

EXPRESSÃO DO GENE *CITED1* EM CARCINOMA PAPILÍFERO DE TIREÓIDE: UM POTENCIAL MARCADOR DIAGNÓSTICO

CITED GENE EXPRESSION IN PAPILLARY THYROID CARCINOMA: A POTENTIAL DIAGNOSTIC MARKER

Camila Bueno Sathler Rodrigues¹

Raissa Monteiro da Silva²

Breno Pupin³

Renata de Azevedo Canevari⁴

Resumo: O câncer de tireoide é a neoplasia mais comum do sistema endócrino, apresentando incidência crescente nos últimos anos. O diagnóstico é realizado principalmente pela associação de dois métodos: a ultrassonografia e a punção aspirativa por agulha fina (PAAF); porém ambos apresentam uma elevada taxa de resultados indeterminados. Deste modo, é necessária a busca de métodos diagnósticos alternativos para a obtenção de resultados mais precisos e confiáveis. A biologia molecular é uma área que se destaca nesse segmento de pesquisa, buscando compreender a biologia tumoral por meio da avaliação das alterações de expressão gênica. A técnica de PCR quantitativa em tempo real (RT-qPCR) é um método rápido e eficiente de detecção e quantificação de expressão gênica, apresentando alta sensibilidade e especificidade, e sendo considerada como uma ferramenta útil no diagnóstico de vários tipos de câncer. Neste estudo, amostras de carcinomas foliculares de tireoide, carcinomas papilíferos de tireoide, bócio adenomatoso e amostras de tecido normal da glândula foram obtidas com o objetivo de detectar marcadores moleculares diagnósticos por meio da avaliação da expressão dos genes *TERT*, *CITED1* e *SLC5A5* pela técnica de RT-qPCR, detectados com expressão aumentada nestas lesões, respectivamente. A expressão diferencial significativa foi detectada somente para o gene *CITED1* na comparação das amostras de carcinoma papilífero de tireoide com bócio e tecidos normais, com aumento de expressão deste gene nas amostras de carcinoma papilífero. Os resultados obtidos sugerem o gene *CITED1* como um potencial marcador diagnóstico em carcinoma papilífero de tireoide.

Palavras-chave: Câncer de tireoide; diagnóstico; expressão gênica; marcador molecular; *CITED1* gene.

Abstract: Thyroid cancer is the most common neoplasm of the endocrine system, with growing incidence in recent years. The diagnosis is performed mainly by the association of two methods: ultrasonography and fine needle aspiration (FNA); but both have a high rate of indeterminate results. Thus, it is necessary to search for alternative diagnostic methods to obtain more accurate and reliable results. Molecular biology is an area that stands out in this segment of research, aiming to understand tumor biology by the analysis of gene expression alterations. The real-time quantitative PCR (RT-qPCR) technique is a fast and efficient method of detection and quantification of gene expression, presenting high sensitivity and specificity, and being considered as a useful tool in the diagnosis of various types of cancer. In this study, samples of follicular thyroid carcinomas, papillary thyroid carcinomas, adenomatous goiter and samples of normal tissue from the gland were obtained with the objective of finding diagnostic molecular markers by evaluating the expression of genes *TERT*, *CITED1* and *SLC5A5* by RT-qPCR, that were found to be upregulated in these lesions, respectively. Significant differential expression was detected only for gene

¹ Graduada em Biomedicina pela Universidade do Vale do Paraíba – UNIVAP, SP, Brasil. E-mail: camila-sathler@hotmail.com.

² Mestre em Ciências Biológicas pela Universidade do Vale do Paraíba – UNIVAP, SP, Brasil. E-mail: raissa_monteiro_silva@yahoo.com.br.

³ Doutor em Microbiologia Agropecuária pela Universidade Estadual Paulista – UNESP. E-mail: breno0891@hotmail.com.

⁴ Professora Coordenadora do Laboratório de Biologia Molecular do Câncer - IP&D, Universidade do Vale do Paraíba – UNIVAP, SP, Brasil. E-mail: rcanevari@univap.br.

CITED1 in the comparison of the samples of papillary thyroid carcinoma with goiter and with the normal tissues, with increased expression of this gene in the papillary carcinoma samples. The results suggest gene CITED1 as a potential diagnostic marker in papillary thyroid carcinoma.

Keywords: Thyroid cancer; diagnosis; gene expression; molecular marker, gene CITED1.

