anti-Tg</b>	Anti-tireoglobulina
<b>Ca</b>	Carcinoma
<b>CDT</b>	Carcinoma diferenciado da tireoide
<b>CF</b>	Carcinoma folicular
<b>CMT</b>	Carcinoma medular de tireoide
<b>CP</b>	Carcinoma papilífero
<b>CPC</b>	Carcinoma papilífero clássico
<b>DA</b>	Doença em atividade
<b>DP</b>	Desvio padrão
<b>DTI</b>	Dose terapêutica de radioiodo
<b>EIVFCP</b>	Encapsulado invasivo da variante folicular do carcinoma papilífero
<b>HC-FMB</b>	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu
<b>IC</b>	Intervalo de confiança
<sup>131</sup> I	Iodo 131
<b>LD</b>	Livre de doença
<b>MMPs</b>	Metaloproteinases da matriz
<b>NIFTP</b>	<i>Noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features</i>
<b>OR</b>	<i>Odds ratio</i>
<b>PAAF</b>	Punção aspirativa por agulha fina
<b>PCI</b>	Pesquisa de corpo inteiro
<b>Tg</b>	Tireoglobulina
<b>TSH</b>	Hormônio estimulador da tireoide
<b>TT</b>	Tireoidectomia total
<b>VFCP</b>	Variante folicular do carcinoma papilífero
<b>VFCPNE</b>	Variante folicular do carcinoma papilífero não encapsulado

## 2. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Fluxograma representativo da seleção dos casos estudados. ....	40
Figura 2: Exemplo de caso diagnosticado como <i>Noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features</i> (NIFTP). Lesão tumoral bem delimitada, encapsulada, sem sinais de infiltração da cápsula ou de crescimento arquitetural papilífero (Hematoxilina & Eosina, 40x).....	42
Figura 3: Carcinoma papilífero da tireoide, variante folicular, encapsulado, com invasão capsular (indicada com a seta) e extensão extratireoidiana. (Hematoxilina & Eosina, 200x).....	42
Figura 4: Carcinoma papilífero da tireoide, variante folicular, não encapsulado. A: lesão sem cápsula, de limites imprecisos, ainda que de aspecto nodular, com bordas infiltrativas no tecido tireoidiano e presença de calcificações centrais. Marcas de caneta azul demarcam os limites da neoplasia (Hematoxilina & Eosina, 40x). B: ressalta-se a arquitetura folicular e o padrão nuclear típico da entidade (Hematoxilina & Eosina, 400x). ....	43
Figura 5: Avaliação imunofenotípica da metaloproteinase de matriz 1 (MMP-1), em áreas de normalidade, periferia tumoral e centro tumoral. No presente caso, a área normal foi classificada como extensão de 1+. No tumor, as áreas central e periférica tiveram classificação de 2+ (400x).....	44
Figura 6: Exemplo da extensão de imunocoloração graduada como 1+ para a metaloproteinase de matriz 1 (MMP-1). Marcador citoplasmático, presente em parte das células de interesse apenas (200x).....	45
Figura 7: Exemplo da diferença de imunocoloração para metaloproteinase de matriz 1 (MMP-1) entre a periferia, 2+, e o centro tumoral, 1+ (40x). ....	45
Figura 8: Imagem que exemplifica a diferença de extensão da imunocoloração para metaloproteinase de matriz 2 (MMP-2) no centro da neoplasia (2+) e na sua periferia (3+). O centro da neoplasia está ressaltado pelas áreas de calcificação distrófica (200x). ....	46
Figura 9: Sobrevida livre de doença estrutural comparando os subtipos NIFTP ( <i>noninvasive follicular thyroid neoplasms with papillary-like nuclear features</i> ), encapsulado invasivo (EIVFCP) e não encapsulado da variante folicular do carcinoma papilífero (VFCPNE). Curva de sobrevida de Kaplan-Meier; p=0,075, Log Rank (Matel-Cox). ....	73
Figura 10: Sobrevida livre de doença estrutural comparando os subtipos NIFTP ( <i>noninvasive follicular thyroid neoplasms with papillary-like nuclear features</i> ) e os demais subtipos agrupados (encapsulado invasivo e não encapsulado da variante folicular do carcinoma papilífero) denominados como NÃO-NIFTP. Curva de sobrevida de Kaplan-Meier; p=0,033, Log Rank (Matel-Cox). ....	73
Figura 11: Sobrevida livre de doença estrutural comparando os subtipos NIFTP ( <i>noninvasive follicular thyroid neoplasms with papillary-like nuclear features</i> ) unifocal, NIFTP multifocal e	



