

Testes moleculares para nódulos tireoidianos indeterminados: Revisão integrativa da literatura



<https://doi.org/10.56238/ciemedsaude-trans-014>

Samya Hamad Mehanna

Mestre e Médica Patologista. Professora de Patologia da Faculdades Pequeno Príncipe. Curitiba, Paraná - Brasil.
Endereço: Av. Iguacu, 333 Bairro Rebouças CEP: 80230-020 Curitiba/PR, Brasil, 41 3310-1500
E-mail: samya.mehanna@professor.fpp.edu.br

Carolina de Oliveira Steinmacher

Acadêmica de Medicina da Universidade Positivo. Curitiba, Paraná - Brasil.
E-mail: carol.notredame@hotmail.com
Orcid: 0009-0009-1306-7953
Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7989541473069073>

Gregório Andreassa Soares

Acadêmico de Medicina da Universidade Federal do Paraná. Curitiba, Paraná - Brasil.
E-mail: gregorio.asoares@gmail.com
Orcid: 0000-0003-0130-7277
Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1218686710217422>

Eduardo Morais de Castro

Doutor e Médico Patologista. Professor de Patologia da Faculdades Pequeno Príncipe. Curitiba, Paraná - Brasil.
E-mail: medmoca@gmail.com
Orcid: 0000-0001-6136-2660
Lattes: <https://lattes.cnpq.br/4616837180259415>

Julia Costa Linhares

Médica Patologista do Hospital Erasto Gaertner. Curitiba, Paraná - Brasil.
E-mail: juliaclinhares@yahoo.com.br
Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-2651-0610>
Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1024880929030787>

RESUMO

Introdução: Os nódulos de tireoide são comuns, com prevalência de 40% a 60% e taxa de malignidade de 5% a 15%. A punção aspirativa por agulha fina (PAAF) tem sido usada desde meados dos anos setenta para realizar o diagnóstico citopatológico dessas lesões. Porém, o dilema surge quando o resultado é indeterminado. A incerteza sobre esses espécimes foi impulsionadora para o desenvolvimento de métodos moleculares que analisam o material da PAAF além do olhar microscópico. **Desenvolvimento:** Trata-se de uma revisão integrativa de literatura realizada a partir das bases de dados PubMed e Scielo e guiada pela seguinte questão norteadora: “quais testes moleculares disponíveis atualmente e sua capacidade de diagnosticar nódulos tireoidianos indeterminados na PAAF?”. A amostra final foi composta por 13 artigos. Em relação aos exames genéticos disponíveis atualmente, temos: Afirma (GEC e GSC), Thyroseq (v2 e v3), Rosetta GX Reveal e ThyGenX/ThyraMIR. De modo geral, os achados da pesquisa mostram o impacto positivo dos resultados dos testes no manejo de casos de nódulos categorizados como indeterminados na PAAF. As informações sugerem que o uso em pacientes Bethesda III e IV podem ter predição acurada do risco de malignidade e reduzir o número de tireoidectomias realizadas desnecessariamente. **Considerações finais:** A American Thyroid Association já inclui recomendações gerais sobre o uso e interpretação de testes moleculares auxiliares levando-se em consideração o contexto clínico, ultrassonográfico e achados citológicos, não havendo algoritmo específico para seleção dos casos duvidosos.

Palavras-chave: Tireoide, nódulo da glândula tireoide, técnicas de diagnóstico molecular.

1 INTRODUÇÃO

Os nódulos de tireoide são comuns, com prevalência de cerca 40-60% à ultrassonografia cervical. Eles carregam um risco de malignidade que varia entre 5-15%. Mesmo em casos de câncer, o prognóstico do paciente é geralmente favorável.¹ Como a questão principal sobre um nódulo



observado é ser neoplásico ou não, há necessidade de teste complementar que forneça um resultado confiável para guiar a conduta terapêutica. A punção aspirativa por agulha fina (PAAF) tem sido usada desde meados dos anos setenta para realizar o diagnóstico.²