1 INTRODUÇÃO

Os distúrbios da glândula da tireoide estão entre as anormalidades endócrinas mais comuns encontradas na rotina clínica (MOGHADDAM et al, 2016; UPADHYAYA et al., 2017). As patologias que acometem esta glândula podem ser originadas por um desequilíbrio hormonal estimulado por fatores externos, endógenos e/ou genéticos (MOGHADDAM et al., 2016). As principais lesões benignas encontradas na tireoide são os nódulos, bócio, tireoidites e adenomas, sendo o bócio a principal destas lesões, caracterizado pelo aumento anormal da tireoide (BAHN; CASTRO, 2011; MOGHADDAM et al., 2016). As lesões malignas são classificadas histologicamente em carcinomas diferenciados (folicular e papilífero) e não diferenciados (anaplásico e medular), sendo classificados de melhor prognóstico e pior prognóstico, respectivamente (COELI et al, 2005; FUZIO et al., 2015; PAN et al, 2017). O carcinoma de tireoide é o mais comum dentre todos os tumores de cabeça e pescoço, sendo o que mais acomete o sistema endócrino (CHA; KOO, 2016; KIRSCHNER et al., 2016). A incidência desse tipo de câncer tem aumentado gradativamente a nível mundial acometendo tanto mulheres quanto homens, entre todas as idades e diferentes grupos étnicos (YIP, 2015; RIA et al., 2016).

O diagnóstico das patologias de tireoide é realizado levando em consideração tanto o histórico quanto o diagnóstico clínico do paciente (MARINA et al, 2017). A biópsia pela punção aspirativa por agulha fina (PAAF) guiada por ultrassom é hoje o principal método para determinar se um nódulo tireoidiano é benigno ou maligno, sendo considerada o padrão ouro para o diagnóstico de nódulos tireoidianos (AHN; PARK; CHOI, 2017), em que por meio dessa técnica é possível avaliar o tipo de organização e o grau de diferenciação celular, permitindo assim a classificação histológica dos tecidos (RODRIGUES; PONTES; ADAN, 2012). No entanto, existe uma porcentagem significativa de achados inespecíficos, que varia de 15% a 20%, podendo ocasionar a retirada total ou parcial da glândula sem a real necessidade para o paciente (RODRIGUES; PONTES; ADAN, 2012; NA et al., 2017). Desta forma, é crucial o desenvolvimento de outros métodos para auxiliar no diagnóstico dos nódulos tireoidianos.

O diagnóstico molecular pela análise de expressão gênica visa encontrar genes específicos ou vias de sinalização envolvidos na gênese da patologia, oferecendo maior precisão do diagnóstico, do grau de invasividade tumoral e do prognóstico destas lesões quando comparados com a análise citopatológica obtida pela PAAF (KIM et al., 2016). Na literatura os genes *TERT*, *CITED1* e *SLC5A5* são descritos como potenciais marcadores moleculares para diagnóstico de lesões tireoidianas (WANG et al., 2014; LEE et al., 2016). O gene *TERT* está associado principalmente a

tipos histológicos com maior chance de malignidade, sendo descrito como um possível marcador diagnóstico em carcinomas foliculares (ASAAD et al. 2006; WANG et al. 2014; LIU et al., 2016a; LEE et al., 2016); o gene *CITED1* age na via de sinalização WNT, importante via envolvida na carcinogênese tireoidiana, detectados previamente como marcadores de carcinomas papilíferos (PRASAD et al., 2004; RING et al., 2014) e o gene *SLC5A5*, tem ação direta no aparecimento de doenças tireoidianas como o hipotireoidismo e o bócio, descritos na literatura como um possível marcador de bócio adenomatoso (NEUMANN et al. 1999; DE LA VIEJA et al., 2000; WANG et al. 2013). Considerando que os estudos, que detectaram estes genes como possíveis marcadores diagnósticos, foram realizados em sua maioria com metodologias de larga escala e/ou com amostras de pacientes de outras populações, e a existência de alta heterogeneidade molecular entre lesões de tireoide obtidas de diferentes etnias, o objetivo deste estudo é avaliar o potencial diagnóstico dos genes *TERT*, *CITED1* e *SLC5A5* em diferentes tipos histológicos de lesões de tireoide (carcinoma papilífero, carcinoma folicular e bócio adenomatoso) obtidas de pacientes brasileiros por meio da análise de RT-qPCR.

2 METODOLOGIA

2.1 Casuística

Um total de 32 amostras provenientes de tireoidectomia total, sendo quatro amostras de tecido normal para controle, 14 amostras de bócio, 11 amostras de carcinoma papilífero de tireoide (CPT) e três amostras de carcinoma folicular de tireoide (CFT) foi utilizado. Após a coleta, as amostras foram devidamente armazenadas em tubos criogênicos mantidas em freezer à -80°C no Laboratório Central Analítica – IP&D/UNIVAP para a análise de RT-qPCR. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa/UNIVAP (n° parecer 1.806.781/CEP/2016) desenvolvido no Laboratório de Biologia Molecular do Câncer.