os demais subtipos agrupados (encapsulado invasivo e não encapsulado da variante folicular do carcinoma papilífero) denominados como NÃO-NIFTP. Curva de sobrevida de Kaplan-Meier; p=0,094, Log Rank (Matel-Cox).....	74
Figura 12: Sobrevida livre de doença estrutural comparando a imunexpressão no tumor geral para metaloproteinase da matriz-1 (MMP-1), subdividida em negativa, moderada (1+/2+) e intensa (3+/4+). Curva de sobrevida de Kaplan-Meier; p=0,724, Log Rank (Matel-Cox).....	75
Figura 13: Sobrevida livre de doença estrutural comparando a imunexpressão das metaloproteinase da matriz-1 (MMP-1), subdividida em negativa e positiva. Curva de sobrevida de Kaplan-Meier; p=0,716, Log Rank (Matel-Cox).....	76
Figura 14: Sobrevida livre de doença estrutural comparando a imunexpressão, no tumor geral, para metaloproteinase da matriz-2 (MMP-2), subdividida em negativa, moderada (1+/2+) e intensa (3+/4+). Curva de sobrevida de Kaplan-Meier; p=0,510, Log Rank (Matel-Cox).....	77
Figura 15: Sobrevida livre de doença estrutural comparando a imunexpressão para metaloproteinase da matriz-2 (MMP-2), subdividida em negativa e positiva. Curva de sobrevida de Kaplan-Meier; p=0,336, Log Rank (Matel-Cox).....	78
Figura 16: Análise por correspondência múltipla que correlaciona a imunexpressão para metaloproteinases de matriz 1 e 2 (MMP-1 e MMP-2) tumoral geral, subdivididas em negativa, moderada (1+/2+) e intensa (3+/4+) com os subtipos NIFTP (noninvasive follicular thyroid neoplasms with papillary-like nuclear features), encapsulado invasivo (EIVFCP) e não encapsulado da variante folicular do carcinoma papilífero (VFCPNE).....	78
Figura 17: Análise por correspondência múltipla que correlaciona a imunexpressão para metaloproteinases de matriz 1 e 2 (MMP-1 e MMP-2) tumoral geral, subdivididas em negativa, moderada (1+/2+) e intensa (3+/4+) entre NIFTP (noninvasive follicular thyroid neoplasms with papillary-like nuclear features), e os demais subtipos encapsulado invasivo (EIVFCP) e não encapsulado da variante folicular do carcinoma papilífero (VFCPNE), agrupados como NÃO-NIFTP.....	79
Figura 18: Análise por correspondência múltipla que correlaciona a imunexpressão das metaloproteinases de matriz 1 e 2 (MMP-1 e MMP-2) tumoral geral, subdivididas em negativa, moderada (1+/2+) e intensa (3+/4+) entre NIFTP (noninvasive follicular thyroid neoplasms with papillary-like nuclear features) unifocal e multifocal.....	80

## 3.ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Dados demográficos, histológicos, de estadiamento, imunoistoquímicos, laboratoriais e evolutivos de 74 pacientes.....	50
<b>Tabela 2:</b> Comparação entre os subtipos NIFTP ( <i>noninvasive follicular thyroid neoplasms with papillary-like nuclear features</i> ), encapsulado invasivo e não encapsulado da variante folicular do carcinoma papilífero quanto a dados demográficos, histológicos, imunoistoquímicos, laboratoriais e evolutivos de 74 pacientes. ....	54
<b>Tabela 3:</b> Comparação entre os subtipos NIFTP ( <i>noninvasive follicular thyroid neoplasms with papillary-like nuclear features</i> ) e os demais subtipos agrupados (encapsulado invasivo e não encapsulado da variante folicular do carcinoma papilífero) denominados como NÃO-NIFTP quanto a dados clínicos, histológicos, de estadiamento, imunoistoquímicos, laboratoriais e evolutivos de 74 pacientes. ....	58
<b>Tabela 4:</b> Comparação entre os subtipos NIFTP ( <i>noninvasive follicular thyroid neoplasms with papillary-like nuclear features</i> ), subdividido como unifocal ou multifocal, e os demais subtipos agrupados (encapsulado invasivo e não encapsulado da variante folicular do carcinoma papilífero), denominados como NÃO-NIFTP, quanto a dados clínicos, histológicos, imunoistoquímicos, laboratoriais e evolutivos de 74 pacientes. ....	62
<b>Tabela 5:</b> Comparação entre os casos livres da doença e com doença em atividade na última consulta quanto a dados demográficos, histológicos, imunoistoquímicos, laboratoriais e evolutivos. ....	66
<b>Tabela 6:</b> Associação entre atividade da doença na última consulta e os dados demográficos, histológicos, imunoistoquímicos, laboratoriais e evolutivos investigados. ....	69