O objetivo da PAAF é determinar o risco de malignidade na amostra coletada. Os resultados da análise citológica, padronizados pelo Sistema Bethesda, podem ser: amostra insatisfatória (I), benigno (II), atipia ou lesão folicular de significado indeterminado (III), neoplasia folicular ou suspeito para neoplasia folicular (IV), suspeito para malignidade (V) e consistente com a malignidade (VI).³ Nos casos de citologia benigna, a recomendação é monitorar periodicamente o paciente com exames de imagem. Para situações de câncer ou suspeita de malignidade, normalmente preconiza-se realizar cirurgia (lobectomia ou tireoidectomia total). O dilema surge quando o resultado da citologia é indeterminado, situação na qual o próximo passo historicamente era repetir a PAAF ou realizar lobectomia diagnóstica.⁴

Esses nódulos indeterminados têm intrigado os médicos há décadas porque a maioria deles é diagnosticado como benigno posteriormente na histopatologia. A incerteza sobre esses espécimes citológicos foi o impulsionador para o desenvolvimento de métodos moleculares que analisam amostras de PAAF além do olhar sob o microscópio.¹ Uma forma particularmente bem-sucedida de teste molecular tem sido a determinação de mutações no DNA ou alterações na expressão de RNA que são preditivas de nódulos benignos ou malignos. Porém, tais exames precisam ter boa sensibilidade e especificidade, bem como alto valor preditivo positivo e negativo, objetivando diminuir ou aumentar a suspeita de malignidade e ajudar na decisão de monitorar ou ressecar o tumor tireoidiano.⁵

Este estudo tem como objetivo identificar e analisar as produções científicas acerca do tema nódulos indeterminados de tireoide e testes moleculares diagnósticos, focando nos exames genéticos utilizados na prática médica, integrando as principais informações disponíveis na literatura brasileira e internacional.

2 METODOLOGIA

Trata-se de revisão integrativa de literatura realizada conforme as seguintes etapas: 1) elaboração da questão de pesquisa; 2) busca na literatura; 3) avaliação dos dados – foco na qualidade; 4) análise dos dados – divisão, exposição e comparação; 5) apresentação dos resultados.⁶ A busca na literatura ocorreu entre julho e agosto de 2022.

A pesquisa construída resultou na seguinte questão norteadora:” quais testes moleculares disponíveis atualmente e sua capacidade de diagnosticar nódulos tireoidianos indeterminados na PAAF?”. As bases de dados utilizadas para consulta foram PubMed e Scielo. Os descritores utilizados foram: “molecular tests” (testes moleculares), “thyroid nodules” (nódulos tireoidianos), que foram consultados no Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) e no Medical Subject Headings (MeSH).



Para o cruzamento dos descritores foi utilizado o operador booleano “AND” e selecionado os campos de busca título/resumo (“title/abstract”).

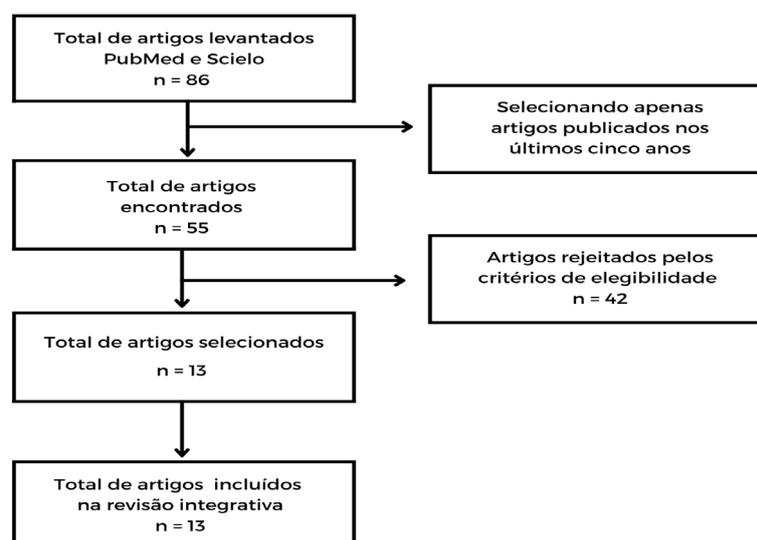
Os critérios de inclusão dos estudos foram: responder a pergunta da pesquisa, serem escritos em língua portuguesa ou inglesa, e terem sido publicados nos últimos cinco anos (2018-2022), para conhecimento das evidências mais atualizadas sobre o assunto em questão. Foram excluídos artigos que não tivessem como conteúdo central os testes genéticos e/ou com temática específica sobre uma doença tireoidiana.

