

Como a Ciclina D1 se comporta como biomarcador nos carcinomas papilíferos de tireoide e bócios multinodulares?

How does Cyclin D1 behavior as a biomarker in papilliferous thyroid carcinomas and multinodular goiters?

Ivan José Paredes Bartolomei^{1,2}, Carmen Australia Paredes Marcondes Ribas¹, Maria Augusta Karas Zella¹, Ana Maria Waaga-Gasser³, Martin Gasser¹, Nicolau Gregori Czczko¹, Paulo Afonso Nunes Nassif^{1,2}, Jose Eduardo Ferreira Manso⁴, Orlando Jorge Martins Torres⁵

RESUMO

Racional: Os carcinomas papilíferos são os mais prevalentes e menos agressivos de tireoide (CPT). Em alguns casos, o diagnóstico é duvidoso e o prognóstico ruim. A busca de biomarcadores teciduais que permitam assegurar tanto o diagnóstico para casos indeterminados, quanto o prognóstico, identificando os casos de maior agressividade, têm sido estudadas nas últimas décadas.

Objetivo: Revisar na literatura na busca da ciclina D1 como marcador dos carcinomas papilíferos de tireoide e nos bócios multinodulares, e avaliar se a expressão dela apresenta correlação com as características clínico-patológicas dos carcinomas papilíferos de tireoide.

Métodos: Revisão narrativa feita colhendo informações para leitura e análise a partir de pesquisa online em plataformas virtuais. Inicialmente foi realizada busca por descritores DECs relacionados ao tema, utilizando os seguintes termos: "carcinoma papilífero de tireoide, ciclina D1, imunistoquímica, diagnóstico, prognóstico." com busca AND ou OR, considerando o título e/ou resumo e os escolhidos foram lidos na íntegra.

Resultados: A busca incluiu 77 artigos que foram compilados nesta revisão.

Conclusão: A ciclina D1 foi expressa na grande maioria dos CPT sendo a distribuição difusa predominante. Não houve correlação entre a expressão dela com qualquer característica clinicopatológica dos CPT.

DESCRIPTORIOS: Carcinomas papilíferos de tireoide. Ciclina D1. Imunistoquímica. Diagnóstico. Prognóstico.

ABSTRACT

Introduction: Papillary carcinomas are the most prevalent and least aggressive thyroid carcinomas (PTC). In some cases, the diagnosis is doubtful and the prognosis is poor. The search for tissue biomarkers that ensure both the diagnosis for indeterminate cases and the prognosis, identifying the most aggressive cases, has been studied in recent decades.

Objective: To review the literature in search of cyclin D1 as a marker of papillary thyroid carcinomas and multinodular goiters and evaluate whether its expression correlates with the clinicopathological characteristics of papillary thyroid carcinomas.

Methods: Narrative review carried out by collecting information for reading and analysis from online research on virtual platforms. Initially, a search was carried out from MESH descriptors related to the topic, using the following terms: "papillary thyroid carcinoma, cyclin D1, immunohistochemistry, diagnosis, prognosis." with AND or OR search, considering the title and/or abstract and those chosen were read in full.

Results: The search included 77 articles that were compiled in this review.

Conclusion: Cyclin D1 was expressed in the vast majority of PTCs, with diffuse distribution being predominant. There was no correlation between its expression and any clinicopathological characteristic of PTC.

KEYWORDS: Papillary thyroid carcinomas. Cyclin D1. Immunohistochemistry. Diagnosis. Prognosis.



A) Câncer papilífero; B) PAAF de um nódulo com CPT; C) PAAF mostrando corpo psamoma

Mensagem Central

A ciclina D1 foi expressa na grande maioria dos carcinomas papilíferos de tireoide sendo a distribuição difusa predominante. O tecido benigno - bório multinodular expressou a coloração para ciclina D1 com intensidade fraca e distribuição esparsa. A expressão da ciclina D1 não se correlacionou com achados clínico-patológicos (tamanho do tumor, invasão angiolinfática, metástase linfonodal ou metástases à distância) nos carcinomas papilíferos de tireoide.

Perspectiva

Como a análise da expressão da ciclina D1 por imunistoquímica na diferenciação entre bório multinodular e carcinoma papilífero de tireoide mostrou-se útil. Este marcador molecular poderia ter papel diferenciador para o clínico e patologista em amostras adquiridas pela punção aspirativa por agulha fina para auxiliar no diagnóstico de carcinoma papilífero de tireoide em nódulos com características indeterminadas. No entanto, dados adicionais devem ser necessários para corroborar com esta hipótese.

INTRODUÇÃO

O câncer de tireoide é a neoplasia maligna mais comum da região da cabeça e pescoço e a neoplasia endócrina mais frequente. Predomina em mulheres entre 45-54 anos e tem como principais fatores de risco o sexo feminino, a história familiar de câncer de tireoide e a exposição à radiação na região do pescoço. No Brasil ele corresponde a 1,3% de todos os cânceres, com incidência anual de 9.610 casos novos, 4% em mulheres e 0,7% nos homens.¹

Os tipos mais prevalentes são os papilíferos (80%) e foliculares (10%), denominados carcinomas diferenciados de tireoide. Já os carcinomas medulares e os anaplásicos, são chamados respectivamente de carcinomas pouco diferenciados e indiferenciados, sendo menos frequentes e mais agressivos. Os carcinomas podem apresentar metástases para os linfonodos (papilíferos e medulares), metástases à distância (todos os tipos) e/ou invadir estruturas locais como nervo laríngeo recorrente, traqueia, músculo e/ou esôfago (frequentemente nos anaplásicos).²

As suas causas e a fisiopatologia não são bem compreendidas.^{3,4} Clinicamente eles se manifestam predominantemente pelo aparecimento de nódulos na região da tireoide, menos frequentemente por surgimento de linfonodos na cadeia cervical, rouquidão, dispneia, disfagia ou tosse e raramente por metástases à distância (pulmonares e ósseas). Nos últimos anos, com o avanço da tecnologia, o achado incidental por exame de imagem (ultrassonografia, tomografia, ressonância ou PET-CT) tem sido cada vez mais frequente.⁵ Para o diagnóstico, na prática, utiliza-se a punção aspirativa por agulha fina (PAAF), menos invasiva e geralmente efetiva. Porém, em certos casos podem ocorrer dificuldades na identificação do material como benigno ou maligno, conduzindo o paciente para tratamento cirúrgico.

Os marcadores tumorais vêm sendo utilizados há algumas décadas para minimizar a falta de acurácia diagnóstica e prognóstica nesses tumores. Por exemplo, no sangue, a presença da tireoglobulina se correlaciona com a persistência dos carcinomas diferenciados de tireoide pós-tireoidectomia; a calcitonina e o antígeno carcinoembrionário, com a massa tumoral dos carcinomas medulares. No tecido tumoral, o marcador genético BRAFV600E correlaciona-se com pior prognóstico nos papilíferos.^{2,6-10}

Para auxiliar a interpretação da citologia também têm sido utilizadas análises moleculares através de técnicas imunoistoquímicas nas amostras tumorais. Nessa direção está a ciclina D1, proteína responsável pelo controle e coordenação do ciclo celular. A desregulação desta proteína pode ocasionar sua superexpressão, afetando o controle do ciclo celular, contribuindo para a tumorigênese.^{11,12}

Os objetivos deste estudo foram revisar na literatura a presença imunoistoquímica do marcador molecular ciclina D1 nos carcinomas papilíferos de tireoide e nos bócios multinodulares, e avaliar se a expressão dela apresenta correlação com as características clínico-patológicas dos carcinomas papilíferos de tireoide.

MÉTODO

A revisão narrativa foi feita colhendo informações publicadas em periódicos indexados. O material para leitura e análise foi selecionado a partir de pesquisa online em plataformas virtuais (SciELO – Scientific Electronic Library Online, Bibliomed, BVS - Biblioteca Virtual em Saúde, Pubmed e Scopus). Inicialmente foi realizada busca por descritores DECs relacionados ao tema, utilizando os seguintes termos: “carcinoma papilífero de tireoide, ciclina D1, imunoistoquímica, diagnóstico, prognóstico.” com busca AND ou OR, considerando o título e/ou resumo. Com estes dados a busca incluiu 77 artigos que foram estudados na íntegra pelos autores.

DISCUSSÃO

Câncer de tireoide

Ele se apresenta frequentemente como nódulo assintomático, descoberto pelo próprio paciente (autopalpação) ou pelo médico (exame físico). O risco de malignidade de nódulo frio solitário ou de bócio multinodular é de 5-8%, sendo maior nos extremos de idade.¹³ Menos comumente ele se apresenta por queixa relacionada ao próprio tumor avançado como rouquidão ou paralisia de corda vocal (por envolvimento do nervo laríngeo recorrente), desvio da traqueia e dispneia (por aumento da glândula e pressão na traqueia), disfagia (por pressão no esôfago), linfadenopatia cervical (por metástases locorregionais) ou mais raramente (2-5%) por queixas ou descobertas relacionadas às metástases à distância principalmente pulmonares e ósseas.^{13,14}

Com o advento da tecnologia é cada vez mais frequente o achado de nódulo de maneira incidental; porém, o rastreamento assintomático, seja por palpação ou por exame de imagem, não é recomendado, podendo ser considerado em pacientes com história de irradiação do pescoço na infância ou familiar de câncer de tireoide ou de neoplasia endócrina múltipla.^{5,15-17}

As causas do câncer de tireoide não são bem compreendidas, mas algumas teorias são propostas. Mutações genéticas (gene BRAFV600E) e desequilíbrios no ciclo celular entre fatores proliferativos e inibitórios ou apoptóticos para os carcinomas papilíferos; translocações cromossômicas para os carcinomas foliculares e, mutações no proto-oncogene rearranged during transfection – RET para os carcinomas medulares.^{3,4,18,19}

Os mecanismos fisiopatológicos tampouco são bem compreendidos. São sugeridas alterações moleculares, algumas que podem favorecer a proliferação celular (oncogenes, hormônios do crescimento, fatores apoptóticos e inibitórios do ciclo celular) e outras que podem dificultar a supressão do tumor. Acredita-se que o câncer de tireoide possa ser um continuum de doença, partindo do tumor bem diferenciado para o indiferenciado anaplásico, decorrentes de alterações genéticas precoces e tardias.^{18,19}

As causas e fisiopatologia de cada tipo de tumor são resumidas na Tabela 1.