## 4. RESUMO

---

**Introdução:** As metaloproteinases da matriz (MMPs) têm sido estudadas como marcadores de malignidade e na avaliação prognóstica de diversos tipos de carcinomas diferenciados da tireoide, mas não nos subtipos histológicos da variante folicular do carcinoma papilífero (VFCP): não encapsulado, encapsulado invasivo e encapsulado não invasivo (NIFTP). **Objetivos:** Comparar os subtipos da VFCP quanto à expressão proteica das MMP-1 e MMP-2, relacionando-a com o prognóstico. **Métodos:** Foi realizado estudo caso-controle, no qual foram avaliados 74 casos operados devido a VFCP, os quais foram classificados em três grupos, de acordo com a revisão do material histológico tumoral: não encapsulado, encapsulado invasivo e NIFTP. Os grupos foram comparados quanto à expressão imunohistoquímica das MMP-1 e MMP-2 no tecido tumoral, bem como quanto a dados clínico-laboratoriais, histológicos, terapêuticos e evolutivos. A imunexpressão proteica das MMPs foi então avaliada em relação a parâmetros referentes ao prognóstico dos casos (*status* na última avaliação e tempo de sobrevida livre de doença estrutural). Foram utilizados os testes de Mann-Whitney, Kruskal-Wallis, exato de Fisher, qui-quadrado de tendência e mapas perceptuais de análise de correspondência múltipla, além das curvas de Kaplan-Meier. Foi considerado o *Odds ratio* para as dimensões de efeito, com um intervalo de confiança (IC) de 95%. O nível de significância adotado foi de 5%. **Resultados:** O grupo NIFTP apresentou maiores percentuais de casos sem imunexpressão para MMP-1, em relação aos demais grupos, tanto individualmente (45,8% $\times$ 9,4% $\times$ 11,1%;  $p=0,023$ ), como quando agrupados como NÃO-NIFTP (45,8% $\times$ 9,8%;  $p=0,039$ ). Na comparação entre os grupos NIFTP unifocal, NIFTP multifocal e NÃO-NIFTP, o NIFTP unifocal apresentou menor percentual de casos positivos para MMP-1 (72,2% $\times$ 100,0% $\times$ 95,1%;  $p=0,031$ ). NIFTP se correlacionou com a imunexpressão negativa e intensa para MMP-1, e moderada para MMP-2, enquanto que o subtipo encapsulado invasivo se correlacionou com a imunexpressão moderada para MMP-1, e negativa e intensa para MMP-2. Na comparação NIFTP com NÃO-NIFTP, os resultados foram semelhantes. Não foram observadas outras associações entre as MMPs e o prognóstico dos casos. **Conclusões:** Os subtipos encapsulado invasivo e não encapsulado apresentaram maiores percentuais de casos com imunexpressão positiva para MMP-1 em relação ao NIFTP. NIFTP e encapsulado

invasivo apresentaram padrões opostos de correlação quanto à expressão de MMP-1 e MMP-2. NIFTP multifocal e os tumores NÃO-NIFTP apresentaram maior positividade para MMP-1 do que o NIFTP unifocal. Não foram observadas relações entre os subtipos da VFPC, a imunexpressão das MMPs estudadas e o prognóstico.

**Descritores:** Biomarcadores Tumorais; Carcinoma Papilar, Variante Folicular; Metaloproteinase 1 da Matriz; Metaloproteinase 2 da Matriz; Neoplasias da Glândula Tireoide; Prognóstico.

## 5.ABSTRACT

**Introduction:** Matrix metalloproteinases (MMPs) have been studied as markers of malignancy and in the prognostic evaluation of many types of different thyroid carcinoma, but not in the histological subtypes of the follicular variant of papillary thyroid carcinoma (FV-PTC): non-encapsulated, invasive encapsulated and encapsulated noninvasive (NIFTP). **Objectives:** To compare FV-PTC's subtypes regarding the protein expression of MMP-1 and MMP-2, relating it to the prognosis. **Methods:** A case-control study was performed, in which 74 surgery cases of the FV-PTC were evaluated, these cases were classified in three groups according to the review of the tumoral histologic material: non-encapsulated, invasive encapsulated and NIFTP. The groups were then compared in regards to the immunohistochemistry expression of MMP-1 and MMP-2 in the tumoral tissue, as well as in regards to clinical-laboratory, histologic, therapeutic and evolutionary data. The MMPs' protein immunoexpression was then evaluated in regards to the parameters referring to the prognosis of the cases (status in the last evaluation and survival time free of structural diseases.) The tests used were: Mann-Whitney, Kruskal-Wallis, Fisher's exact, Pearson's chi-squared and perceptual mappings of multiple correspondence analysis, as well as Kaplan-Meier curves. The *Odds ratio* was considered for the effect size, with a confidence interval (CI) of 95%. The significance level used was 5%. **Results:** The NIFTP group presented higher percentages of cases without immunoexpression for the MMP-1, when compared to the other groups, individually (45.8% $\times$ 9.4% $\times$ 11.1%;  $p=0.023$ ,) and also when grouped as NON-NIFTP (45.8% $\times$ 9.8%;  $p=0.039$ ). In the comparison of the groups unifocal NIFTP, multifocal NIFTP and NON-NIFTP, unifocal NIFTP presented a lower percentage of MMP-1 positive cases (72.2% $\times$ 100.0% $\times$ 95.1%;  $p=0.031$ ). NIFTP correlated with negative and intense immunoexpression for MMP-1, and moderate for the MMP-2, while the invasive encapsulated subtype correlated with moderate immunoexpression for the MMP-1, and negative and intense for the MMP-2. The comparison between NIFTP and NON-NIFTP showed similar results. Other associations between the MMPs and the cases' prognosis were not observed. **Conclusion:** The invasive encapsulated and non-encapsulated subtypes presented a higher percentage of cases with positive immunoexpression towards MMP-1 than the NIFTP. NIFTP and the invasive encapsulated indicated opposite correlation patterns regarding the MMP-1 and MMP-