A busca dos artigos foi realizada de forma independente pelos assistentes e pesquisadores. Primeiro foi feita a leitura dos títulos e resumos, com a seleção criteriosa dos artigos conforme os critérios de elegibilidade anteriormente descritos. Em seguida, os trabalhos foram lidos na íntegra, e então, selecionados para compor a amostra final.

3 RESULTADOS

A busca na base de dados resultou inicialmente em 86 publicações, e posteriormente, com a seleção dos últimos cinco anos, 55 artigos foram encontrados. A partir disso, os artigos foram selecionados pelos critérios de elegibilidade, resultando na amostra final de 13 artigos (Figura 1). Para facilitar a compreensão e esquematização dos artigos selecionados, foi construído um quadro sinóptico dos que foram incluídos na amostra final (Tabela 1).

Figura 1: Fluxograma da seleção de artigos



Fonte: Os autores (2023).



Tabela 1: Sumarização dos artigos que constituem a amostra da revisão integrativa

	Autor/Ano/País	Revista	Título	Metodologia
1	Livhits, Masha J., et al., 2021, EUA.	JAMA Oncology	Effectiveness of Molecular Testing Techniques for Diagnosis of Indeterminate Thyroid Nodules: A Randomized Clinical Trial	Ensaio Clínico Randomizado
2	Debora L. S. Danilovic, Suemi Marui, 2018, Brasil.	Arch Endocrinol Metab.	Critical analysis of molecular tests in indeterminate thyroid nodules	Editorial
3	Nikiforova, Marina N., et al., 2018, EUA.	Cancer	Analytical performance of ThyroSeq v3 Genomic Classifier for cancer diagnosis in thyroid nodules	Estudo de Validação
4	Silaghi, Cristina Alina et al., 2021, EUA.	Frontiers in endocrinology	Thyroseq v3, Afirma GSC, and microRNA Panels Versus Previous Molecular Tests in the Preoperative Diagnosis of Indeterminate Thyroid Nodules: A Systematic Review and Meta-Analysis	Revisão Sistemática e Meta-análise
5	Rosario, Pedro W., and Tiara G. Rocha, 2020, Brasil.	Diagnostic Cytopathology	Molecular tests for surgery indication in thyroid nodules: Should Bethesda V cytology be included?	Carta para o Editor
6	RosNishino, Michiya, and Marina Nikiforova, 2018, EUA.	Archives of Pathology & Laboratory Medicine	Update on molecular testing for cytologically indeterminate thyroid nodules	Artigo de Revisão
7	Bose, Shikha, Wendy Sacks, and Ann E. Walts, 2019, EUA.	Advances in Anatomic Pathology	Update on molecular testing for cytologically indeterminate thyroid nodules	Artigo de Revisão
8	Muzza, M., et al., 2020, Itália.	Journal of endocrinological investigation	Molecular markers for the classification of cytologically indeterminate thyroid nodules	Revisão Integrativa
9	Ferraz, Carolina, 2018, Brasil.	Archives of Endocrinology and Metabolism	Can current molecular tests help in the diagnosis of indeterminate thyroid nodule FNAB?	Artigo de Revisão
10	Jug, Rachel, et al., 2019, EUA.	Endocrine Pathology	Negative results on thyroid molecular testing decrease rates of surgery for indeterminate thyroid nodules	Estudo Retrospectivo Observacional
11	Nishino, Michiya, and Jeffrey F. Krane, 2020, EUA.	Acta Cytologica	Role of ancillary techniques in thyroid cytology specimens	Artigo de Revisão
12	Vargas-Salas, Sergio, et al., 2018, Chile.	Endocrine-related cancer	Genetic testing for indeterminate thyroid cytology: review and meta-analysis	Revisão Sistemática e Meta-análise
13	Glass, Ryan E., et al., 2022, Líbano.	Journal of the American Society of Cytopathology	Using molecular testing to improve the management of thyroid nodules with indeterminate cytology: an institutional experience with review of molecular alterations	Artigo de Revisão

Fonte: Os autores (2023).