TABELA 1 – Causas e fisiopatologia sugeridas para os carcinomas de tireoide

Tipo	Causas	Fisiopatologia
Papilíferos	Mutações BRAFV600E e desequilíbrios no ciclo celular	Alterações genéticas (precoce ou tardias) ocasionam desequilíbrios moleculares (proliferação e inibição celular)
Foliculares	Translocações cromossômicas	
Medulares	Mutações RET	

RET=rearranged during transfection; BRAFV600E=gene da RAF quinase do tipo B

As células foliculares tireoideanas originam mais de 90% dos cânceres (papilíferos, foliculares e anaplásicos). Os diferenciados (papilíferos e foliculares) possuem evolução lenta e de bom prognóstico, com sobrevivência de até 95% em 10 anos. Já os anaplásicos, representam 6% e são chamados de indiferenciados, encontrados geralmente em idosos e tem caráter mais agressivo com evolução rapidamente desfavorável.^{13,20,21}

Outro tumor indiferenciado de tireoide, porém originado das células C ou parafoliculares, é o carcinoma medular e representa 2-3%; geralmente é esporádico e com maior frequência familiar (por predisposição genética) como parte da síndrome de neoplasia endócrina múltipla. Estes carcinomas podem elevar a calcitonina sérica.²² Outros tumores também indiferenciados, são bem menos frequentes e representam ≤1%. Neste grupo encontra-se o linfoma, sarcoma, tumores primários não epiteliais e tumores metastáticos de outros órgãos para a tireoide como mama, rim e melanoma.²⁰

No contexto de exames diagnósticos, o destaque é para a ultrassonografia com Doppler da tireoide que pode ser usada para orientar punção aspirativa por agulha fina (PAAF) no momento da punção do nódulo suspeito (>1 cm, presença de microcalcificações, comprimento maior que a largura, hipervascularidade, hipoecogenicidade e margens irregulares). Também é utilizada para definir as dimensões dos nódulos e seus aspectos característicos (se sólido ou cístico), além da avaliação dos linfonodos cervicais.¹³

A análise citológica pela PAAF geralmente define o tipo. Porém em determinadas situações, a histologia não consegue diferenciar carcinomas de adenomas foliculares ou dos bócios multinodulares e, nestes casos, o nódulo deve ser removido para análise anatomopatológica através da microscopia para observar se existe invasão capsular ou vascular. No entanto, mesmo com esta análise, os resultados ainda podem ser indeterminados e devem ser vistos como suspeitos de malignidade.¹³

A elastografia por ultrassonografia pode ser utilizada para auxiliar na escolha de pacientes candidatos à cirurgia quando a citologia após a punção é indeterminada. A presença de baixa elasticidade indica tratamento cirúrgico.^{23,24}

Podem ainda ser utilizadas análises moleculares das amostras de citologia indeterminada para detectar mutações as BRAFV600E, RET/PTC ou RAS, aprimorando o diagnóstico. No entanto, alguns carcinomas papilíferos ou foliculares podem não sofrer mutações. Por outro lado, para evitar a remoção profilática de linfonodos clinicamente negativos em

pessoas com câncer de tireoide, pode-se realizar biópsia do linfonodo sentinela utilizando corante azul, radioisótopos ou técnicas combinadas para detectar quais estão verdadeiramente comprometidos.^{11,13,25-27}

Outros exames diagnósticos têm suas aplicações específicas. A punção por agulha grossa ou core biopsy (linfoma), a tomografia do pescoço (carcinoma medular ou linfoma), a calcitonina sérica (carcinoma medular), testes genéticos quando há suspeita de mutações do proto-oncogene rearranged during transfection (RET) na suspeita de neoplasia endócrina múltipla. A laringoscopia, nos pacientes que possuem rouquidão por câncer avançado (podem mostrar pregas vocais paralisadas). Os exames hormonais (TSH, T4 livre e T3 livre) e a cintilografia com I-123 podem ser considerados na avaliação de nódulos funcionantes (ou “quentes”) quando há suspeita de hipertireoidismo.²⁸

O tratamento padrão para a maioria dos tumores diferenciados (papilíferos, foliculares) é operatória seguida de ablação com radioiodo e a supressão do hormônio estimulante da tireoide (TSH). A tireoidectomia total é realizada se houver algum fator prognóstico desfavorável (sexo masculino, idade avançada ou extensão/tamanho maior do nódulo). Pode haver complicações em 2% dos casos (lesão do nervo laríngeo recorrente e/ou hipoparatiroidismo). Já a hemitireoidectomia (lobectomia associada a istmectomia) é realizada se o carcinoma for unilateral, menor que 1 cm e se não houver fatores prognósticos desfavoráveis.¹³

A tireoglobulina sérica não deve ser utilizada como ferramenta diagnóstica, mas ela é útil no monitoramento pós-tratamento dos carcinomas diferenciados. Níveis baixos observados antes da realização da ablação com radioiodo, podem prever o estado futuro livre da doença.²⁹

Se a doença recidiva ou ocorrer metástases, a ablação com radioiodo I-131 vem a seguir com ou sem nova operação dependendo da acessibilidade ao tumor. Se ele não responder ao radioiodo, utilizam-se tratamentos sistêmicos com inibidores da quinase (sorafenibe e lenvatinibe), porém com toxicidades significativas.³⁰⁻³²

Os carcinomas medulares devem ser tratados com tireoidectomia total e nos casos de recorrências haverá necessidade de operação adicional, associada à radioterapia. Para casos avançados ou não candidatos à cirurgia, o inibidor da tirosina quinase oral (vandetanibe) se mostrou eficaz em relação ao placebo.^{33,34}

Os carcinomas anaplásicos devem ser tratados, se possível, com tireoidectomia total seguida de quimioterapia (adriamicina ou platina) e radioterapia; o linfoma tireoideano primário com radioterapia e quimioterapia (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisolona ou esquema).³⁵

Na Tabela 2 estão resumidas as características dos tumores de tireoide, bem como seus tratamentos e taxas de sobrevivência.

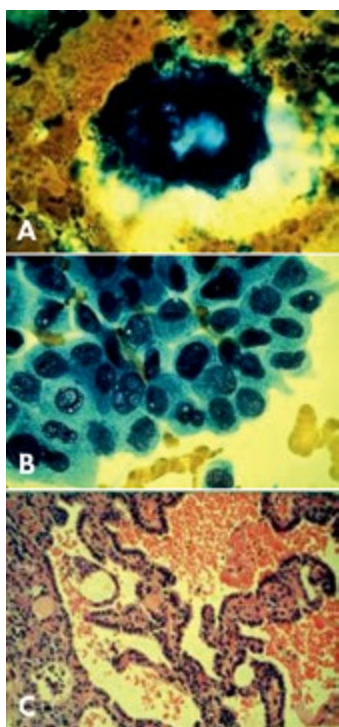
TABELA 2 – Principais características dos tipos de câncer de tireoide

Cels. Origem	Tipo	Diferenciação	Características	Metástase	Marcador sanguíneo	Tratamento	Sobrevida
Foliculares	Papilífero (80%)	Diferenciado	Multifocal ou multicêntrico (25%)	Gânglios (60%)	Tireoglobulina	Cx, I131, LT4	> 90%(10 anos)
	Folicular (10%)	Diferenciado	Unifocal	Pulmão e Ossos (20%)	Tireoglobulina	Cx, I131, LT4	80%(10 anos)
	Anaplásico (6%)	Indiferenciado	Evolução rápida, Invasão local (laringeo recorrente, traqueia, músculo e/ou esôfago)	Sangue	-	Cx QT, RT	Meses
Parafoliculares	Medular (2%)	Pouco Diferenciado	Multicêntrico. Formas familiares (25%)	Gânglios e Sangue	Calcitonina CEA	Cx, RT ITQ	80%(5 anos)

Cx=cirurgia; RT=radioterapia; QT=quimioterapia; LT4=levotiroxina; ITQ=inibidor da tirosina quinase; I131=radioiodo 131

Carcinomas papilíferos de tireoide (CPT)

Histologicamente são tumores não encapsulados e parcialmente císticos, caracterizados pela presença de papilas (uma a duas camadas de células tumorais que circundam centro fibrovascular bem definido) sem haver folicúlos ou colóide (Figura 1A). O diagnóstico morfológico é baseado em achados citológicos típicos, mas nenhum deles isoladamente patognomônico, como núcleos grandes, ovalados, em grande número e sobrepostos, podendo conter cromatina hipodensa e citoplasma com pseudoinclusões devido à membrana nuclear redundante ou sulcos nucleares (Figura 1B). Aproximadamente metade dos cânceres papilíferos de tireoide contém corpos de psamoma calcificados, ou remanescentes de papilas tumorais infartadas (Figura 1C).¹⁴



Fonte: Tuttle, 2018¹⁴

FIGURA 1 – Carcinoma papilífero de tireoide: A) peça cirúrgica mostrando a aparência histológica clássica do câncer papilífero com estrutura papilar e sem folicúlos ou colóides, e o desenvolvimento folicular pode ser observado em alguns desses carcinomas (variante folicular do câncer papilífero) e neles, o diagnóstico é feito a partir das características citológicas das células; B) PAAF de um nódulo com CPT onde as células e os núcleos são grandes e o citoplasma tem aparência de “vidro fosco” e os nucléolos são proeminentes e núcleos com fendas, sulcos e “orifícios” devido às inclusões citoplasmáticas intranucleares (“olhos órfãos de Annie”); C) PAAF de um nódulo com CPT onde aspirado com agulha fina mostrando corpo psamoma.

Existem formas variantes de CPT que apresentam todas as características histológicas com algumas variações, como a variante folicular (mais frequente e menos agressiva) e as variantes células altas, insular, colunar, hobnail, oxifílica ou de Hürthle, trabecular, células claras, cribiforme e esclerosante difusa (menos frequentes e mais agressivas).³⁶

A variante mais comum do carcinoma papilífero é a folicular e apresenta pequenos folicúlos, semelhante aos observados nos carcinomas foliculares. Existem 2 subtipos, o não invasivo (encapsulado e bem circunscrito) e outro invasivo (de cápsula ou vaso ou sem cápsula bem definida). Como o prognóstico do papilífero variante folicular não invasiva (do inglês, noninvasive follicular variant of papillary thyroid carcinoma - NIFVPTC) é excelente, a Sociedade Americana de Tireoide - ATA, removeu o termo carcinoma, propondo o termo tumor folicular de tireoide não invasivo com características nucleares semelhantes aos carcinomas papilíferos (do inglês, Noninvasive Follicular Thyroid Neoplasm with Papillary-like Nuclear Features - NIFPT), que é manejado como neoplasia ao invés de malignidade e tratado apenas com lobectomia, sem ablação ou terapia supressiva do TSH.^{37,38}

O padrão de crescimento e o comportamento biológico do câncer papilífero é variável. Em um extremo do espectro está o microcarcinoma papilífero comum, anteriormente chamado de câncer papilífero oculto, definido como tumor com menos de 1 cm de diâmetro. Estes microcarcinomas são encontrados em 15-30% das glândulas tireoides na autópsia. A alta frequência, associada à raridade do câncer papilífero detectado clinicamente, sugere que a presença de foco único do microcarcinoma na tireoidectomia provavelmente seja achado incidental e sem importância clínica. No outro extremo do espectro está o câncer localmente invasivo, com metástases distantes observadas no momento do diagnóstico. Estes tumores são propensos a metastizar através dos canais linfáticos intratireoideos e formar tumores multifocais ou envolver linfonodos regionais.