2 expression. Multifocal NIFTP and the NON-NIFTP tumors presented higher positivity towards MMP-1 than the unifocal NIFTP. Relationships between FV-PTC's subtypes, the studied MMP's immunoexpression and the prognosis were not observed.

**Keywords:** Biomarkers, Tumor; Carcinoma, Papillary, Follicular; Matrix Metalloproteinase 1; Matrix Metalloproteinase 2; Thyroid Neoplasms; Prognosis.

## 6. INTRODUÇÃO

---

A incidência de câncer de tireoide aumentou nas últimas décadas. (1) Os carcinomas (Ca) que acometem a glândula podem ser classificados como diferenciados (CDT), medulares (CMT) e anaplásicos. Os CDT, divididos entre os carcinomas papilífero (CP) e folicular (CF), são os mais frequentes e correspondem a mais de 90% de todos os cânceres de tireoide. (2) O CP representa de 50 a 80% dos casos, (3) e apresenta diversas variantes, das quais a forma clássica é a mais comum (70 a 80%), seguida da variante folicular (VFCP), cuja incidência aumentou em quatro vezes nas últimas três décadas, havendo, inclusive, relatos de maior prevalência do que a variante clássica. (4)

Considerada inicialmente como um subtipo mais agressivo de CDT, semelhante ao CF, a VFCP passou a ser associada, posteriormente, a melhor prognóstico. (5) Diante dessa mudança de conceito, abordagens terapêuticas menos agressivas passaram a ser utilizadas em muitos casos, optando-se por tireoidectomias parciais em oposição às totais (TT), não indicação de dose ablativa de iodo radioativo e metas de manutenção para o hormônio estimulador da tireoide (TSH) mais elevadas. (2) Com essas medidas mais conservadoras, os principais marcadores séricos utilizados para seguimento, a tireoglobulina e o anticorpo anti-tireoglobulina (Anti-Tg), podem permanecer positivos com a permanência de tecido tireoidiano remanescente. Dessa forma, o estabelecimento de novos parâmetros para esses marcadores séricos para seguimento desses casos tem se mostrado necessário, particularmente, para a detecção de persistência e recorrência tumorais. Além disso, novos marcadores tumorais para as neoplasias tireoidianas têm sido buscados.

A VFCP é entidade complexa, dividida em três subtipos histológicos, com agressividades aparentemente diferentes: não encapsulado, encapsulado invasivo e encapsulado não invasivo. Considerando-se os comportamentos distintos que esses subtipos poderiam apresentar, Nikiforov *et al.* propuseram, em 2016, uma nova denominação para o encapsulado não invasivo, a variante menos agressiva e mais estudada: NIFTP (*noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features*). (6) O NIFTP mostrou-se, molecularmente, mais próximo das neoplasias tireoidianas foliculares do que das papilíferas e, segundo aqueles autores, provavelmente representaria uma forma benigna ou precursora do subtipo

encapsulado invasivo, a exemplo do que ocorreria na evolução do adenoma folicular (AF) para o CF. (6) Por outro lado, existem relatos de NIFTP associado a metástases linfonodais (7) ou mutações BRAFV600E em alguns pacientes. (8) Assim, esse assunto ainda é controverso, e as etapas envolvidas no suposto processo de evolução tumoral do NIFTP para o encapsulado invasivo, (6) bem como as diferenças evolutivas entre os três subtipos da VFCP, ainda não foram totalmente elucidadas.

O diagnóstico diferencial pré-operatório dos subtipos da VFCP é improvável. Frequentemente, esses tumores, quando submetidos à punção aspirativa por agulha fina (PAAF), resultam em diagnósticos citológicos classes III ou IV de Bethesda. Por poder corresponder a lesões de diferentes naturezas e carrear riscos de malignidade muito variáveis (6-40%), essas categorias diagnósticas, em geral, resultam em condutas heterogêneas que vão desde a solicitação de nova PAAF, realização de testes complexos envolvendo análises moleculares, até cirurgia. (9,10)