A American Thyroid Association recomenda que os testes moleculares podem ser usados como ferramenta diagnóstica complementar em casos de resultado indeterminado da PAAF de nódulos tireoidianos.⁷ Ainda, sugere que quando a testagem molecular é considerada, essa decisão deve ser discutida com o paciente, que deve ser informado a respeito dos potenciais benefícios e limitações da técnica.⁸ Ademais, o guideline de 2015 não defende um teste específico para a análise molecular de nódulos de tireoide.⁹

Os testes podem ser classificados em duas categorias: rule-in e rule-out. Quando o teste tem a finalidade de prever benignidade, temos o rule-out, que requer um alto valor preditivo negativo (VPN). Mais especificamente, para ser considerada como uma boa capacidade de rule-out, esse VPN precisa ser de no mínimo 94%, ou seja, o risco residual de malignidade deve ser menor do que 6%, o que aproxima a classificação do nódulo à categoria Bethesda II. Para atingir esse VPN, é preciso que a sensibilidade esteja acima de 90% em uma ampla gama de prevalência de doença.

Por outro lado, se o teste é aplicado para prever malignidade, é denominado rule-in e requer um alto valor preditivo positivo (VPP). Não há, porém, um consenso sobre qual deve ser o valor de VPP. De acordo com a literatura, uma taxa de especificidade acima de 80% para uma doença com



prevalência de 25% resultaria em um VPP de 60%.¹⁰ os nódulos de alto risco na ultrassonografia se beneficiam do uso de testes rule-in, que permitem analisar a possibilidade de uma cirurgia parcial diagnóstica se tornar uma tireoidectomia total. Já os nódulos de baixo risco no exame de imagem têm maior benefício com o emprego de testes rule-out para evitar o manejo cirúrgico.⁸

Em relação aos testes disponíveis atualmente e considerados nesta revisão, temos: Afirma (GEC e GSC), Thyroseq (v2 e v3), Rosetta GX Reveal e ThyGenX/ThyraMIR. Sobre o teste afirma, há duas versões com métodos distintos: Gene Expression Classifier (GEC) e Genomic Sequencing Classifier (GSC). O Afirma GEC funciona pela análise da expressão de mRNA de um painel de 167 genes usando microarray. Já o Afirma GSC utiliza a tecnologia de sequenciamento de nova geração (NGS) do RNA para analisar o padrão de expressão de mais de 10.000 genes, dos quais 1115 genes funcionam como base do modelo de classificação, que classifica as amostras em benignas ou suspeitas.^{9, 11}

O teste Thyroseq também faz uso do NGS, analisando o DNA e RNA gênico. Na versão Thyroseq v2, 56 genes e quatro classes de alterações moleculares são analisadas: variações de nucleotídeo único, inserções/deleções, fusões gênicas e alterações na expressão gênica. Já na versão Thyroseq v3, 112 genes e cinco classes de alterações moleculares são analisadas, com a inclusão da classe: alterações no número de cópias. Os resultados dos testes são processados por um classificador genômico e relatados como positivo ou negativo.^{12, 13}

O teste Rosetta GX Reveal utiliza os esfregaços de citologia oriundos de punções dos nódulos suspeitos como substrato para analisar a expressão de 24 miRNA (micro RNAs) através de PCR em tempo real com transcrição reversa (qRT-PCR), e classificar as amostras como possuindo um perfil benigno ou suspeito.^{14,9} Por fim, o teste ThyGenX/ThyraMIR utiliza-se de NGS direcionado para fusões e mutações em oito genes de interesse (ThyGenX) e PCR quantitativo em tempo real direcionado para os níveis de expressão de 10 miRNAs (ThyraMIR), fornecendo resultados em duas categorias: alto ou baixo risco.⁹

Os estudos que trouxeram valores de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) dos testes genéticos apresentaram diferenças entre os resultados encontrados. Esses intervalos de variação estão resumidos na Tabela 2.