As metástases para linfonodos são as mais frequentes e ocorrem em até 80% dos casos (nos microcarcinomas a incidência pode chegar a 64%). Pode haver invasão capsular ou vascular do linfonodo ou, menos frequentemente, do vaso sanguíneo, acarretando em metástases à distância (2-10%) sendo a maioria para o pulmão e menos frequentemente para os ossos. Locais mais raros são cérebro, rins, fígado e as glândulas suprarrenais.¹⁴

A mortalidade dos carcinomas papilíferos é determinada pela idade, tamanho do tumor, invasão

locorregional e metástases à distância. A mortalidade com câncer papilífero sem metástases é de apenas 6%.¹⁶

As características moleculares têm sido utilizadas como preditores de extensão da doença. Assim a presença de mutações BRAFV600E, telomerase reverse transcriptase - TERT e expressão do fator de crescimento vascular endotelial - VEGF correlacionam-se com a extensão da doença podendo ser úteis na estratificação de risco.^{4,39}

Ainda, outros fatores associados com aumento no risco tanto de recorrência como e morte são: multicentricidade intratireoideana, envolvimento bilateral de linfonodo ou mediastinal, mais do que 10 metástases linfonodais, metástases linfonodais com extensão extranodal, sexo masculino e atraso na ressecção cirúrgica após 1 ano do diagnóstico do nódulo.^{14,21}

TABELA 3 – Estadiamento TNM AJCC UICC 2017. CDT: na TNM todas as categorias podem ser subdivididas: tumor solitário (s) e tumor multifocal(m) sendo que o maior tumor determina a classificação

Tumor primário (T)				
Categoria	Critério			
TX	O tumor primário não pode ser acessado			
T0	Sem evidência do tumor primário			
T1	Tumor ≤ 2 cm limitada à tireoide			
T1a	Tumor ≤ 1 cm limitada à tireoide			
T1b	Tumor > 1 cm mas ≤ 2 cm limitada à tireoide			
T2	Tumor > 2 cm mas ≤ 4 cm limitada à tireoide			
T3	Tumor > 4 cm limitada à tireoide ou extensão extratireoideana grosseira invadindo somente músculo			
T3a	Tumor > 4 cm limitada à tireoide			
T3b	Extensão extratireoideana grosseira que invade apenas os músculos (músculos esterno-hioideo, esternotireoideo, tireo-hioideo ou omo-hioideo) de um tumor de qualquer tamanho			
T4	Inclui extensão extratireoideana grosseira			
T4a	Extensão extratireoideana grosseira invadindo tecidos moles subcutâneos, laringe, traquéia, esôfago ou nervo laríngeo recorrente de um tumor de qualquer tamanho			
T4b	Extensão extratireoideana grosseira invadindo a fáscia pré-vertebral ou envolvendo a artéria carótida ou vasos mediastinais de um tumor de qualquer tamanho			
Linfonodos regionais (N)				
Categoria	Critério			
NX	Os linfonodos não podem ser acessados			
N0	Sem evidências de metástases linfonodais loco regionais			
N0a	Uma ou mais linfonodos confirmados como benignos na patologia			
N0b	Sem evidências clínicas ou radiológicas de metástases linfonodais locorregionais			
N1	Metástases para linfonodos regionais			
N1a	Metástases para o nível VI ou VII linfonodos (pré-traqueal, paratraqueal ou paralaríngeo ou mediastinais). Este pode ser unilateral ou bilateral			
N1b	Metástase para linfonodos cervicais laterais unilaterais, bilaterais ou contralaterais (níveis I, II, III, IV ou V) ou linfonodos retrofaringeos			
Metástases a distância (M)				
Categoria	Critério			
M0	Sem metástases à distância			
M1	Metástases à distância			
Estadiamento				
Se idade do diagnóstico é ...	Se T é ...	Se N é ...	Se M é ...	Portanto o estágio é
< 55 anos	Qualquer T	Qualquer N	M0	I
< 55 anos	Qualquer T	Qualquer N	M1	II
≥ 55 anos	T1	N0/NX	M0	I
≥ 55 anos	T1	N1	M0	II
≥ 55 anos	T2	N0/NX	M0	I
≥ 55 anos	T2	N1	M0	II
≥ 55 anos	T3a / T3b	Qualquer N	M0	III
≥ 55 anos	T4a	Qualquer N	M0	IVa
≥ 55 anos	T4b	Qualquer N	M0	IVb
≥ 55 anos	Qualquer T	Qualquer N	M1	IVb

AJCC=American Joint Committee on Cancer; Fonte: Tabela modificada pelo autor de AJCC Cancer Staging Manual, Eighth Edition (2017)

Finalmente o estadiamento pós-operatório é importante para a avaliação do prognóstico através de cruzamentos clínico-histológicos para prever tanto a sobrevida quanto a recidiva tumoral. As classificações mais utilizadas são Tumor Node Metastasis – TNM (risco de mortalidade) e American Thyroid Association – ATA (risco de recorrência).^{40,41}

No estadiamento AJCC/TNM 2017 (Tabela 3), a sobrevida em 10 anos com a idade de corte de 55, nos estágios I a IV são 99,5%, 94,7%, 94,1% e 67,6%, respectivamente, fornecendo a estimativa do prognóstico para aqueles que permanecem em alto risco.⁴² Já o uso do sistema de estratificação de risco inicial modificado da ATA (Tabela 4) auxilia na avaliação do risco de recorrência da doença em pacientes após a terapia inicial.

TABELA 4 – Estratificação de risco de persistência ou recorrência (ATA 2015)

Baixo	Intermediário	Alto
Carcinoma papilífero de tireoide com todas as características presentes	Qualquer uma das seguintes presentes	Qualquer uma das seguintes presentes
Sem metástases loco-regionais ou à distância	Invasão microscópica nos tecidos moles peratireoideanos	Invasão de tumor macroscópico
Todo o tumor macroscópico foi ressecado	Metástases em linfonodos cervicais ou focos metastáticos ávidos por I131 no pescoço no exame pós-tratamento realizado após a ablação da tireoide	Ressecção tumoral incompleta com doença residual grosseira
Sem invasão loco-regional	Tumor com histologia agressiva (células altas, insular, colunar, Hürthle, carcinoma folicular, hobnail) ou invasão vascular	Metástases à distância
Sem histologia variante agressiva (células altas, insular, colunar, Hürthle, carcinoma folicular, hobnail)	N1 clínica ou > 5 N1 patológico com todos os linfonodos envolvidos <3 cm na maior dimensão *	Tireoglobulina sérica pós-operatória sugestiva de metástases à distância
Sem invasão vascular	Microcarcinoma papilífero da tireoide multifocal com extensão extratireoideana e mutação do BRAFV600E (se conhecida) *	N1 patológico com qualquer linfonodo metastático ≥ 3 cm em sua maior dimensão *
Sem captação do I131 fora da tireoide		Câncer de tireoide folicular com invasão vascular extensa (> 4 focos de invasão vascular) *
N0 clínico ou N1 patológico (<0,2cm no maior diâmetro) * com ≤ 5 micrometástases		
Carcinoma papilífero de tireoide variante folicular intra-tireoide, encapsulado *		
Carcinoma folicular de tireoide intra-tireoide, bem diferenciado com invasão capsular mínima ou sem invasão vascular (<4 focos) *		
Microcarcinoma papilífero intra-tireoide, unifocal ou multifocal, incluindo a mutação BRAFV600E se conhecida *		

Fonte: Tabela modificada pelo autor de Haugen BR et al., 2016²¹; ATA=American Thyroid Association, 2015; I131=iodo 131; BRAFV600E=gene da RAF quinase do tipo B; * =modificações propostas, não presentes no sistema de estratificação de risco inicial em 2009.

Biomarcadores

São substâncias produzidas pelas células do corpo em resposta ao estado fisiológico ou patológico como, por exemplo, no câncer. Podem estar presentes em vários fluidos e tecidos corporais como sangue, urina, fezes e nos próprios tecidos tumorais.⁴³

Na oncologia os biomarcadores são chamados de marcadores tumorais e possuem várias aplicabilidades clínicas relacionadas à abordagem da doença (risco, rastreamento, diagnóstico, prognóstico, resposta ao tratamento, monitoramento e recidiva). No entanto, existem muitas limitações para seu uso na prática clínica, pois várias situações clinicamente benignas também podem ocasionar aumento nas suas concentrações, e nem todos os pacientes com câncer apresentam elevação do marcador associado à neoplasia. Portanto, a dosagem dos marcadores deve ser combinada com os achados clínicos e biópsias para otimizar sua interpretação.⁴³

Os biomarcadores podem ser metabólitos, carboidratos, peptídeos, proteínas, plaquetas, linfócitos T, autoanticorpos e genes. Historicamente, o primeiro biomarcador utilizado foi a proteína de Bence Jones, pesquisada na urina de um paciente com mieloma múltiplo em 1847. Desde então, outros biomarcadores têm sido utilizados para o câncer, como antígeno carcinoembrionário (côlon), alfa fetoproteína (hepático), antígeno prostático específico (próstata), gonadotrofina coriônica humana (testículo), e, mais recentemente, os biomarcadores genéticos como as mutações nos genes BRCA1 e BRCA2 (câncer de mama e ovário).⁴³

A descoberta de novos biomarcadores está intimamente ligada à evolução das tecnologias moleculares. Desta maneira, novas expressões de proteínas e novos marcadores genéticos têm despertado interesse na detecção precoce do câncer, na avaliação da agressividade tumoral e na capacidade de prever a recorrência.^{43,44}

Biomarcadores nos carcinomas papilíferos de tireoide

Quando se realiza a punção aspirativa por agulha fina (PAAF) de um nódulo suspeito na glândula tireoide, às vezes ocorrem dúvidas na identificação morfológica entre lesões malignas e benignas (bócio multinodular e tireoidite).⁴⁵ A utilização de marcadores imunistoquímicos nestes casos auxiliam na definição diagnóstica e na estratificação do risco.⁴⁶ Na Tabela 5 estão discriminados os principais imunomarcadores teciduais genéticos utilizados para os carcinomas papilíferos de tireoide e suas variantes.