2.2 Extração do RNA e síntese do cDNA

A extração do RNA foi realizada seguindo o protocolo do reagente Trizol® (Life Technologies). As caracterizações quantitativas e qualitativas das amostras de RNA extraídas foram realizadas pela espectroscopia de absorção no ultravioleta, no equipamento *NanoDrop (ND-1000 Spectrophotometer v.3.0.1, Labtrade)* e eletroforese em gel de agarose a 1%, respectivamente. A síntese do cDNA foi realizada pelo sistema de pré-amplificação *SuperScript™ IV*, que inclui *SuperScript® IV*, *RNaseOUT™ Enzyme Mix*, *2x First-Strand Mix*, e tampão de anelamento (Invitrogen, Life Technologies).

2.3 RT-qPCR

Os iniciadores para a amplificação dos genes *TERT*, *CITED1* e *SLC5A5* foram desenhados no *Primer Express* (versão 3.0) (PE Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). A detecção de alteração na expressão gênica pela RT-qPCR foi realizada no equipamento *ABI PRISM 7500 Sequence Detection Systems* (Life Technologies, USA). O fluorocromo utilizado foi o *Platinum SYBR Green qRT-PCR SuperMix UDG* (Invitrogen, Carlsbad, CA).

Para comprovar a eficiência de amplificação dos iniciadores e determinar a melhor diluição da amostra a ser utilizada nos experimentos foi realizada a curva padrão para cada um dos três genes alvos analisados e para o gene endógeno escolhido *MRLP19*. A análise da curva padrão foi realizada pelos valores de *slope* fornecidos pelo software (Sequence Detection System software, PE Applied Biosystems), os quais estiveram próximos ao valor esperado de -3,3. A avaliação da especificidade dos iniciadores para cada um dos três genes foi realizada pela curva de dissociação, a qual avalia a temperatura do pico de amplificação *versus* a intensidade da fluorescência, possibilitando averiguar se ocorreu a presença de *primer dimer* ou a presença de quaisquer contaminantes na análise.

2.4 Análise dos resultados

Os dados das análises de expressão foram calculados pelo método Delta-Delta Ct (PFAFFL, 2001), que permite a análise dos valores de QR (quantificação relativa) para cada gene analisado. O QR ($2^{(-\Delta\Delta Ct)}$), que consiste no valor da expressão do gene normalizado ($2^{(-\Delta Ct)}$) nas amostras do grupo experimental dividido pela expressão do gene normalizado ($2^{(-\Delta Ct)}$), na amostra do grupo controle (tecido normal), foi calculado para cada gene, sendo o resultado expresso pela fórmula: $2^{(-DDCt)}$.

O teste não-paramétrico de *Mann Whitney* foi utilizado para a análise estatística com resultados significativos de $P \leq 0,05$, sendo realizado por meio do software *GraphPad Prism version 5.00* (GraphPad Software, CA, USA).

2.4 Desenho experimental

Para a confirmação do potencial diagnóstico, a expressão dos genes *TERT*, *CITED1* e *SLC5A5* nas amostras de bócio, tumores malignos (constituído por amostras de CPT e CFT), amostras de CPT e amostras de CFT foi comparada com o tecido normal, onde os valores de QR maiores que 2 indicam um aumento de expressão para o gene alvo, e o QR menor que 0,5 indica diminuição de expressão em relação ao tecido normal de tireoide. Posteriormente, a expressão desses genes foi comparada entre os três diferentes tipos histológicos analisados: bócio, CPT e CFT. Na análise 1 foi comparado os valores de QR entre as amostras de CPT *versus*

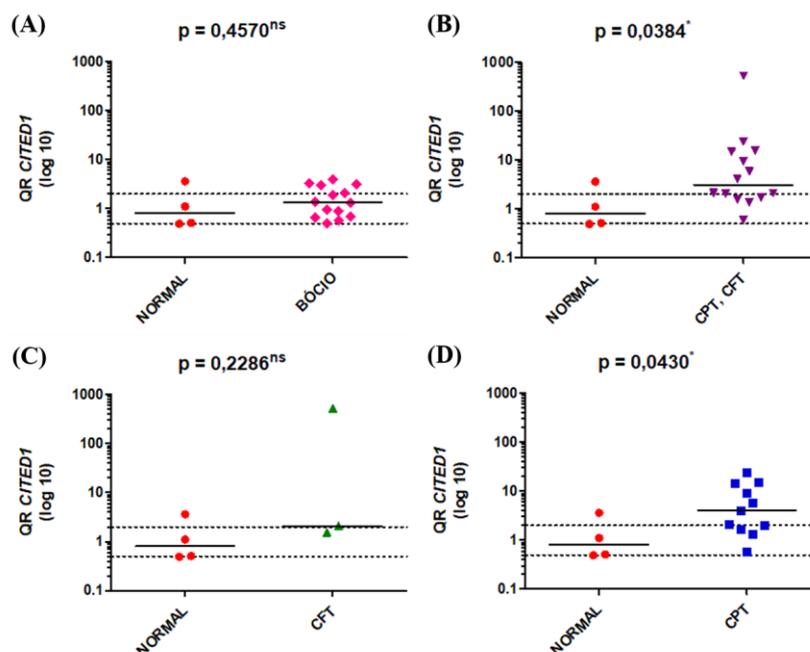
amostras de b3cio; na an3lise 2 foi realizada a compara33o das amostras de CFT *versus* amostras de b3cio; e na an3lise 3 foi comparado os valores de QR entre as amostras de CFT *versus* CPT.