Tabela 2: Comparação do intervalo de valores de validação dos testes moleculares utilizados para nódulos indeterminados de tireoide.

	Afirma GEC	Afirma GSC	Thyroseq v2	Thyroseq v3	Rosetta GX Reveal	ThyGenX/ThyraMIR
Sensibilidade	87%-97%	90%-100%	44%-93%	93,4%-100%	74%	89%-94%
Especificidade	16,4-65,2%	51%-79,6%	85,5%-93%	16,7%-100%	74%	80%-85%
Valor Preditivo Positivo (VPP)	30%-39%	47%-60%	83%	66%-100%	43%	68%-74%
Valor Preditivo Negativo (VPN)	87,7-94%	91%-96%	96%	97%	92%	94%-97%

Fonte: Os autores (2023).

As diferenças percentuais encontradas podem ser devido a variações entre as populações estudadas, prevalência institucional de malignidade, tamanho da amostra, e ao fato de que apenas parte dos pacientes foram submetidos a cirurgia confirmatória, já que aqueles com amostras de resultado benigno nos testes não foram ressecadas. ^{8, 10}

Usando como base o conceito de testes rule-in e rule-out e os valores apresentados na Tabela 2, é possível classificar o teste afirma GEC como um teste rule-in e os testes Thyroseq (v2 e v3), Afirma GSC e ThyGenX/ThyraMIR como testes com capacidade rule-in e rule-out. O teste Rosetta GX Reveal não atingiu os valores de VPP ou VPN necessários para ser classificado nessas categorias. ^{10, 15}

Como nenhum dos principais testes têm VPN de 100%, pode haver casos falsos negativos. Assim, coortes grandes são necessárias para determinar quantos nódulos benignos continuam classificados realmente como benignos após os resultados moleculares e recebem acompanhamento apropriado. Já para pacientes com testagem condizente com malignidade, seria possível associar diferentes métodos para melhor avaliação de prognóstico, desfecho clínico, recorrência e mortalidade. Em seguimento a longo prazo, traria forte evidência sobre custo/efetividade, e quantos desses testes mudaram a decisão de tratamento empregada. ¹⁶

Na revisão sistemática de Silaghi et. al., ¹⁴ foi encontrada uma taxa de cirurgias significativamente superior em pacientes com resultado positivo nos testes moleculares (64,3%), em comparação aos doentes com exames negativos (34,6%). Já na pesquisa de Glass et al, ¹⁷ observou-se maior número de cirurgias nos casos que não passaram por testagem (50,4%), em comparação aos avaliados molecularmente (41,2% dos avaliados por Thyroseq v3 e 32,2% dos avaliados por ThyGenX/ThyraMIR). ¹⁴

De modo geral, os achados dos artigos mostram o impacto dos resultados dos testes no manejo de casos de nódulos indeterminados da tireoide. As informações sugerem que o uso em pacientes Bethesda III e IV podem ter predição acurada do risco de malignidade e reduzir o número de cirurgias



de tireoide realizadas. Com exceção do Afirma GEC, em que há dados divergentes a respeito do seu impacto no decréscimo de procedimentos cirúrgicos desnecessários, tendo como provável justificativa o VPP moderado do exame associado ao aumento do número de cirurgias em nódulos diagnosticados como suspeitos.⁷

4 DISCUSSÃO

A coleta de material para a realização da análise molecular varia de acordo com o teste que será utilizado. Para o Afirma (GEC e GSC), são necessárias duas amostras de PAAF, armazenadas em solução preservadora de ácido nucleico. Já para o ThyGenX/ThyraMIR, apenas um exemplar é necessário. O Thyroseq (v2 e v3) pode ser realizado no espécime da punção ou bloco de tecido fixado em formalina e embebido em parafina. Por último, o Rosetta GX Reveal pode ser processado sobre as próprias lâminas citológicas coradas, desde que a quantidade seja suficiente para a análise.^{7, 9}