TABELA 5 – Parâmetros morfológicos e moleculares dos CPT

Tipo de tumor	Morfologia	Marcador molecular
Clássico	Papilas e nucleos claros	BRAF ^{V600E} , RET/PTC fus, NTRK fus, ALK fus, 1q amp
Variante folicular	Folículos e nucleos claros	BRAF ^{V600E} , RAS, PAX8/PPARγ, EIF1AX THADA fus, 22q del
Outras variantes: células altas, colunares, sólidos, hobnail	Estruturas e características celulares especiais	BRAF ^{V600E} , 1q amp, TERT promoter, TP53, PIK3CA, CTNNB1

Fonte: Adaptado de Filetti et al.⁴⁶. 22q del=deleção do 22q; amp=amplificação; ALK=quinase linfoma anaplásico (do inglês, anaplastic lymphoma kinase); CNA=alteração no número de cópias (do inglês, copy number alteration); CPT=carcinomas papilíferos de tireoide (em inglês, PTC – papillary thyroid carcinoma); del=deleção; fus=fusão; CTNNB1=catenin beta 1; EIF1AX=eukaryotic translation initiation factor 1A X-linked; HBME1=Hector Battifora mesothelial-1; NTRK=receptor da tropomiosina quinase ou receptor de fator de crescimento do nervo (do inglês, neurotrophic tyrosine kinase receptor type); PPARγ=peroxisome proliferator activated receptor gamma; PIK3CA=phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha; PAX8=paired box gene 8; OMS=Organização Mundial da Saúde; RET=rearranged during transfection; TERT=promotor de telomerase reverse transcriptase; TP53=tumor protein p53.

Nos últimos anos, marcadores imunistoquímicos têm sido utilizados para diferenciar lesões malignas e benignas

da tireoide. Nessa direção encontram-se o HBME1 (do inglês, Hector Battifora mesothelial-1), galectina-3 e CK19 (citoceratina 19), CD56, CD57, CD44v6, Rb-1, p53, E-caderina e bcl-2, CITED-1, utilizados para diferenciar carcinomas papilíferos clássicos de outras lesões em painéis de combinações.⁴⁷⁻⁴⁹

Marcadores imunistoquímicos proliferativos tradicionais como Ki-67, p27/kip1 e as ciclinas D1 e E, foram avaliados no diagnóstico diferencial de carcinomas diferenciados vs. tecidos benignos, e depois, como parâmetros prognósticos na mesma categoria neoplásica com resultados controversos.⁵⁰⁻⁵²

Fundamentos de biologia celular e molecular

O ciclo celular

A única maneira de formar uma nova célula é duplicando a já existente. Ao conjunto de etapas e fases para que a célula consiga duplicar o material genético contido nos seus cromossomos e assim possa criar outra célula, se denomina ciclo celular. Para que isto ocorra nas células eucarióticas (com membrana celular, núcleo e organelas) são necessárias 2 fases: interfase e mitose.⁵³ O ciclo celular e suas diferentes etapas estão ilustradas na Figura 1.

Interfase

É a fase de preparação para a divisão celular. Para tanto, a célula se nutre, cresce e duplica seu DNA, por isso é a fase mais demorada e são necessárias 3 etapas para concluí-la.

A primeira, é conhecida como fase G1 ou de intervalo 1 (do inglês, gap) e ocorre logo após o término da mitose e pode demorar horas a dias para finalizar. Nesta fase, as células filhas crescem (através da síntese e armazenamento de proteínas e RNA) e recuperam seu volume, ficando aptas a prosseguir para a próxima fase do ciclo (fase S). As células que não forem aptas, entram em repouso (fase G0) e podem permanecer dias, meses ou anos antes de voltar a entrar no ciclo celular ou mesmo ficar permanentemente fora do ciclo.

A segunda, ou fase S (síntese), tem duração de 8-12h, é marcada pela síntese de proteínas (histonas e não histonas) e duplicação do material genético ou DNA (cromossomos e centrossomos).

A terceira, fase G2 ou de intervalo 2, é a que antecede a mitose e, portanto, é fase de preparo para a divisão celular. Tem duração de 2-4 h e marcada pela síntese de proteínas (tubulinas), RNA e duplicação dos centríolos; desta maneira, ocorre armazenamento de energia para que a célula possa progredir para a mitose.⁵⁴

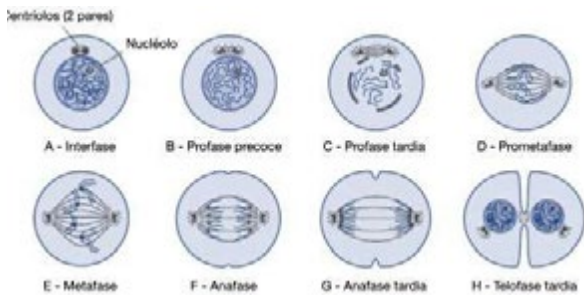
Mitose

Mitose ou fase M, é a de divisão celular. Tem duração de 1-3 h, ocorre após a fase G2 e completa o ciclo celular. Distinguem-se 5 etapas: prófase, prometáfase, metáfase, anáfase e telófase para na sequência ocorrer a cariocinese (divisão do núcleo) e citocinese (divisão do citoplasma), individualizando as células-filha.⁵⁴ As diferentes fases da mitose com suas respectivas características são ilustradas nas Figuras 2 e 3 e sintetizadas na Tabela 6.



G1=intervalo 1 (do inglês, gap G1); S=síntese; G2=intervalo 2 (do inglês, gap G2); M=mitose

FIGURA 2 – Fases e etapas do ciclo celular: interfase (G1, S e G2); mitose (prófase, prometáfase, metáfase, anáfase, telófase) e cariocinese e citocinese.



Fonte: Adaptado pelo autor de Kelley, Wood, Enders.

FIGURA 3 – Fases da mitose

TABELA 6– Fases da mitose

Fase	Conteúdo do DNA	Características identificadas
Prófase (precoce)	O conteúdo do DNA é o dobro da fase S da interfase. Duplicação dos centríolos	O invólucro nuclear e o nucléolo começam a desaparecer. Os cromossomos se condensam; são formados por duas cromatidas irmãs unidas pelo centrômero.
Prófase (tardia)		Os centríolos migram até os polos opostos e originam as fibras do fuso e do aster.
Prometáfase	Dupla rotação de DNA	O invólucro nuclear desaparece. Os cinetócoros se desenvolvem em centrômeros e se forma microtúbulos cinetocóricos.
Metáfase	Dupla rotação de DNA	Máxima condensação dos cromossomos, que se alinham no plano equatorial do fuso mitótico.
Anáfase	Dupla rotação de DNA	As cromatidas-filha se separam pelo centrômero.
Anáfase (tardia)	Dupla rotação de DNA	Cada cromatina migra até o polo oposto da célula ao longo do microtúbulo (cariocinese). Começa a se formar sulco de divisão.
Telófase	Cada célula-filha contém 1 dote de DNA	O sulco (corpo média) entre as duas células-filha recém-formadas fica mais profundo (citocinese). Reaparece o invólucro nuclear e nucléolos; os cromossomos se dispersam e originam novo núcleo interfásico.

Fonte: Adaptado pelo autor de Gartner e Hiatt, 2015.⁵⁴

Regulação do ciclo celular e as ciclinas

Para que o ciclo celular ocorra de forma harmônica em todas suas fases, a célula conta com série de controles ou checkpoints que iniciam, induzem e modulam a progressão do ciclo celular. As ciclinas desempenham papel fundamental nesta regulação. Elas são proteínas que regulam a progressão do ciclo celular. Existem 11 tipos nas células dos mamíferos (A, B1, B2, C, D1, D2, D3, E, F, G e H), cada um se expressando mais ou menos intensamente dependendo da fase do ciclo celular como mostrado na Figura 4.



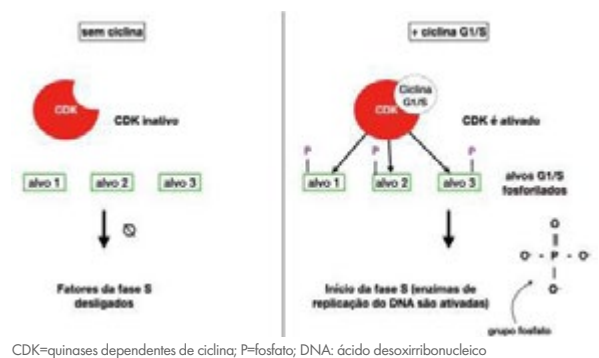
Fonte: Modificado pelo autor de "Control of the cell cycle" de Open Stax College, Biology; G1=intervalo 1 (do inglês, gap G1); S=síntese; G2=intervalo 2 (do inglês, gap G2); M=mitose.

FIGURA 4 – Expressão das ciclinas no ciclo celular: Vários tipos de ciclinas agem em cada fase; as ciclinas da fase G1 (ciclina G1 na figura) predominantes são as ciclinas D e E; a progressão celular das fases S para G2 e a seguir para M (ciclina S e M) são coordenadas pelas ciclinas A e B; todas estas ciclinas atuam em associação às suas respectivas quinases dependentes de ciclina (CDK).