3 RESULTADOS

A avalia33o do potencial diagn3stico dos genes *TERT*, *CITED1* e *SLC5A5* foi primeiramente realizada por meio da compara33o da express3o das diferentes les3es de tireoide (b3cio, tumores malignos, CPT e CFT) em rela33o ao tecido normal. Para o gene *TERT*, no grupo de pacientes com b3cio adenomatoso, 10 amostras apresentaram aumento de express3o (QR variando de 30,03 a 331,82) e quatro amostras apresentaram diminu33o de express3o (QR variando de 0,06 a 0,14) em rela33o ao tecido normal. No grupo de pacientes com CPT, cinco amostras apresentaram aumento de express3o (QR= 4,05 a 153,89) e seis apresentaram diminu33o de express3o (0,05 a 0,42) em rela33o ao tecido normal. No grupo de pacientes com CFT, as tr3s amostras avaliadas apresentaram aumento de express3o (QR= 71,35 a 93,57) em rela33o ao tecido normal. Para o gene *CITED1*, no grupo de pacientes com b3cio, cinco amostras apresentaram aumento de express3o (QR= 2,12 a 3,91), oito amostras tiveram express3o normal (QR= 0,58 a 1,92) e em uma amostra foi detectada diminu33o de express3o (QR= 0,49). No grupo de pacientes com CPT, oito amostras apresentaram aumento de express3o (QR= 2,05 a 24,05), tr3s amostras tiveram express3o normal (QR= 0,59 a 1,71) e em nenhuma amostra foi detectada diminu33o de express3o em rela33o ao tecido normal. No grupo de pacientes com CFT, duas amostras apresentaram aumento de express3o (QR= 2,09 a 527,08) e uma amostra foi detectada express3o normal (QR= 1,55). Para o gene *SLC5A5*, no grupo de pacientes com b3cio, duas amostras apresentaram aumento de express3o (QR= 2,4 a 3,75), duas amostras apresentaram express3o normal (QR= 0,62 a 0,67) e 10 amostras tiveram express3o reduzida (QR= 0,02 a 0,47) em rela33o ao tecido normal. No grupo de pacientes com CPT duas amostras apresentaram aumento de express3o (QR= 3,19 a 8,09) e nove amostras foi detectada express3o reduzida (QR= 0,01 a 0,26) em rela33o ao grupo de amostras normais. No grupo de pacientes com CFT, uma amostra apresentou aumento de express3o (QR= 31,5) e duas amostras tiveram express3o reduzida (QR= 0,02 a 0,21) em rela33o ao tecido normal.

Nos resultados da an3lise estatística foi detectada diferen3a significativa na express3o g3nica apenas para o gene *CITED1* na compara33o entre tecidos malignos em rela33o a amostras de tecido normal ($P= 0,0384$) e na compara33o de amostras de CPT em rela33o a amostras de tecido normal ($P= 0,0430$). Quando realizada a compara33o entre b3cio com amostras de tecido normal e entre as amostras de CFT com amostras de tecido normal n3o foi detectada diferen3a significativa para este gene, com valores de $P= 0,4570$ e $P= 0,2286$, respectivamente (Figura 1).

Figura 1 - Comparação entre as médias (representada pela linha em preto entre as amostras de cada grupo) dos níveis de expressão por RT-qPCR do gene *CITED1* para o grupo de amostras de bócio *versus* normal (A); tumores malignos (CPT e CFT) *versus* normal (B); CFT *versus* normal (C) e CPT *versus* normal (D). QR: quantificação relativa. CPT: carcinoma papilífero de tireoide. CFT: carcinoma folicular de tireoide No gráfico as linhas contínuas entre as amostras correspondem a média dos valores de QR para cada grupo. Os valores relacionados ao nível de expressão (QR) foram plotados em uma escala logarítmica de 10. Resultados obtidos pelo teste de *Mann Whitney* não paramétrico, com valores significativos de $P \leq 0,05$.