O diagnóstico histológico final da VFCP, por sua vez, representa um considerável desafio. Apesar de, assim como no caso do CP clássico (CPC), esse diagnóstico ser baseado nas características nucleares das células epiteliais tireoidianas, na VFCP essas características são associadas à presença de arquitetura folicular em determinada extensão do material. Já o diagnóstico dos diferentes subtipos histológicos da VFCP é ainda mais desafiador. O encapsulado invasivo se assemelha ao CF em alguns aspectos histológicos, como cápsula espessa e presença de invasão vascular e da cápsula tumoral. Já o subtipo infiltrativo ou não encapsulado da VFCP é semelhante, do ponto de vista molecular, ao CPC. (11) Os tumores classificados como NIFTP, por sua vez, possuem características citológicas encontradas no CP, sem preditores de agressividade como invasão capsular ou invasão angiolinfática, conforme o quadro 1. (12) Essa entidade se constitui no diagnóstico patológico mais controverso dentre os tumores da tireoide nas últimas décadas. (11) De fato, as lesões foliculares encapsuladas frequentemente exibem características nucleares limítrofes, com variabilidade interobservador considerável, mesmo entre especialistas em tireoide, (13) apresentando ainda comportamento incerto.

**Quadro 1.** Critérios diagnósticos para definição de *Non-invasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features* (NIFTP), conforme a WHO, 2017. (12)

1- Tumor encapsulado ou com evidente demarcação.
2- Padrão folicular de crescimento com todas as seguintes características: 2.1- Menos de 1% de formações papilíferas. 2.2- Ausência de corpos psamomatosos. 2.3- Menos de 30% de áreas sólidas, trabeculares ou insulares.
3- Características nucleares típicas de carcinoma papilífero (escore nuclear 2 ou 3)*
4- Ausência de invasão angiolinfática ou invasão capsular.
5- Ausência de necrose tumoral.
6- Ausência de atividade mitótica (menos de três mitoses por dez campos de grande aumento).

\*Escore nuclear: (1) Tamanho e formato (aumento de tamanho nuclear, sobreposição, alongamento e aglomeração celular). (2) Irregularidades de membrana nuclear (contornos irregulares, "grooves" nucleares, dobras nucleares, pseudoinclusões). (3) Características de cromatina (núcleos de padrão vítreo, clareamento nuclear com marginação). Cada item vale um ponto no escore, cuja soma final varia de zero a três.

Além das dificuldades diagnósticas com a histologia, as comparações entre os três subtipos da VFPC quanto a aspectos gerais e moleculares têm resultado em achados controversos. Alguns estudos não têm observado diferenças nos perfis moleculares ou clínico-patológicos entre eles. Por outro lado, menor frequência de metástases linfonodais e mutações *BRAF* têm sido observadas no NIFTP, em relação aos tumores NÃO-NIFTP (encapsulado invasivo e não encapsulado), enquanto que mutações do gene *RAS* têm sido frequentemente identificadas nas formas encapsuladas e raramente na não encapsulada. (14) Apesar dos estudos relatados, NIFTP e NÃO-NIFTP não têm sido comparados quanto ao prognóstico em longo prazo e, particularmente, quanto a persistência, recorrência, resposta à terapia e tempo de sobrevida livre de doença estrutural.

Aparentemente, após a classificação relativamente recente dos subtipos da VFPC, diversas pesquisas têm focado, especificamente, no NIFTP, com particular

atenção em suas características e comportamento indolente. Alguns questionamentos vêm sendo levantados quanto a diferentes padrões apresentados por essas lesões, principalmente em relação ao tamanho tumoral, presença de multifocalidade e de características oncocíticas, além da prevalência em diferentes áreas geográficas. (15) De fato, levando-se em consideração a ocorrência de metástase linfonodal, por exemplo, embora o risco seja pequeno no NIFTP, ele não é nulo e diferentes comportamentos tumorais podem ser observados, dependendo do tamanho da lesão. (16).

Diante da variabilidade morfológica e evolutiva dos subtipos da VFPC, o estudo de aspectos relacionados à fisiopatologia do processo carcinogênico desses tumores parece promissor. No processo de carcinogênese e progressão tumoral em geral, a capacidade de invasão local é uma característica fundamental. Nesse sentido, emerge o papel das metaloproteinases da matriz (MMPs), família de enzimas proteolíticas capazes de degradar a membrana basal, favorecendo a invasão de células malignas para o estroma ao redor do tumor primário, extravasamento para os tecidos adjacentes e ingresso nas circulações sanguínea e linfática, com formação de metástases à distância. (17) Existem ainda evidências que apontam para a capacidade em modificar e sustentar um microambiente facilitador para o crescimento e a disseminação da neoplasia. (18)

As MMPs são produzidas por uma variedade de tipos de células, incluindo células epiteliais, fibroblastos e células inflamatórias. Sua atividade pode ser controlada em diferentes níveis: transcrição, ativação proteolítica da forma zimogênica e inibição de sua forma ativa. Embora sejam classificadas de forma numérica, com base em sua estrutura enzimática e substratos específicos, essa classificação não reflete a realidade. De fato, apesar de terem sido identificadas mais de 28 MMPs, as MMP-4, MMP-5 e MMP-6 foram eliminadas devido a terem sido identificadas duplicações. (18)