A ciclina D1, codificada pelo gene CCND1, é uma das ciclinas mais importantes no ciclo celular e predomina na fase G1. É a responsável pelo controle e coordenação do ciclo celular.^{55,56}

Quinases dependentes de ciclinas (CDK)

Em paralelo, a família de enzimas conhecidas como quinases dependentes de ciclina ou CDKs (do inglês, cyclin-dependent kinases) encontram-se inativas nas células, mas quando se ligam às ciclinas e formam o complexo ciclina-CDK, tornam-se ativas, fosforilando (adição de 1 grupo fosfato PO₄) proteínas-alvo específicas dentro da célula para desencadear respostas que estimulam os genes envolvidos na síntese do DNA (via fosforilação do gene do retinoblastoma – pRB, que libera fatores de transcrição como E2F-1) estimulando a célula a progredir no ciclo (Figura 5).^{57,58}



CDK=quinases dependentes de ciclina; P=fosfato; DNA: ácido desoxirribonucleico

FIGURA 5 – Quinases dependentes de ciclina

Pontos de checagem do ciclo celular

Na fase G1, por exemplo, as quinases dependentes de ciclina (CDK) unem-se às ciclinas regulatórias D e E, provocando respostas que permitem à célula avançar para a próxima fase (fase S). Um ponto de checagem entre estas fases (checkpoint G1/S ou ponto de restrição R, do inglês, R point) garante a supervisão, evitando que a célula progrida para a próxima fase com falhas na duplicação do DNA, como número de organelas ou crescimento celular inadequados. A progressão celular das fases S para G2 e a seguir para M, são coordenadas pelos complexos ciclina

A-CDK e ciclina B-CDK respectivamente. Antes da célula entrar na mitose, existem 2 pontos de controle que garantem a qualidade do DNA, o ponto G2/M (ponto de controle do DNA não duplicado) e o DNA/G2 (ponto de controle de danos ao DNA). Finalmente, na fase de mitose (fase M), o ponto de checagem da montagem do fuso (no início da mitose) e outro ponto de supervisão da distribuição idêntica dos cromossomos ou ponto M/G1 (no final da mitose) qualificam a célula para finalizar o ciclo (Figura 5).

Inibidores das quinases dependentes de ciclinas (CDKi)

Se por um lado tem-se as quinases dependentes de ciclinas (CDK) que estimulam a progressão do ciclo celular após serem ligadas às suas respectivas ciclinas, por outro lado, os inibidores das quinases dependentes de ciclinas ou CDKi (do inglês, inhibitor of cyclin-dependent kinase) proteínas inibem a progressão do ciclo. São exemplos destes inibidores as proteínas p15, p16, p18 e p19 (inibem a CDK4 e CDK6 e bloqueiam o ciclo celular no ponto de restrição R) e as proteínas p21, p27 e p57 (bloqueiam o ciclo em todos os pontos de regulação, Figura 6.⁵⁹

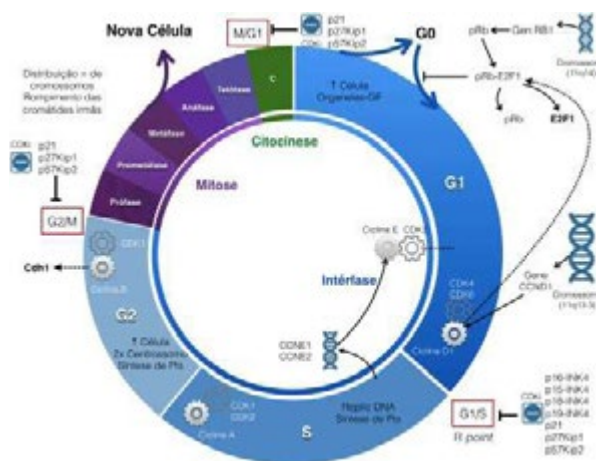
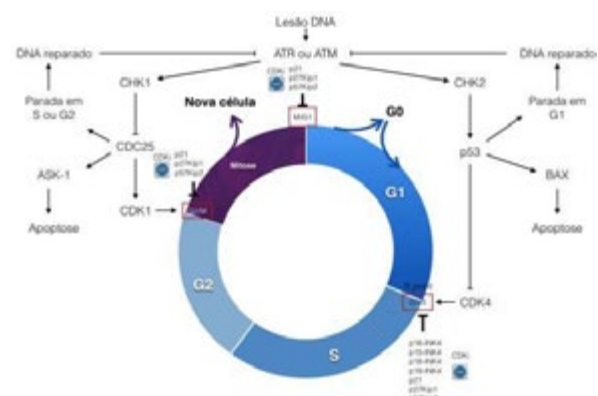


FIGURA 6 – Sistema de regulação do ciclo celular: Gen RB1 (gen do retinoblastoma, foi o primeiro gen supressor tumoral descrito - 1986) codifica proteína (pRb) que contribui com a regulação crescimento celular. E2F1: fator de transcrição que auxilia a ativação de genes envolvidos na síntese de DNA. GF: Growth factors (estimulam a formação de organelas). Ciclinas: proteínas que conduzem e regulam o ciclo celular (são os combustíveis). CDKi: inibidores das quinases dependentes de ciclina: são proteínas que inibem a progressão do ciclo (p15- 19, p21, p27 e p57). Cdh1: inibe a progressão da mitose na fase entre metáfase e anáfase, mas quando desfosforilada pelo complexo ciclina B-CDK1 conduz à ativação dessa fase progredindo para metáfase-anáfase. G1/S (R point)=ponto de restrição (deixa passar para a próxima fase se o número de organelas foi suficiente ou verifica se as células foram de fato bem estimuladas pelos fatores de crescimento). G2/M=verifica se o genoma foi completamente replicado e se a célula está grande o suficiente para submeter-se a mitose. M/G1=verifica a distribuição semelhante dos cromossomos e se as cromátides irmãs estão se rompendo. Cip/Kip (CDK-interacting protein/cyclin- dependent kinase inhibitor protein).

Reparação do dano ao DNA

Quando o DNA, sofre mutações endógenas (O2 reativo, ROS) ou exógenas (ex. radiação) durante o ciclo celular, o reparo deve acontecer antes da próxima divisão celular. Para tanto, 2 serinas/tirosinas quinases, a ATR (do inglês, ataxia telangiectasia e Rad3 related) e a ATM (do inglês, ataxia telangiectasia mutated homolog) fosforilam ativando

proteínas de regulação, CHK1 e CHK2. A primeira, fosforila a fosfatase CDC25 que ocasiona remoção de 2 fosfatos inibitórios da CDK1 ocasionando parada do ciclo na fase S ou no ponto G2/M. A segunda, leva à ativação da proteína supressora de tumor p53 que ativa a expressão da CDKi p21 e inibe a CDK4, resultando no bloqueio do ciclo na fase S no ponto de regulação G1/S (ponto R) ou no ponto G2/M dando tempo à célula reparar o dano ao DNA. Assim que o DNA tenha sido reparado com sucesso, a ATM e a ATR voltam a ficar inativas. As quinases de regulação CHK1 e CHK2 também serão inativadas. As CDK1 e CDK4 não são mais inibidas e o ciclo prossegue.⁵⁹ Por outro lado, se o reparo do DNA falha ou a lesão é irreparável, a cascata de apoptose celular é ativada. Para tanto, 2 mecanismos ocorrem paralelamente. Primeiro, a constante ausência de CDC25 ocasiona dimerização e ativação da MEK quinase 5 ou ASK-1 (do inglês, apoptosis signal-regulating kinase 1) que ativa a cascata resultando em apoptose. Segundo, ocorre aumento dos níveis de p53 que direciona a proteína pró-apoptótica BAX e também media a permeabilização da membrana mitocondrial externa (MOMP), resultando na ativação da cascata da apoptose (Figura 7).⁵⁹



ASK-1=do inglês, apoptosis signal-regulating kinase 1); p53=proteína p53; BAX=proteína pró-apoptótica; MOMP=membrana mitocondrial externa. ATR=do inglês, ataxia telangiectasia e Rad3 related; ATM=do inglês, ataxia telangiectasia mutated homolog); CHK1 e CHK2=proteínas de regulação, CDC25, CDK1 (quinase dependente de ciclina 1), CDK2 (quinase dependente de ciclina 2), CDKi - p15-19, p21, p27 e p57 (Inibidores das quinases dependentes de ciclina); DNA=ácido desoxirribonucleico

FIGURA 7 – Lesão do DNA e o ciclo celular

Formação de tumores

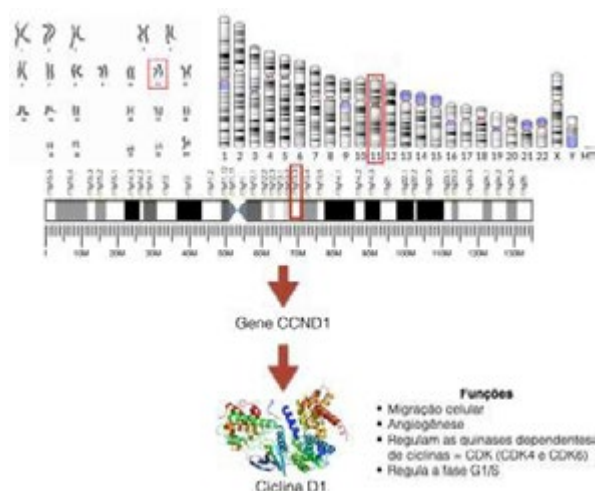
Qualquer irregularidade no ciclo celular predispõe à formação de carcinomas. Anormalidades nos reguladores positivos (amplificação no gene CCND1, superexpressão das ciclinas D1 e de suas quinases dependentes de ciclina - CDK4 e CDK6) aceleram a fase G1/S. Anormalidades nos reguladores negativos (CDKi ou subexpressão da proteína p27) deixam de inibir o ciclo. Isto ficou demonstrado em vários tipos de câncer como o de pâncreas, pulmão, mama, cervical de células escamosas, melanoma, endométrio, linfoma, mieloma múltiplo, esôfago, próstata, cólon, reto e tireoide.^{51,56,60-64}

Ciclina nos carcinomas papilíferos de tireoide (CPT)

Sabe-se que tanto a disfunção das ciclinas do tipo D, quanto as quinases dependentes de ciclina (CDK) e as quinases inibitórias dependentes de ciclina

(CDKi) acarretam interferências no ciclo celular e são implicadas na origem de diversas neoplasias malignas em humanos como mama, carcinomas escamosos de cabeça e pescoço, esôfago, cólon, pulmão, pele, entre outros.^{62,65} A ciclina do tipo D, descoberta na década de 1990, trouxe importantes informações na compreensão entre os sinais extracelulares e a proliferação do ciclo celular e é subdividida em 3 subtipos (D1, D2 e D3).⁵⁸ A ciclina D1, proteína codificada pelo gene CCND1 (localizado no braço longo do cromossomo 11, banda 11q13.3) como mostrado na Figura 8, é responsável pelo controle e coordenação do ciclo celular. Após a mitose, ela o estimula e pode também estimular a célula em estado de repouso (G0) para entrar novamente no ciclo.^{55,56}

Os primeiros estudos da expressão de ciclina do tipo 1 ou ciclina D1 em tecidos malignos e benignos de tireoide iniciaram no final da década de noventa.^{51,63} Lazzereschi et al. (1998)⁶³ observaram que a expressão dela era predominantemente citoplasmática nos tecidos benignos (adenomas) e nuclear nos tecidos malignos (carcinomas). Com estes resultados os autores concluíram que, à semelhança de outras neoplasias malignas, esta proteína poderia também estar implicada na tumorigênese dos carcinomas papilíferos de tireoide. Já o estudo de Wang et al.⁵¹ analisou a expressão da ciclina D1, ciclina E e do inibidor da quinase dependente de ciclina (CDKi) p27 em tecidos tireoidianos normais, benignos (adenomas foliculares) e malignos (carcinomas papilíferos e variante folicular). Este estudo mostrou que as ciclinas não se expressavam nos tecidos normais de tireoide, mas eram expressadas nos benignos e malignos. Já a proteína p27 (inibitória do ciclo celular), encontrava-se subexpressa somente nos carcinomas. Com estes dados, esses autores concluíram que tanto as ciclinas como a proteína p27 poderiam estar implicadas na tumorigênese dos CPT. As ciclinas como primeiro gatilho (transformando o tecido tireoidiano normal em adenoma), e a falta de expressão da proteína p27 como segundo gatilho, transformando o adenoma em carcinoma.