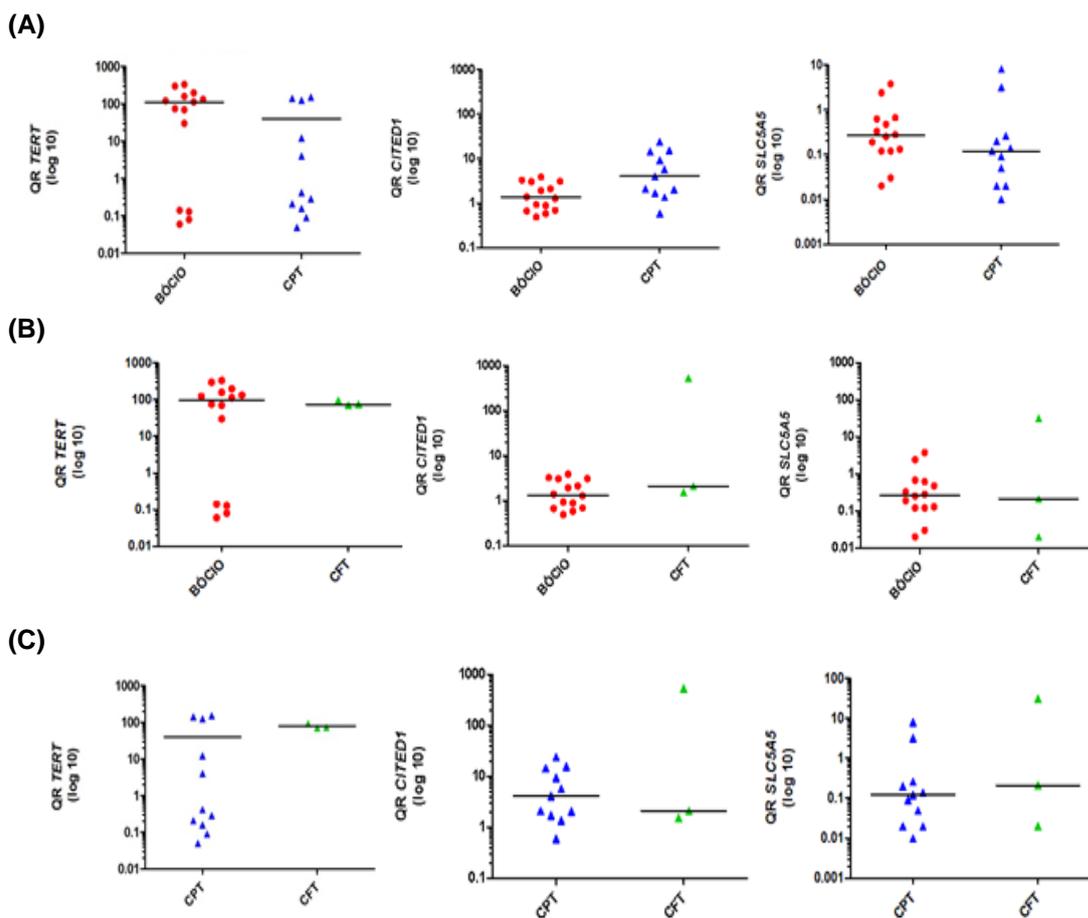


Fonte: Os autores.

Na análise de expressão dos genes *TERT*, *CITED1* e *SLC5A5* para os três tipos de comparações realizadas (Análises 1, 2 e 3) foi detectada diferença estatisticamente significativa apenas para o gene *CITED1* quando comparado as amostras CPT com amostras de bócio adenomatoso. Os dados referentes às três análises realizadas estão descritos e ilustrados na Figura 2 e Tabela 1.

Na análise 1 foi detectada diferença estatística significativa para o gene *CITED1*, com aumento de expressão nas amostras de CPT em relação as amostras de bócio adenomatoso ($P = 0,0215$). Na análise 2 não foram observadas diferenças estatisticamente significativas para os genes *TERT*, *CITED1* e *SLC5A5* quando comparadas as amostras de CFT com bócio. Na análise 3 não foram observadas diferenças estatisticamente significativas para os genes *TERT*, *CITED1* e *SLC5A5* quando comparadas as amostras de CFT com CPT (Figura 2, Tabela 1).

Figura 2 - Comparação entre as médias (representada pela linha em preto entre as amostras de cada grupo) dos níveis de expressão por RT-qPCR dos genes *TERT*, *CITED1* e *SLC5A5* para o grupo de amostras de CPT versus bócio (Análise 1) (A); CFT versus bócio (Análise 2) (B) e CFT versus CPT (Análise 3) (C). QR: quantificação relativa. CPT: carcinoma papilífero de tireoide. CFT: carcinoma folicular de tireoide. No gráfico, as linhas contínuas entre as amostras correspondem a média dos valores de QR para cada grupo. Os valores relacionados ao nível de expressão (QR) foram plotados em uma escala logarítmica de 10. Resultados obtidos pelo teste de *Mann Whitney* não paramétrico, com valores significativos de $P \leq 0,05$.