Como dito, os testes moleculares são indicados com maior frequência para a avaliação de nódulos Bethesda III e IV, com o objetivo de auxiliar a decisão terapêutica.¹⁸, porém, em diversas pesquisas de pós validação, e também nos estudos clínicos do Thyroseq v3 e Rosetta GX Reveal, foi incluída a categoria Bethesda V (suspeito para malignidade) na amostra investigada. Dessa forma, as distintas composições populacionais devem ser consideradas ao comparar os resultados encontrados nos artigos.^{9, 14} ademais, entre os testes moleculares disponíveis atualmente, Afirma GEC e Thyroseq v2 estão em uso clínico há mais tempo, o que impacta no número de estudos de pós validação já produzidos.^{7, 14}

A respeito das limitações dos estudos considerados para esta revisão, argumenta-se pelos pesquisadores a necessidade de melhores dados a respeito da prevalência de câncer de tireoide na população a ser considerada para ajustar as estimativas de sensibilidade e especificidade dos exames diagnósticos, fornecendo uma compreensão mais precisa da capacidade dos testes em detectar corretamente a presença ou ausência de doença. Isso seria fundamental para a interpretação adequada dos resultados e para a tomada de decisões clínicas apropriadas.^{8, 15} ainda, para casos de neoplasia folicular da tireoide não invasiva com aspetos nucleares de carcinoma papilar (NIFTP), os testes moleculares disponíveis atualmente se mostraram incapazes de classificar tais entidades como lesões benignas. Porém, devido ao seu risco potencial de progressão para carcinoma invasivo, o tratamento dessas lesões permanece sendo a remoção cirúrgica.⁸

A aplicação difundida desses testes no Brasil é limitada pelo seu alto custo e a não cobertura pelos planos de saúde locais.⁸ Sobre a experiência nacional, faltam soluções para outros problemas como dificuldade de lidar com amostras, sendo que o gasto do teste molecular é quase tão alto quanto o da cirurgia, devido ao valor comercial do dólar e suas variações, taxas de importação e exportação,



despesa do envio e burocracias adicionais.¹⁰ Ademais, faltam dados da população brasileira para determinar a aplicabilidade dos testes e sua acurácia neste contexto.¹⁰

5 CONCLUSÃO

Os principais testes moleculares para nódulos indeterminados disponíveis e descritos na literatura destacam-se pela relevância clínica no diagnóstico aplicado à citopatologia da tireoide, havendo boa sensibilidade e especificidade. Vale ressaltar, no entanto, que cada um desses exames mostra diferenças em metodologia e características de desempenho no que tange a estratificação de risco dos nódulos tireoidianos.

A American Thyroid Association inclui recomendações gerais sobre o uso e interpretação de testes auxiliares levando-se em consideração o contexto clínico, ultrassonográfico e achados citológicos, não defendendo um determinado teste ou algoritmo específico para seleção dos casos duvidosos. Dessa forma, novos estudos baseados em evidências científicas e amostras populacionais maiores são necessários para desenvolver uma abordagem padronizada para testes moleculares em citopatologia, otimizando o diagnóstico e manejo dos nódulos tireoidianos.