Fonte: Modificado pelo autor; CDK=quinase dependente de ciclina (do inglês, cyclin-dependent kinases)

FIGURA 8 – Ciclina D1

Em modelo semelhante, Saiz et al.⁵⁶, estudaram a marcação das proteínas ciclina D1 e E2F-1 em tecidos de tireoide normais, lesões benignas (nódulos hiperplásicos e adenomas) e lesões malignas (carcinomas papilíferos e foliculares). Ambas proteínas são essenciais na regulação da transição G1/S ao longo do ciclo celular (a ciclina D1 ativa a proteína E2F-1). Os autores observaram superexpressão de ambas proteínas nas lesões benignas e malignas, mas não nos tecidos normais de tireoide. A ciclina D1 e a proteína E2F-1 apresentaram marcação mais forte nos carcinomas, principalmente nos carcinomas papilíferos. Estes resultados permitiram que os autores concluíssem que apesar destas proteínas não terem sido úteis como diferenciadoras entre tecidos benignos e malignos, elas poderiam estar implicadas na transformação das células foliculares normais da tireoide, primeiro em lesões benignas e a seguir, em malignas, contribuindo com a tumorigênese.

Em outro estudo, Seybt et al.¹² analisaram a expressão imunistoquímica da ciclina D1 (intensidade e distribuição da coloração) em carcinomas papilíferos de tireoide (CPT) e suas variantes, carcinomas foliculares (CFT) e adenomas foliculares (AF). Os autores observaram que a intensidade da coloração da ciclina D1 foi maior nos CPT e suas variantes em comparação aos CFT ($p=0,013$) e adenomas foliculares ($p<0,001$), sendo a distribuição da coloração mais difusa ($p=0,0032$), não havendo diferença significativa entre os CFT e os AF. Devido à heterogeneidade dos resultados, os autores não recomendaram este marcador para diagnóstico entre os CDT, mas avaliaram que o mesmo poderia ser útil na diferenciação entre CPT (principalmente variante folicular) e adenomas foliculares.

O estudo de Teshima et al.⁶⁶, propôs a análise imunistoquímica da ciclina D1 (marcador de proliferação celular, semelhante ao BRAF) nos tecidos tireoidianos quando as lesões são indeterminadas na PAAF por apresentarem valores preditivos positivos (VPP) e taxas médias de coloração nuclear (TCN) fidedignas para diferenciar carcinomas papilíferos (PPV=91,5%, TCN=48,5%); das lesões benignas como adenomas foliculares (PPV=66,7%, TCN=13,1%) e bócios adenomatosos (TCN= 3,4%), com sensibilidade de 94,4% e especificidade de 92,3% ($p=0,003$).

Estudos que correlacionaram a ciclina D1 com a agressividade nos CPT foram também realizados a partir da década de noventa.^{4,66-74} Muro-Cacho et al. (1999)⁷⁴ submeteram 35 amostras destes tumores e seus controles benignos (retirados dos próprios blocos dos tecidos adjacentes não neoplásicos) à imunocoloração com ciclina D1 com posterior análise imunistoquímica e cruzamentos clínico-patológicos, e concluíram que a coloração foi predominantemente nuclear e mais intensa nos CPT, principalmente em pacientes com estadiamento tumoral mais avançado (III e IV da AJCC).

Estes resultados também foram observados por Khoo et al.⁷¹ que realizaram a imunomarcagem de CPT com ciclina D1 e proteína inibitória p27 para avaliar se elas poderiam ser preditoras de metástases

linfonodais nestes tumores e ainda correlacionaram os resultados com fatores clínico-patológicos (idade, extensão extratireoideana e focalidade do tumor). Os autores observaram que a extensão extratireoideana, a superexpressão nuclear da ciclina D1 e a subexpressão da proteína p27 foram fortes preditores de metástases linfonodais nestes carcinomas.

Kovacs et al.⁷³, analisaram comparativamente 15 carcinomas papilíferos bem diferenciados de tireoide e 8 carcinomas micropapilíferos e observaram que a ciclina D1 encontrava-se superexpressa em 14 dos 15 carcinomas (93,3%), enquanto nos carcinomas micropapilíferos essa proporção era de 1 em 8 (12,5%, $p=0,0001$). Estes resultados permitiram que os autores concluíssem que possivelmente o comportamento benigno da maioria dos microcarcinomas papilíferos poderia estar associada à falta da maior expressão da ciclina D1 nestes tecidos.

Antonaci et al.⁶⁷, combinaram 2 imunomarcadores, a ciclina D1 e a survivina em CPT analisando as respectivas expressões pela imunistoquímica. Observaram que estas proteínas encontravam-se superexpressas nos tecidos tumorais e metástases linfonodais, sugerindo que ambas proteínas poderiam estar implicadas na origem dos CPT.

Lee et al.⁷⁵, ao estudarem as expressões dos reguladores do ciclo celular, ciclina D1, ciclina E, p27 e p57 em tecidos de 64 pacientes com CPT (metade com metástases em linfonodos) e 28 pacientes com adenoma folicular, observaram que a expressão da ciclina D1 foi significativa no grupo com CPT e metástases em linfonodos ($p<0,05$), sugerindo que esta proteína poderia ser útil na avaliação do prognóstico nestes tipos de carcinomas.

Para avaliar o prognóstico dos carcinomas papilíferos de tireoide, Jung et al.⁶⁹ submeteram 113 casos de carcinomas papilíferos de tireoide com metástases para linfonodos, à marcação de ciclina D1 e à pesquisa da mutação BRAF^{V600E}. Enquanto esta mutação não era fator preditivo de metástase linfonodal, a ciclina D1 encontrava-se superexpressa nestas populações, sugerindo que esta proteína poderia ser usada na identificação de carcinomas papilíferos de tireoide com potencial metastático. Outros fatores preditivos neste estudo foram a idade inferior a 45 anos, tamanho do tumor de ≥ 1 cm, variante não folicular, crescimento tubular lateral, extensão extratireoideana e multifocalidade.

Balta et al.⁶⁸, em análise retrospectiva com 87 pacientes (CPT=47; lesões benignas=40), avaliaram o valor prognóstico das expressões das oncoproteínas (ciclina D1, p53, bcl-2 e c-erbB-2) e observaram que tanto a ciclina D1 como a proteína p53 por encontrarem-se superexpressas nas amostras de pacientes com CPT, metástases linfonodais e extensão extratireoideana, poderiam ter valor prognóstico nos CPT.

No estudo Teshima et al.⁶⁶, que analisou a ciclina D1 por imunistoquímica em PAAF indeterminadas mostrando sua validade na avaliação entre lesões benignas (adenomas foliculares e bócios adenomatosos) de carcinomas papilíferos, também

evidenciou correlação com a agressividade tumoral, sendo significativamente expressa ($p<0,001$) quando analisadas as variáveis clínico-patológicas dos CPT (extensão extratireoideana, metástase intraglandular e linfonodal).

No entanto outros autores não encontraram resultados semelhantes aos anteriores, não recomendando o marcador para o estudo da agressividade nos CPT.^{12,76}

Londero et al.⁷⁶ avaliaram os microcarcinomas papilíferos (<1 cm), considerados variante do carcinoma papilífero, na grande maioria benignos mas, em alguns casos, com curso mais agressivo,⁷⁰ o marcador ciclina D1 foi utilizado para tentar identificar os microcarcinomas mais agressivos, mas apesar de ter resultados estatisticamente significativos, falhou em recomendar a proteína como discriminador de agressividade quanto à presença de metástases locoregionais ou à distância devido à grande variabilidade do resultado

Mais tarde, Seybt et al.¹², embora tenham observado que a expressão da ciclina D1 tenha se mostrado útil na diferenciação entre CPT (principalmente variante folicular) e adenomas foliculares quando analisaram a expressão desta proteína nos carcinomas papilíferos de tireoide (CPT) e suas variantes, carcinomas foliculares da tireoide (CFT) e adenomas foliculares (AF), não houve diferença significativa na expressão da ciclina D1 entre os CFT e os adenomas foliculares, nem qualquer característica da ciclina D1 com o status nodal dos CPT.

Bartolomei, IJP, et al.⁷⁷ em estudo com 118 pacientes com carcinoma papilífero de tireoide referiram que a ciclina D1 foi expressa na grande maioria dos carcinomas sendo a distribuição difusa predominante. O tecido benigno – bócio multinodular - expressou a coloração com intensidade fraca e distribuição esparsa. A expressão dela não se correlacionou com achados clinicopatológicos (tamanho do tumor, invasão angiolinfática, metástase linfonodal ou metástases à distância).

CONCLUSÃO

A recente literatura sobre os CDT incluiu muitos estudos sobre características clínicas, subtipos patológicos e características moleculares, entretanto a resposta para a questão do porquê alguns CDT evoluem com características patológicas mais agressivas encontra-se em aberto na literatura. Avanços em biotecnologia, pesquisas moleculares e estudos genéticos possibilitam melhor compreensão do comportamento dessas neoplasias; entretanto, a avaliação das vias de sinalização e expressão proteica desses tumores torna-se primordial no progresso para o diagnóstico, tratamento e prognóstico na oncologia.

Afiliação dos autores:

¹Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, Curitiba, PR, Brasil;

²Hospital Universitário Evangélico Mackenzie, Curitiba, PR, Brasil;

³Brigham and Women's Hospital, Boston, MA, USA;

⁴Departamento de Cirurgia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, Brasil;

⁵Departamento de Medicina II, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, São Luis, MA, Brasil.