Fonte: o autor

Tabela 1 - Valores de *p value* referentes à comparação da expressão gênica entre os grupos de amostras de bócio, CPT e CFT referente as análises 1, 2 e 3 (teste de *Mann Whitney*). *Valor de *p* estatisticamente significativo ($p \leq 0,05$).

Genes	<i>p value</i> Análise 1	<i>p value</i> Análise 2	<i>p value</i> Análise 3
<i>SLC5A5</i>	0,1976	1,000	0,5316
<i>TERT</i>	0,2392	0,8501	0,2758
<i>CITED1</i>	0,0215*	0,2314	1,000

Fonte: Os autores.

4 DISCUSSÃO

As lesões de tireoide estão cada vez mais frequentes na rotina clínica, sendo que o câncer de tireoide vem apresentando, ao decorrer da última década, incidências cada vez maiores, e com isso os métodos diagnósticos têm de ser cada vez mais específicos e sensíveis (CHA; KOO, 2016; MOGHADDAM et al., 2016; UPADHYAYA et al., 2017). Levando em consideração que a análise citológica de amostras obtidas pela PAAF possui cerca de 15 a 20% de resultados inconclusivos, podendo levar a condutas extremas como a retirada total do órgão, a busca de diagnósticos mais precisos é de suma importância para a qualidade de vida do paciente acometido por estas lesões (RODRIGUES; PONTES; ADAN, 2012; RÍOS et al. 2017). Neste sentido, pesquisas têm sido desenvolvidas na busca de genes que podem ser considerados marcadores moleculares de alto potencial diagnóstico no sentido de auxiliar os métodos tradicionais utilizados em rotina clínica na determinação de um diagnóstico mais sensível e preciso para o paciente.

Neste estudo foi avaliado o potencial diagnóstico de genes *TERT*, *CITED1* e *SLC5A5* nas lesões de bócio, CPT e CFT, previamente descritos na literatura como envolvidos na carcinogênese tireoidiana (WANG et al., 2014; LEE et al., 2016) e sugeridos como marcadores diagnóstico nestas lesões. A expressão diferencial significativa foi detectada somente para o gene *CITED1* quando realizada a comparação entre os diferentes tecidos. O aumento de expressão deste gene nas amostras de tumores malignos (CPT e CFT) e amostras de CPT em relação a amostras de tecido normal, bem como nas amostras de CPT em relação as amostras de bócio adenomatoso confirma o potencial diagnóstico do gene *CITED1* nos tumores papilíferos de tireoide. A ausência de expressão diferencial significativa para este gene na comparação entre amostras de bócio adenomatoso e tecido normal e entre as amostras de CFT com amostras de tecido normal confirma a relação de *CITED1* com os carcinomas papilíferos de tireoide. Este resultado reforça os achados de trabalhos anteriores que detectaram o potencial diagnóstico do gene *CITED1* e respectiva proteína em tumores de CPT (PRASAD et al.; 2004; XIA et al., 2018; LI et al., 2018).

Prasad et al. (2004), ao avaliarem a expressão da proteína *CITED1* pela técnica de *tissue microarray* em carcinomas de tireoide e lesões benignas, detectaram aumento de expressão desta proteína em 93% dos casos de CPT e diminuição de sua expressão nas outras lesões que acometem a glândula (CFT, adenoma folicular, bócio, carcinoma anaplásico, carcinoma de célula de Hürthle e tireoide normal). Os autores também encontraram expressão reduzida dessa proteína em outros tecidos neoplásicos, tais como, câncer de próstata, glioblastoma, câncer de mama, linfomas, dentre outros. Em conclusão, os autores sugeriram que o *CITED1* possui um alto potencial diagnóstico para CPT.

Xia et al. (2018) encontraram aumento de expressão do gene *CITED1* em amostras de CPT quando compararam o perfil de expressão deste gene com