REFERÊNCIAS

- 1- Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, Doherty GM, Mandel SJ, Nikiforov YE, et al. 2015 American Thyroid Association management guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: the American Thyroid Association guidelines task force on thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid*. 2016 Jan;26(1):1-133.
- 2- Torres OJM, Caldas LR de A, Palácio RL, Azevedo RP de, Pacheco JS, Lauletta Neto J, Macau RP. Punção aspirativa com agulha fina (PAAF) em nódulo da tireoide: análise de 61 casos. *Rev. Bras. Cancerol.* [Internet]. 30º de dezembro de 2002, 48(4):511-5. Disponível em: <https://rbc.inca.gov.br/index.php/revista/article/view/2156>.
- 3- Bongiovanni M, Spitale A, Faquin WC, Mazzucchelli L, Baloch ZW. The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology: a meta-analysis. *Acta Cytol.* 2012;56(4):333-9. doi: 10.1159/000339959. Epub 2012 Jul 25. PMID: 22846422.
- 4- Mitchell J, Yip L. Decision making in indeterminate thyroid nodules and the role of molecular testing. *Surg Clin N Am.* 2019 Aug 1;99(4):587-98.
- 5- Costa e Silva HMM. Nódulos indeterminados da tireoide [dissertação]. Porto: Universidade do Porto; 2021.
- 6- Whittlemore R, Knafl K. The integrative review: updated methodology. *J Adv Nurs.* 2005 Dec;52(5):546-53. doi: 10.1111/j.1365-2648.2005.03621.x. PMID: 16268861.
- 7 - Bose S, Sacks W, Walts AE. Update on Molecular Testing for Cytologically Indeterminate Thyroid Nodules. *Adv Anat Pathol.* 2019 Mar;26(2):114-123.
- 8 - Danilovic DLS, Marui S. Critical analysis of molecular tests in indeterminate thyroid nodules. *Arch Endocrinol Metab.* 2018;62(6):572-575. doi: 10.20945/2359-3997000000095. PMID: 30624495;
- 9 - Nishino M, Nikiforova M. Update on Molecular Testing for Cytologically Indeterminate Thyroid Nodules. *Arch Pathol Lab Med.* 2018 Apr;142(4):446-457. doi: 10.5858/arpa.2017-0174-RA. Epub 2018 Jan 16. PMID: 29336606.
- 10 - Ferraz C. Can current molecular tests help in the diagnosis of indeterminate thyroid nodule FNAB?. *Arch Endocrinol Metab* [Internet]. 2018 Dec;62(6):576–84.
- 11 - Nishino M, Krane JF. Role of Ancillary Techniques in Thyroid Cytology Specimens. *Acta Cytol.* 2020;64(1-2):40-51. doi: 10.1159/000496502. Epub 2019 Apr 4. PMID: 30947167.
- 12 - Nikiforova MN, Mercurio S, Wald AI, Barbi de Moura M, Callenberg K, Santana-Santos L, Gooding WE, Yip L, Ferris RL, Nikiforov YE. Analytical performance of the ThyroSeq v3 genomic classifier for cancer diagnosis in thyroid nodules. *Cancer.* 2018 Apr 15;124(8):1682-1690. doi: 10.1002/cncr.31245. Epub 2018 Jan 18. PMID: 29345728;
- 13 - thyroseq.com [Internet]. Rye: Sonic Healthcare USA ThyroSeq Laboratory; c2023. Disponível em: <https://www.thyroseq.com/physicians/test-description/>
- 14 - Silaghi CA, Lozovanu V, Georgescu CE, Georgescu RD, Susman S, Năsui BA et al. Thyroseq v3, Afirma GSC, and microRNA Panels Versus Previous Molecular Tests in the Preoperative Diagnosis of Indeterminate Thyroid Nodules: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021 May 13;12:649522. doi: 10.3389/fendo.2021.649522. PMID: 34054725;



- 15 - Jug R, Parajuli S, Ahmadi S, Jiang XS. Negative Results on Thyroid Molecular Testing Decrease Rates of Surgery for Indeterminate Thyroid Nodules. *Endocr Pathol*. 2019 Jun;30(2):134-137. doi: 10.1007/s12022-019-9571-x. PMID: 30825100.
- 16 - Vargas-Salas S, Martínez JR, Urra S, Domínguez JM, Mena N, Uslar T et al. Genetic testing for indeterminate thyroid cytology: review and meta-analysis. *Endocr Relat Cancer*. 2018 Mar;25(3):R163-R177. doi: 10.1530/ERC-17-0405. Epub 2017 Dec 18. PMID: 29255094;
- 17 - Glass RE, Marotti JD, Kerr DA, Levy JJ, Vaickus LJ, Gutmann EJ et al. Using molecular testing to improve the management of thyroid nodules with indeterminate cytology: an institutional experience with review of molecular alterations. *J Am Soc Cytopathol*. 2022 Mar-Apr;11(2):79-86. doi: 10.1016/j.jasc.2021.08.004. Epub 2021 Aug 21. PMID: 34627720.
- 18 - Rosario PW, Rocha TG. Molecular tests for surgery indication in thyroid nodules: Should Bethesda V cytology be included? *Diagn Cytopathol*. 2020 Oct;48(10):959. doi: 10.1002/dc.24418. Epub 2020 Mar 23. PMID: 32202381.