Correspondência:

Ivan José Paredes Bartolomei
Email: drivan.paredes@gmail.com

Como citar:

Bartolomei IP, Ribas CAPM, Zella MAK, Waaga-Gasser AM, Gasser M, Czezcko NG, Nassif PAN, Manso JEF, Torres OJM. Como a Ciclina D1 se comporta como biomarcador nos carcinomas papilíferos de tireoide e bócios multinodulares? *BioSCIENCE* 2024; 82(1):e002

Contribuição dos autores:

Conceituação: Ivan José Paredes Bartolomei
Administração do projeto: Carmen Australia Paredes Marcondes Ribas, Maria Metodologia: Augusta Karas Zella
Análise formal: Ana Maria Waaga-Gasser
Supervisão: Martin Gasser
Redação (esboço original): Nicolau Gregori Czezcko, Paulo Afonso Nunes Nassif
Redação (revisão e edição): Todos os autores

Recebido em: 09/08/2023
Aceito em: 21/11/2023

REFERÊNCIAS

1. Instituto Nacional de Câncer do Ministério da Saúde. Rio de Janeiro: INCA; 2017.
2. Chitkova Z, Pusztaszeri M, Makhlof AM, Berczy M, Delucinge-Vivier C, Triponez F, et al. Identification of new biomarkers for human papillary thyroid carcinoma employing NanoString analysis. *Oncotarget*. 2015;6(13):10978–93. Doi: 10.18632/oncotarget.3452
3. Cobin RH, Gharib H, Bergman DA, Clark OH, Cooper DS, Daniels GH, et al. AACE/AAES Medical/Surgical Guidelines for Clinical Practice: Management of Thyroid Carcinoma. *Endocr Pract*. 2001;7(3):202–20. Disponível em: 10.4158/EP.7.3.202.
4. Kim TH, Park YJ, Lim JA, Ahn HY, Lee EK, Kim KW, et al. The association of the BRAFV600E mutation with prognostic factors and poor clinical outcome in papillary thyroid cancer: A meta-analysis. *Cancer*. 2012;118(7):1764–73. Doi: 10.1002/cncr.26500
5. Bertagna F, Piccardo GTA, Giubbini R. Diagnostic and Clinical Significance of F-18-FDG-PET/CT Thyroid Incidentalomas. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(11):3866–75. Doi: 10.1210/jc.2012-2390
6. Barbet J, Campion L, Kraeber-Bodéré F, Chatal JF. Prognostic impact of serum calcitonin and carcinoembryonic antigen doubling-times in patients with medullary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(11):6077–84. Doi: 10.1210/jc.2005-0044
7. Giovannella L, Ceriani L, Maffioli M. Postsurgery serum thyroglobulin disappearance kinetic in patients with differentiated thyroid carcinoma. *Head Neck*. 2010;32(5):568–71. Doi: 10.1002/hed.21214
8. Giraudet AL, Ghulzan AA, Aupérin A, Leboulleux S, Chehboun A, Troalen F, et al. Progression of medullary thyroid carcinoma: assessment with calcitonin and carcinoembryonic antigen doubling times. *Eur J Endocrinol*. 2008;158(2):239–46. Doi: 10.1530/EJE-07-0667
9. Miyuchi A, Kudo T, Miya A, Kobayashi K, Takamura Y, Higashiyama T, et al. Prognostic Impact of Serum Thyroglobulin Doubling-Time Under Thyrotropin Suppression in Patients with Papillary Thyroid Carcinoma Who Underwent Total Thyroidectomy. *Thyroid*. 2011;21(7):707–16. Doi: 10.1089/thy.2010.0355
10. Pesutić-Pisac V, Punda A, Gluncic I, Bedekovic V, Kragic AP, Kunac N. Cyclin D1 and p27 expression as prognostic factor in papillary carcinoma of thyroid: association with clinicopathological parameters. *Croat Med J*. 2008;49:643-9. Doi: 10.3325/cmj.2008.5.643
11. Bhajee F, Nikiforov YE. Molecular analysis of thyroid tumors. *Mod Pathol*. 2011;22:126-33. Doi: 10.1007/s12022-011-9170-y.
12. Seybt TP, Ramalingam P, Huang J, Looney SW, Reid MD. Cyclin D1 expression in benign and differentiated malignant tumors of the thyroid gland: diagnostic and biologic implications. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2012;20(2):124–30. Doi: 10.1097/PAI.0B013E31822D4783.
13. Gharib H, Papini E, Paschke R, Duick DS, Valcavi R, Hegedus L, et al. 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. *J Endocrinol Invest*. 2016;16(3):468-75. Doi: 10.4158/EP.16.3.468
14. Tuttle RM. Papillary thyroid cancer. In: Post TW, editor. *UpToDate*. Waltham, MA: UpToDate Inc.; 2018. Disponível em: https://www.uptodate.com/contents/papillary-thyroid-cancer?source=bookmarks_widget#H13329960
15. Bibbins-Domingo K, Crossman DC, Curry SJ, Barry MJ, Dacidson KW, Doubeni CA, et al. Screening for thyroid cancer: US preventive services task force recommendation statement. *JAMA*. 2017;317(18):1882-87. Doi: 10.1001/jama.2017.4011
16. Mazzaferri EL, Jhiang SM. Long-term impact of initial surgical and medical therapy on papillary and follicular thyroid cancer. *Am J Med*. 1994;97(5):418-28. Doi: 10.1016/0002-9343(94)90321-2.
17. Perros P, Boelaert K, Colley S, Evans C, Evans RM, Ba GG, et al. Guidelines for the management of thyroid cancer. *Clin Endocrinol*. 2014;81(suppl 1):1-122. Doi: 10.1111/cen.12515.
18. Patel KN, Singh B. Genetic Considerations in Thyroid Cancer. *Cancer Control*. 2006;13(2):111–18. Doi: 10.1177/107327480601300205
19. Segev DL, Umbricht C, Zeiger MA. Molecular pathogenesis of thyroid cancer. *Surg Oncol*. 2003;12(2):69–90. Doi: 10.1016/s0960-7404(03)00037-9
20. Cao CD, Wémeau JL. Cancer de la thyroïde. In: *Traité de Médecine Akos*. Paris: EMC (Elsevier Masson SAS); 2008. p. 3–0500. Doi: 10.1016/S1634-6939(20)64720-2
21. 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. *Thyroid*. 2016;26(1):1-133. Doi: 10.1089/thy.2015.0020
22. Hundahl SA, Fleming ID, Fremmer AM, Menck HR. A National Cancer Data Base report on 53,856 cases of thyroid carcinoma treated in the U.S., 1985-1995. *Cancer*. 1998;83(12):2638-48. Doi: 10.1002/(sici)1097-0142(19981215)83:12<2638::aid-cnrc31>3.0.co;2-1
23. Rago T, Scutari M, Santini F, Loiacono V, Piaggi P, Coscio GD, et al. Real-time elastosonography: Useful tool for refining the presurgical diagnosis in thyroid nodules with indeterminate or nondiagnostic cytology. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(12):5274-80. Doi: 10.1210/jc.2010-0901
24. Sebag F, Vaillant-Lombard J, Berbis J, Griset V, Henry JF, Petit P, et al. Shear wave elastography: a new ultrasound imaging mode for the differential diagnosis of benign and malignant thyroid nodules. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(12):5281-8. Doi: 10.1210/jc.2010-0766.
25. Balasubramanian SP, Harrison BJ. Systematic review and meta-analysis of sentinel node biopsy in thyroid cancer. *Br J Surg*. 2011;98(3):334-44. Doi: 10.1002/bjs.7425
26. Hershman JM, Cheng S, Gianoukakis AG. Update in Thyroidology 2010. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(1):9-14. Doi: 10.1210/jc.2010-2350
27. Mekel M, Nucera C, Hodin RA, Parangi S. Surgical implications of B-RafV600E mutation in fine-needle aspiration of thyroid nodules. *Am J Surg*. 2010;200(1). Doi: 10.1016/j.amjsurg.2009.08.029.
28. Novoa E, Gurtler N, Arnoux A, Kraft M. Role of ultrasound-guided core-needle biopsy in the assessment of head and neck lesions: A meta-analysis and systematic review of the literature. *Head Neck*. 2012;34(10):1497-503. Doi: 10.1002/hed.21821
29. Webb RC, Howard RS, Stojadinovic A, Gaitonde DY, Wallace MK, Ahmed J, et al. The Utility of Serum Thyroglobulin Measurement at the Time of Remnant Ablation for Predicting Disease-Free Status in Patients with Differentiated Thyroid Cancer: A Meta-Analysis Involving 3947 Patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(8):2754–63. Doi: 10.1210/jc.2012-1533
30. Brose MS, Nutting CM, Jarzab B, Elisei R, Siena S, Bastholt L, et al. Sorafenib in radioactive iodine-refractory, locally advanced or metastatic differentiated thyroid cancer: a randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet*. 2014;384(9940):319-28. Doi: 10.1016/S0140-6736(14)60421-9.
31. Fallahi B, Beiki D, Takavar A, Fard-Esfahani A, Gilani KA, Saghari M, et al. Low versus high radioiodine dose in postoperative ablation of residual thyroid tissue in patients with differentiated thyroid carcinoma: A large randomized clinical trial. *Nucl Med Commun*. 2012;33(3):275-82. Doi: 10.1097/MNM.0b013e32834e306a.
32. Schlumberger M, Tahara M, Wirth LJ, Robinson B, Brose MS, Elisei R, et al. Lenvatinib versus Placebo in Radioiodine-Refractory Thyroid Cancer. *N Engl J Med*. 2015;372:621-30. Doi: 10.1056/NEJMoa1406470
33. Keating GM, Lyseng-Williamson KA, Frampton JE. Vandetanib: A guide to its use in advanced medullary thyroid cancer. *BioDrugs*. 2012;26(6):431-35. Doi: 10.1007/BF03261900.
34. Wells SA, Robinson BG, Gagel RF, Dralle H, Fagin JA, Santoro M, et al. Vandetanib in patients with locally advanced or metastatic medullary thyroid cancer: A randomized, double-blind phase III trial. *J Clin Oncol*. 2012;30(2):134-41. Doi: 10.1200/JCO.2011.35.5040
35. Nagaiah G, Hossain A, Mooney CJ, Parmentier J, Remick SC. Anaplastic Thyroid Cancer: A Review of Epidemiology, Pathogenesis, and Treatment. *J Oncol*. 2011. Doi: 10.1155/2011/542358