respectivo tecido normal adjacente. Na comparação com parâmetros clínico-patológicos dos pacientes, o aumento de expressão do *CITED1* também foi diretamente relacionado com a presença de metástase nos linfonodos e estágio clínico avançado da doença. Assim, estes autores sugeriram que além deste gene ser um marcador diagnóstico para CPT, sua expressão aumentada é um forte indicativo de sua relação direta com a presença de metástase nos linfonodos. Li et al. (2018) também avaliaram a expressão do gene *CITED1* em amostras de CPT com respectivo tecido normal adjacente, encontrando aumento de expressão nas amostras de pacientes com CPT. Além disso, os autores investigaram a interação do *CITED1* com as proteínas supressoras tumorais p21 e p27, bem como averiguaram por ensaios *in vivo* e *in vitro* o envolvimento deste gene na proliferação celular. Os autores observaram que o aumento de expressão do *CITED1* estava relacionado com a diminuição de expressão das proteínas p21 e p27, e o envolvimento deste gene com a proliferação celular e tumorigênese da tireoide. Baseado nestes resultados, este estudo concluiu que o gene *CITED1* pode ser um potencial alvo terapêutico para CPT por estar altamente expresso neste tipo de tumor e envolvido na proliferação celular por meio da inibição das proteínas p21 e p27. Adicionalmente, Ring et al. (2014) associou o gene *CITED1* com a ativação da via de sinalização WNT, via diretamente envolvida com a regulação do ciclo celular e tumorigênese da tireoide.

O gene *TERT* foi descrito nos estudos de Wang et al. (2014) e Asaad et al. (2006) como marcador de carcinoma folicular de tireoide. Este gene codifica a enzima telomerase, responsável pela manutenção dos telômeros e que está anormalmente ativa na maioria das células tumorais malignas, permitindo que estas se dividam e proliferem excessivamente. Alguns estudos relatam que este gene também está associado a cânceres mais agressivos de tireoide, a uma maior taxa de recidivas tumorais e mortalidade (LIU et al., 2016b; LEE et al., 2016).

O gene *SLC5A5* foi descrito nos estudos de Neumann et al. (1999) e Wang et al. (2013) como potencial marcador de bócio adenomatoso. Este gene codifica a proteína NIS, que tem como principal função a regulação do transporte de iodeto, fazendo a mediação deste composto nos tecidos da tireoide e outros tecidos. A mutação em *SLC5A5* causa a ausência da molécula NIS funcional, o que prejudica as células epiteliais da glândula, resultando em uma diminuição da biossíntese dos hormônios da tireoide triiodotironina (T3) e tiroxina (T4), além de aumentar os níveis circulantes mais elevados do hormônio estimulador da tireoide (TSH). Estes processos tem por consequência o aumento da frequência de alterações morfológicas e bioquímicas na glândula contribuindo para o desenvolvimento do bócio (DE LA VIEJA et al., 2000).

Neste estudo não foi detectado expressão diferencial para os genes *TERT* e *SLC5A5* nas lesões de tireoide analisadas, não confirmando assim o potencial diagnóstico destes genes observado em alguns estudos prévios da literatura. O baixo número de amostras de CFT e a alta heterogeneidade dos tumores de tireoide (CHMIELIK et al., 2018) e da própria população brasileira podem explicar estes

resultados discordantes.

5 CONCLUSÃO

O gene *CITED1* é confirmado como um marcador molecular diagnóstico de carcinoma papilífero de tireoide de pacientes brasileiros, estando de acordo com os resultados já descritos na literatura obtidos em outras populações. Os genes *TERT* e *SLC5A5*, descritos como prováveis marcadores de carcinoma folicular e bócio adenomatoso em outras populações, respectivamente, não apresentaram potencial diagnóstico nas lesões de tireoide analisadas. Os resultados obtidos indicam que a heterogeneidade genética presente em cada população pode também estar presente no perfil genético do nódulo da tireoide. Assim, recomendamos a realização de análises em um maior número amostral para comprovar o potencial diagnóstico desses genes nas lesões de tireoide.

6 AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado principalmente por meio de auxílio pesquisa fornecido pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (processos números 2009/18440-1 e 2013/14464-9).

REFERÊNCIAS

- AHN, S. H.; PARK, S. Y.; CHOI, S. I. Comparison of Consecutive Results from Fine Needle Aspiration and Core Needle Biopsy in Thyroid Nodules. **Endocrine Pathology**, vol.28, p.332-338, 2017.
- ASAAD, N. Y. et al. Human telomerase reverse transcriptase (hTERT) gene expression in thyroid carcinoma: diagnostic and prognostic role. **Journal of the Egyptian National Cancer Institute**, v. 18, n. 1, p. 8-16, 2006.
- BAHN, R. S.; CASTRO, M. R. Approach to the patient with nontoxic multinodular goiter. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Rochester, v. 96, p. 1202-1212, 2011.
- CHA, Y. J.; KOO, J. S. Next-generation sequencing in thyroid cancer. **Journal of Translational Medicine**, v. 14, p. 322, 2016.
- CHMIELIK E. et al. Heterogeneity of Thyroid Cancer. **Pathobiology**, v. 85, p. 117-129, 2018.
- COELI, C. M. et al. Incidência e mortalidade por câncer de tireoide no Brasil. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 49, n. 4, p. 503-509, 2005.
- DE LA VIEJA, A. et al. Molecular analysis of the sodium/iodide symporter: impact on thyroid and extrathyroid pathophysiology. **Physiological Reviews**, New York, v. 80, n. 3, p. 1083-1105, 2000.
- FUZIO, P. et al. Clusterin transcript variants expression in thyroid tumor: a potential

marker of malignancy? **BMC Cancer (BioMed Central)**, v. 15, p. 1-10, 2015.