Apesar de diversas MMPs terem sido relacionadas com mecanismos de invasão, disseminação metastática e angiogênese tumoral, (19) as MMP-1 e MMP-2 têm sido as mais frequentemente avaliadas em lesões da glândula tireoide, com resultados promissores. Maior expressão de MMP-1 tem sido relatada em lesões malignas, tais como o CF, em relação a benignas, tais como o AF. (20) Além da

relação entre maior expressão dessa enzima e malignidade, (21) a MMP-1 têm sido associada a maior agressividade tumoral. (22) Sua presença no CDT tem sido correlacionada com invasão laringotraqueal, multifocalidade e metástases regionais e à distância. (23) De fato, estudo recente relatou maior expressão de MMP-1 em casos de CP com metástases, principalmente as localizadas no compartimento cervical lateral, sendo que os autores a consideraram como preditora destas. (24) Por outro lado, outros autores têm relatado expressão da proteína em lesões foliculares, tanto benignas quanto malignas (25) e ausência de correlação com invasão, metástase e recorrência. (21) Não foram encontrados relatos da avaliação da MMP-1 na VFPC.

Com relação à MMP-2, sua produção estaria aumentada tanto no Ca de tireoide como em condições benignas, tais como em tecidos em processo de remodelação ou reparo. (26) Por outro lado, Cho Mar *et al.* analisaram sua expressão, por meio de estudo imunoistoquímico, em CF com diferentes graus de invasão, AF e bócio, tendo observado positividade nas lesões malignas, mas não nas benignas. (25) Já Maeta *et al.*, comparando CP com tecidos ou regiões não tumorais, identificaram maiores expressão e atividade de MMP-2 no CP. (27) Também Marecko *et al.* identificaram maior expressão da MMP-2 no CP do que em AF ou em tecido peritumoral, conseguindo diferenciar o tumor maligno dos tecidos benignos. Ainda, naquele estudo, a MMP-2 foi capaz de distinguir a VFPC do AF. (28) Além disso, os níveis séricos dessa MMP têm sido utilizados na diferenciação entre lesões tireoidianas benignas e malignas. (29,30) Pasiaka *et al.* relataram concentrações séricas elevadas de MMP-2 em pacientes com tumores malignos, quando comparados àqueles com tumores benignos de tireoide. (31) Aparentemente, a MMP-2 estaria associada mais aos CDT do que às outras neoplasias tireoidianas. Assim, Korem *et al.*, comparando CP, CF, CMT, AF e bócio multinodular, relataram que a imunoexpressão da MMP-2, por imunoistoquímica, foi maior nos CP do que nas outras lesões estudadas. (32) Além disso, embora a MMP-2 tenha sido associada a malignidade tireoidiana, sua relação com agressividade tumoral ainda é controversa. Alguns autores observaram associação entre a MMP-2 e invasão tumoral e metástases, tanto no CP como no CF. (26) Maeta *et al.* relataram relação entre maior expressão da MMP e tumores

maiores, metástases linfonodais, estágios clínicos mais avançados, invasão vascular e intratireoideana e metástases a distância. (27) Da mesma forma, Tan *et al.* observaram que a positividade para MMP-2 se associou com invasão extratiroideana, metástase linfonodal e profundidade de invasão tumoral, (33) enquanto que Marecko *et al.* relataram que a expressão elevada da MMP-2 no CP se associou com metástase linfonodal. (28) Além disso, MMP-2 foi correlacionada à angiogênese tumoral. (34) Por outro lado, Korem *et al.* não conseguiram encontrar diferenças de expressão entre os CP com e sem metástase linfonodal, sugerindo que a MMP-2 não seria útil como marcador prognóstico. (32) Não foram encontrados relatos sobre a avaliação da MMP-2 nos subtipos histológicos da VFPC.

Resumindo, as MMP-1 e 2 têm sido estudadas em diversos tipos de CDT, mostrando ou não relação com o diagnóstico e o prognóstico desses tumores. Contudo, até o momento, não foram encontrados relatos sobre sua utilização na avaliação comparativa dos três subtipos histológicos da VFPC: não encapsulado, encapsulado invasivo e NIFTP. Como o diagnóstico histológico desses subtipos ainda é controverso e pairam dúvidas quanto ao seu comportamento biológico, as MMPs poderiam representar ferramentas úteis para auxiliar na compreensão sobre a biologia desses tumores.



## 13. CONCLUSÃO

---

Neste estudo, comparando a imunexpressão de MMP-1 e MMP-2 nos subtipos da VFCP, concluímos que o encapsulado invasivo e o não encapsulado apresentaram maiores percentuais de casos com imunexpressão positiva para MMP-1 em relação ao NIFTP. NIFTP multifocal e os tumores NÃO-NIFTP (encapsulado invasivo e não encapsulado) apresentaram maior positividade para MMP-1 do que o NIFTP unifocal. Concluímos ainda que os subtipos NIFTP e encapsulado invasivo apresentaram padrões opostos de correlação quanto à expressão de MMP-1 e MMP-2. Não foram observadas relações entre os subtipos da VFCP, a imunexpressão das MMPs estudadas e o prognóstico.