36. Asiolis S, Erickson LA, Jebo TJ, Zhang J, Jin L, Thompson GB, et al. Papillary thyroid carcinoma with prominent hobnail features: A new aggressive variant of moderately differentiated papillary carcinoma. A clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular study of eight cases. *Am J Surg Pathol*. 2010;34(1):44-52. Doi: 10.1097/PAS.0b013e3181c46677.
37. Faquin WC, Wong LQ, Afrogheh AH, Ali S, Bishop JA, Bongiovanni M, et al. Impact of reclassifying noninvasive follicular variant of papillary thyroid carcinoma on the risk of malignancy in The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. *Cancer Cytopathol*. 2016;124(3):181-7. Doi: 10.1002/cncy.21631
38. Haugen BR. American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer: What is new and what has changed? *Cancer*. 2015.
39. Xing M, Westra WH, Tufano RP, Cohen Y, Rosenbaum E, Phoden KJ, et al. BRAF mutation predicts a poorer clinical prognosis for papillary thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(12):6373-9. Doi: 10.1210/jc.2005-0987
40. Amin MB. *AJCC Cancer Staging System*, 8th Edition. Springer International Publishing; 2017.
41. Amin MB, Greene F, Edge SB, Compton CC, Gershenwald JE, Brookland RK, et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin*. 2017;67(2):93-9. Doi: 10.3322/caac.21388
42. Nixon IJ, Wang LY, Migliacci JC, Eskander A, Campbell MJ, Aniss A, et al. An international multi-institutional validation of age 55 years as a cutoff for risk stratification in the AJCC/UICC staging system for well-differentiated thyroid cancer. *Thyroid*. 2016;26(3):373-80. Doi: 10.1089/thy.2015.0315
43. Saito RF, Lana MV, Medramo RFV, Chammas R. *Fundamentos de Oncologia Molecular*. Atheneu: São Paulo; 2016.
44. Ghosh S, Srivastava S. *Biomarkers in Cancer Screening and Early Detection*. 1st ed. John Wiley & Sons, Inc; 2017.
45. Ward LS, Kloos RT. Molecular markers in the diagnosis of thyroid nodules. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2013;57(2):89-97. Doi: 10.1590/S0004-27302013000200001.
46. Filetti S, Durante C, Leboulleux S, Locati LD, Newbold K, Papotti MG, et al. Thyroid cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2019;30:1856-83. Doi: 10.1093/annonc/mdz400.
47. Lloyd RV, Osamura RY, Kloppel G, Rosai J. *WHO classification of tumours of endocrine organs*. 4th ed. WHO Press; 2017.
48. De Matos LL, Giglio ABD, Matsubayashi CO, Farah M de L, Giglio AD, Pinhal MA da S. Expression of ck-19, galectin-3 and hbme-1 in the differentiation of thyroid lesions: Systematic review and diagnostic meta-analysis. *Diagn Pathol*. 2012;7(97):1596-7. Doi: 10.1186/1746-1596-7-97
49. Radu TG, Mogoanta L, Busuioc CJ, Stanescu C, Grosu F. Histological and immunohistochemical aspects of papillary thyroid cancer. *Rom J Morphol Embryol*. 2015;56(supl. 2):789-95.
50. Erickson LA, Jin L, Wolan PC, Tromson GB, Heerden JV, Lloyd RV. Expression of p27(kip1) and Ki-67 in benign and malignant thyroid tumors. *Mod Pathol*. 1998;11(2):169-74.
51. Wang S, Wu J, Savas L, Patwardhan N, Khan A. The role of cell cycle regulatory proteins, cyclin D1, cyclin E, and p27 in thyroid carcinogenesis. *Hum Pathol*. 1998;29(11):1304-9. Doi: 10.1016/s0046-8177(98)90262-3.
52. Konturek A, Barczyński M, Nowak W, Richter P. Prognostic factors in differentiated thyroid cancer - A 20-year surgical outcome study. *Langenbecks Arch Surg*. 2012;397(5):809-15. Doi: 10.1007/s00423-011-0899-z
53. Alberts B. *Molecular biology of the cell*, 6th edition. 7th ed. Garland Publishing; 2015.
54. Gartner LP, Hiatt JL. *Cell Biology and Histology*. 7th ed. Wolters Kluwer Health, S.A; 2015.
55. Musgrove EA, Caldon CE, Barraclough J, Stone A, Sutherland RL. Cyclin D as a therapeutic target in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2011;11(8):558-72. Doi: 10.1038/nrc3090.
56. Saiz AD, Olvera M, Rezk S, Florentine BA, McCourty A, Brynes RK. Immunohistochemical expression of cyclin D1, E2F-1, and Ki-67 in benign and malignant thyroid lesions. *J Pathol*. 2002;198(2):157-62. Doi: 10.1002/path.1185
57. Campbell NA, et al. *Campbell Biologie*. 11^o ed. Pearson: Porto Alegre/RS; 2016.
58. Casimiro MC, Crosariol M, Loro E, Li Z, Pestell RG. Cyclins and Cell Cycle Control in Cancer and Disease. *Genes Cancer*. 2012;3(11-12):649-57. Doi: 10.1177/1947601913479022
59. Wagener C, Stocking C, Müller O. *Cancer Signaling*. 1st ed. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; 2017.
60. Basolo F, Caligo MA, Pinchera A, Fedeli F, Balducci A, Micoli P, et al. Cyclin D1 overexpression in thyroid carcinomas: relation with clinicopathological parameters, retinoblastoma gene product, and Ki67 labeling index. *Thyroid*. 2000;10(9):741-6. Doi: 10.1089/thy.2000.10.741
61. Brzezianska E, Magierska AC, Sporny S, Pastuszak-Lewandoska D, Lewinski A. Assessment of cyclin D1 gene expression as a prognostic factor in benign and malignant thyroid lesions. *Neuro Endocrinol Lett*. 2007;28(4):341-50.
62. Donnellan R, Chetty R. Cyclin D1 and human neoplasia. *J Clin Pathol Mol Pathol*. 1998;51(1):1-7.
63. Lazzereschi D, Sambuco L, Scalzo CC, Ranieri A, Mincione G, Nardi F, et al. Cyclin D1 and Cyclin E expression in malignant thyroid cells and in human thyroid carcinomas. *Int J Cancer*. 1998;76(6):806-11. Doi: 10.1002/(sici)1097-0215(19980610)76:6<806::aid-ijc7>3.0.co;2-1
64. Qie S, Diehl JA. Cyclin D1, cancer progression, and opportunities in cancer treatment. *J Mol Med*. 2016;94(12):1313-26. Doi: 10.1007/s00109-016-1475-3
65. Hall M, Peters G. Genetic alterations of cyclins, cyclin-dependent kinases, and Cdk inhibitors in human cancer. *Adv Cancer Res*. 1996;68:67-108. Doi: 10.1016/s0065-230x(08)60352-8
66. Teshima M, Tokita K, Ryo E, Matsumoto F, Kondo M, Ikegami Y, et al. Clinical impact of a cytological screening system using cyclin D1 immunostaining and genomic analysis for the diagnosis of thyroid nodules. *BMC Cancer*. 2019;18(1):245. Doi: 10.1186/s12885-019-5452-4
67. Antonaci A, Consorti F, Mardente S, Natalizi S, Giovannone G, Rocca CD. Survivin and cyclin D1 are jointly expressed in thyroid papillary carcinoma and microcarcinoma. *Oncol Rep*. 2008;20(1):63-7.
68. Balta AZ, Filiz AI, Kurt Y, Sucullu I, Yucel E, Akin ML. Prognostic value of oncoprotein expressions in thyroid papillary carcinoma. *Med Oncol*. 2012;29(2):734-41. Doi: 10.1007/s12032-011-9969-x.
69. Jung CK, Kang YG, Bae JS, Lim DJ, Choi YJ, Lee KY. Unique patterns of tumor growth related with the risk of lymph node metastasis in papillary thyroid carcinoma. *Mod Pathol*. 2010;23(9):1201-8. Doi: 10.1038/modpathol.2010.116
70. Khoo MLC, Ezzat S, Freeman JL, Asa SL. Cyclin D1 protein expression predicts metastatic behavior in thyroid papillary microcarcinomas but is not associated with gene amplification. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(4):1810-3. Doi: 10.1210/jcem.87.4.8352.
71. Khoo MLC, Beasley NJP, Ezzat S, Freeman JL, Asa SL. Overexpression of cyclin D1 and underexpression of p27 predict lymph node metastases in papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(4):1814-18. Doi: 10.1210/jcem.87.4.8353
72. Kovacs GL, Stelkovic E, Krenacs L, Gonda G, Goth M, Kovacs L, et al. Low level of cyclin D1 protein expression in thyroid microcarcinomas from an autopsy series. *Endocrine*. 2005;26(1):41-4. Doi: 10.1385/ENDO:26:1:041
73. Kovacs GL, Stelkovic E, Krenacs L, Gonda G, Goth M, Kovacs L, et al. Low level of cyclin D1 protein expression in thyroid microcarcinomas from an autopsy series. *Endocrine*. 2005;26(1):41-4. Doi: 10.1385/ENDO:26:1:041
74. Muro-Cacho CA, Holt T, Klotch D, Mora L, Livingston S, Futran N. Cyclin D1 Expression as a Prognostic Parameter in Papillary Carcinoma of the Thyroid. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1999;120(2):200-7. Doi: 10.1016/S0194-5998(99)70407-9.
75. Lee SH, Lee JK, Jin SM, Lee KC, Sohn JH, Char SW, et al. Expression of cell-cycle regulators (cyclin D1, cyclin E, p27kip1, p57kip2) in papillary thyroid carcinoma. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2010;142(3):332-7. Doi: 10.1016/j.otohns.2009.10.050
76. Londero SC, Godballe C, Krogdahl A, Bastholt L, Specht L, Sorensen CH, et al. Papillary microcarcinoma of the thyroid gland: Is the immunohistochemical expression of cyclin D1 or galectin-3 in primary tumour an indicator of metastatic disease? *Acta Oncol*. 2008;47(3):451-7. Doi: 10.1080/02841860701630242
77. Bartolomei IJ, Ribas CAPM, Zella MAK, Waaga-Gasser AM, Gasser M, Czezko NG, Nassif PAN. Immunohistochemical analysis of the cyclin D1 biomarker in papillary thyroid carcinomas and multinodular goiters. In: *SciELO Preprints*. 2022. Doi: 10.1590/SciELOPreprints.4150