KIM, S-W. et al. Immunohistochemistry for Pathologists: Protocols, Pitfalls, and Tips. **Journal of Pathology and Translational Medicine**, v. 50, p. 411-418, 2016.

KIRSCHNER, L. S. et al. Mouse models of thyroid cancer: A 2015 update. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 421, p.18-27, 2016.

LEE, S. E. et al. Prognostic Significance of TERT Promoter Mutations in Papillary Thyroid Carcinomas in a BRAFV600E Mutation–Prevalent Population. **Thyroid**, v. 26, n. 7, p. 901-910, 2016.

LI, H. et al. CITED1 promotes proliferation of papillary thyroid cancer cells via the regulation of p21 and p27. **Cell & bioscience**, v. 8, n. 57, p. 1-9, 2018.

LIU, C. et al. TERT promoter mutation and its association with clinicopathological features and prognosis of papillary thyroid cancer: a meta-analysis. **Scientific reports**, v.6, 2016a.

LIU, R. et al. TERT promoter mutations in thyroid cancer. **Endocrine-related cancer**, v. 23, n. 3, p. 143-155, 2016b.

MARINA, M. et al. Size of thyroid carcinoma by histotype and variants: A population-based study in a mildly iodine-deficient area. **Head Neck**, v. 39, n. 10, p. 2095-2103, 2017.

MOGHADDAM, P. A. et al. Five Top Stories in Thyroid Pathology. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v.140, p.158-70, 2016.

NA, D. G. et al. Core Needle Biopsy of the Thyroid: 2016 Consensus Statement and Recommendations from Korean Society of Thyroid Radiology. **Korean Journal of Radiology**, v.18, p. 217-237, 2017.

NEUMANN, S. et al. Linkage of Familial Euthyroid Goiter to the Multinodular Goiter-1 Locus and Exclusion of the Candidate Genes Thyroglobulin, Thyroperoxidase, and Na⁺/I⁻ Symporter 1. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.84, p.3750-3756, 1999.

PAN, D. H. et al. The diagnostic and prognostic values of Ki-67/MIB-1 expression in thyroid cancer: a meta-analysis with 6,051 cases. **OncoTargets and Therapy**, v. 10, p. 3261-3276, 2017.

PFAFFL, M. W. A new mathematical model for relative quantification in real-time rt-pcr. **Nucleic Acids Research**, v. 29, n. 9, 2001.

PRASAD, M. L. et al. CITED1 protein expression suggests papillary thyroid carcinoma in high through put tissue microarray-based study. **Thyroid**, p.169-175, 2004.

RIA, R. et al. Gene expression profiling of normal thyroid tissue from patients with thyroid carcinoma. **Oncotarget**, v.7, p.29677-88, 2016.

RING, A. et al. Wnt/catenin signaling in adult stem cell physiology and disease. **Stem Cell Reviews and Reports**, v. 10, p. 512-25, 2014.

RÍOS, A. et al. Utility of elastography in thyroid nodules with indeterminate cytology.

Endocrinología, Diabetes y Nutrición (English ed.), v. 64, n. 3, p. 180-182, 2017.

RODRIGUES, H. G. C.; PONTES, A. B. N.; ADAN, L. F. F. Use of molecular markers in samples obtained from preoperative aspiration of thyroid. **Endocrine Journal**, v. 59, p. 417-24, 2012.

UPADYAYA, A. et al. Effects of first radioiodine ablation on functions of salivary glands in patients with differentiated thyroid cancer. **Medicine**, v.96, p.1-9, 2017.

XIA, E. et al. CITED1 gene promotes proliferation, migration and invasion in papillary thyroid cancer. **Oncology Letters**, v. 16, p. 105-112, 2018.

WANG, N. et al. TERT promoter mutation as a nearly genetic event activating telomerase in follicular thyroid adenoma (FTA) and atypical FTA. **Cancer**, v. 120, p. 2965-79, 2014.

WANG, S. et al. Differential expression of the Na⁺/I⁻-symporter protein in thyroid cancer and adjacent normal and nodular goiter tissues. **Oncology letters**, v.1, p.368-372, 2013.

YIP, L. Molecular markers for thyroid cancer diagnosis, prognosis, and targeted therapy. **Journal of surgical oncology**, v. 111, p. 43-50, 2015.