## 14. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

1. Veiga LHS, Neta G, Aschebrook-Kilfoy B, Ron E, Devesa SS. Thyroid cancer incidence patterns in Sao Paulo, Brazil, and the U.S. SEER program, 1997-2008. *Thyroid*. 2013;
2. Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, Doherty GM, Mandel SJ, Nikiforov YE, et al. 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer: The American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer. *Thyroid*. 2016;
3. Instituto Nacional de Cancer José Alencar Gomes da Silva. INCA - Instituto Nacional de Câncer - Estimativa 2016. Ministério da Saúde Instituto Nacional de Cancer José Alencar Gomes da Silva. 2016.
4. Reiter E, Beck V, Medjakovic S, Jungbauer A. Isoflavones are safe compounds for therapeutical applications - Evaluation of in vitro data. *Gynecol Endocrinol*. 2009;25(9):554–80.
5. Tunca F, Sormaz IC, Iscan Y, Senyurek YG, Terzioglu T. Comparison of histopathological features and prognosis of classical and follicular variant papillary thyroid carcinoma. *J Endocrinol Invest*. 2015;
6. Nikiforov YE, Seethala RR, Tallini G, Baloch ZW, Basolo F, Thompson LDR, et al. Nomenclature revision for encapsulated follicular variant of papillary thyroid carcinoma a paradigm shift to reduce overtreatment of indolent tumors. *JAMA Oncol*. 2016;2(8):1023–9.
7. Cho U, Mete O, Kim MH, Bae JS, Jung CK. Molecular correlates and rate of lymph node metastasis of non-invasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features and invasive follicular variant papillary thyroid carcinoma: The impact of rigid criteria to distinguish non-invasive f. *Mod Pathol*. 2017;
8. Kim MJ, Won JK, Jung KC, Kim JH, Cho SW, Park DJ, et al. Clinical Characteristics of Subtypes of Follicular Variant Papillary Thyroid Carcinoma. *Thyroid*. 2018;
9. Cibas ES, Ali SZ. The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology. *American Journal of Clinical Pathology*. 2009.
10. Cibas ES, Ali SZ. The 2017 Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. *Thyroid*. 2017;
11. Baloch ZW, Seethala RR, Faquin WC, Papotti MG, Basolo F, Fadda G, et al. Noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features (NIFTP): A changing paradigm in thyroid surgical pathology and implications for thyroid cytopathology. *Cancer Cytopathol*. 2016;124(9):616–20.
12. Lloyd R V, Osamura YR, Kloppel G, Rosai J. WHO classification of tumours of endocrine organs. WHO Press. 2017.
13. Hirokawa M, Carney JA, Goellner JR, DeLellis RA, Heffess CS, Katoh R, et al. Observer variation of encapsulated follicular lesions of the thyroid gland. *Am J Surg Pathol*. 2002;

14. Sohn SY, Lee JJ, Lee JH. Molecular Profile and Clinicopathologic Features of Follicular Variant Papillary Thyroid Carcinoma. *Pathol Oncol Res.* 2020;26(2):927–36.
15. Maletta F, Falco EC, Gambella A, Metovic J, Papotti M. Noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features: From echography to genetic profile. *Tohoku J Exp Med.* 2020;252(3):209–18.
16. Xu B, Ghossein RA. Noninvasive Follicular Thyroid Neoplasm with Papillary-Like Nuclear Features (NIFTP): An Update. *Head Neck Pathol [Internet].* 2020;14(2):303–10. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12105-019-01124-z>
17. Liotta LA, Tryggvason K, Garbisa S, Hart I, Foltz CM, Shafie S. Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement membrane collagen. *Nature.* 1980;
18. Rydlova M, Holubec L, Ludvikova M, Kalfert D, Franekova J, Povysil C, et al. Biological activity and clinical implications of the matrix metalloproteinases. *Anticancer Res.* 2008;28(2 B):1389–97.
19. Sternlicht MD, Bissell MJ, Werb Z. The matrix metalloproteinase stromelysin-1 acts as a natural mammary tumor promoter. *Oncogene.* 2000.
20. Buergy D, Weber T, Maurer GD, Mudduluru G, Medved F, Leupold JH, et al. Urokinase receptor, MMP-1 and MMP-9 are markers to differentiate prognosis, adenoma and carcinoma in thyroid malignancies. *Int J Cancer.* 2009;125(4):894–901.
21. Patel A, Straight AM, Mann H, Duffy E, Fenton C, Dinauer C, et al. Matrix metalloproteinase (MMP) expression by differentiated thyroid carcinoma of children and adolescents. *J Endocrinol Invest.* 2002;
22. Teshima J, Doi H, Fujimori K, Watanabe M, Nakajima N, Nakano T, et al. A human thyroid cancer cell line, DH-14-3, newly established from poorly differentiated thyroid carcinoma. *Tohoku J Exp Med.* 2013;
23. Mizrachi A, Koren R, Hadar T, Yaniv E, Morgenstern S, Shvero J. Expression of MMP-1 in invasive well-differentiated thyroid carcinoma. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngology.* 2011;
24. Bumber B, Marjanovic Kavanagh M, Jakovcevic A, Sincic N, Prstacic R, Prgomet D. Role of matrix metalloproteinases and their inhibitors in the development of cervical metastases in papillary thyroid cancer. *Clin Otolaryngol.* 2020;
25. Cho Mar K, Eimoto T, Tateyama H, Arai Y, Fujiyoshi Y, Hamaguchi M. Expression of matrix metalloproteinases in benign and malignant follicular thyroid lesions. *Histopathology.* 2006;
26. Campo E, Merino MJ, Liotta L, Neumann R, Stetler-Stevenson W. Distribution of the 72-kd type IV collagenase in nonneoplastic and neoplastic thyroid tissue. *Hum Pathol.* 1992;
27. Maeta H, Ohgi S, Terada T. Protein expression of matrix metalloproteinases 2

- and 9 and tissue inhibitors of metalloproteinase 1 and 2 in papillary thyroid carcinomas. *Virchows Arch.* 2001;
28. Marečko I, Cvejić D, Tatić S, Dragutinović V, Paunović I, Savin S. Expression of matrix metalloproteinase-2 and its tissue inhibitor-2 in fetal and neoplastic thyroid tissue and their significance as diagnostic and prognostic markers in papillary carcinoma. *Cancer Biomarkers.* 2011;
  29. Shi Y, Su C, Hu H, Yan H, Li W, Chen G, et al. Serum MMP-2 as a potential predictive marker for papillary thyroid carcinoma. *PLoS One.* 2018;
  30. Zhou SF, Hu SY, Ma L, Miao L, Mao WZ. Correlations between papillary thyroid cancer and peripheral blood levels of matrix metalloproteinase-2, matrix metalloproteinase-9, tissue inhibitor of metalloproteinase-1, and tissue inhibitor of metalloproteinase-2. *Chin Med J (Engl).* 2013;
  31. Pasięka Z, Stepien H, Czyz W, Pomorski L, Kuzdak K. Concentration of metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in the serum of patients with benign and malignant thyroid tumours treated surgically. *Endocr Regul.* 2004;
  32. Korem S, Kraiem Z, Shiloni E, Yehezkel O, Sadeh O, Resnick MB. Increased expression of matrix metalloproteinase-2: A diagnostic marker but not prognostic marker of papillary thyroid carcinoma. *Isr Med Assoc J.* 2002;
  33. Tan H, Ye K, Wang Z, Tang H. Clinicopathologic evaluation of immunohistochemical CD147 and MMP-2 expression in differentiated thyroid carcinoma. *Jpn J Clin Oncol.* 2008;
  34. Fang J, Shing Y, Wiederschain D, Yan L, Butterfield C, Jackson G, et al. Matrix metalloproteinase-2 is required for the switch to the angiogenic phenotype in a tumor model. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;
  35. Edition S. Cutaneous Squamous Cell Carcinoma and Other Cutaneous Carcinomas. *AJCC Cancer Staging Handbook.* 2010. 359–376 p.
  36. Bolf EL, Sprague BL, Carr FE. A linkage between thyroid and breast cancer: A common etiology? *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention.* 2019.
  37. Borges AK da M, Ferreira JD, Koifman S, Koifman RJ. Câncer de tireoide no Brasil: estudo descritivo dos casos informados pelos registros hospitalares de câncer, 2000-2016. *Epidemiol e Serv saude Rev do Sist Unico Saude do Bras.* 2020;
  38. Schmidbauer B, Menhart K, Hellwig D, Grosse J. Differentiated thyroid cancer—treatment: State of the art. *International Journal of Molecular Sciences.* 2017.
  39. Zajkowska K, Kopczyński J, Gózdź S, Kowalska A. Noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features: A problematic entity. *Endocrine Connections.* 2020.
  40. Geramizadeh B, Maleki Z. Non-invasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features (NIFTP): a review and update. *Endocrine.* 2019.

41. Chen T, Liu Z, Zeng W, Sun S. Risk factors for central lymph node metastasis in patients with papillary thyroid microcarcinoma: A meta-analysis. *Int J Clin Exp Med*. 2016;9(9):17165–74.
42. Faro FN, Simões VRF, Ricardo GP, Cabral CP, Ribeiro K de CB, Scalissi NM, et al. Prognostic factors for incomplete response in thyroid microcarcinoma: an analysis of initial response to therapy in 517 patients. *Arch Endocrinol Metab*. 2021;1–9.