



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

Fábio Massahito Yamamoto

Comparação das características nucleares da neoplasia tireoidiana folicular não invasiva com características nucleares do tipo carcinoma papilífero, do carcinoma papilífero de tireoide subtipo folicular e do carcinoma folicular através da análise digital de imagens em amostra citológica.

Dissertação apresentada à
Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio
de Mesquita Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de
Mestre em Patologia.

Orientador: Prof. Dr. José Cândido Caldeira Xavier Júnior

**Botucatu
2023**

Fábio Massahito Yamamoto

Comparação das características nucleares da neoplasia tireoidiana folicular não invasiva com características nucleares do tipo carcinoma papilífero, do carcinoma papilífero de tireoide subtipo folicular e do carcinoma folicular através da análise digital de imagens em amostra citológica.

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Patologia.

Orientador: Prof. Dr. José Cândido Caldeira Xavier Júnior

Botucatu
2023

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

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Yamamoto, Fabio Massahito.

Comparação das características nucleares da neoplasia tireoidiana folicular não invasiva com características nucleares do tipo carcinoma papilífero, do carcinoma papilífero de tireoide subtipo folicular e do carcinoma folicular através da análise digital de imagens em amostra citológica / Fabio Massahito Yamamoto. - Botucatu, 2023

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu
Orientador: José Cândido Caldeira Xavier Júnior
Capes: 40105008

1. Tireoide - Câncer. 2. Células epiteliais da tireoide.
3. Câncer papilífero da tireoide. 4. Citologia.

Palavras-chave: Características nucleares em amostra citológica; Carcinoma folicular; Carcinoma papilífero de tireoide subtipo folicular; NIFTP; Patologia digital.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente à Deus pela condução e conclusão desse projeto.

Ao meu amigo e orientador, Dr. José Cândido C. X. Júnior, que me deu a oportunidade em realizar esta pesquisa, pela paciência e ensinamentos.

Ao graduando Leonardo Carnevalli Liano pelo desenvolvimento conjunto do projeto piloto.

Ao Hélio Rubens de Carvalho Nunes pela análise estatística realizada.

Aos meus familiares, em especial minha esposa Priscila pelo incentivo em iniciar este desafio, apoio nas etapas de seu desenvolvimento e companheirismo de sempre.

Aos docentes da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB/UNESP), funcionários do Programa de Pós-graduação, médicos e funcionários do Instituto de Patologia de Araçatuba (IPAT).

Aos membros da Comissão Examinadora do Exame Geral de Qualificação e Dissertação pela atenção, contribuição e tempo dispensado.

“ A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”

Arthur Schopenhauer

Resumo

INTRODUÇÃO: Neoplasia tireoidiana folicular não invasiva com características nucleares do tipo carcinoma papilífero (NIFTP) é um diagnóstico histológico. Além disso, existe grande sobreposição dos resultados na citologia de NIFTP, carcinoma papilífero de tireoide subtipo folicular (CPTSF) e carcinoma folicular (CF). Nos dias de hoje, não há substratos morfológicos para diferenciar essas entidades no exame citológico e assim, levantamos a hipótese, se a análise computadorizada das imagens nucleares, através da patologia digital, poderia auxiliar nessa diferenciação. **OBJETIVO:** Comparar material citológico de NIFTP e seus principais diagnósticos diferenciais, CPTSF e CF quanto aos parâmetros morfométricos e morfológicos nucleares através de técnica de análise digital de imagens, a fim de fortalecer a identificação de NIFTP ainda no pré-operatório. **MÉTODOS:** Estudo observacional analítico e retrospectivo que avaliou variáveis morfométricas nucleares do material citológico de nódulos tireoidianos, do período de 2017 a 2021, classificados histologicamente como CPTSF, NIFTP e CF no Instituto de Patologia de Araçatuba (IPAT), São Paulo, Brasil. Analisou-se cinco casos de cada entidade e dois citopatologistas revisaram todos os casos de acordo com o Sistema Bethesda. Informações clínicas como sexo, idade, tamanho do tumor e localização (lobo esquerdo, lobo direito, istmo) foram coletadas do relatório da punção aspirativa por agulha fina (PAAF). Imagens citológicas foram fotografadas e 1170 células de cada entidade foram analisadas digitalmente usando o software ImageJ, por análise cega. Um traçado manual e cuidadoso dos limites de cada núcleo na imagem fotografada foi realizado usando uma ferramenta de desenho para extração de dados. A avaliação morfométrica incluía área, perímetro, largura, altura e circularidade. Variáveis numéricas foram descritas pela média, mediana e seu mínimo e máximo (mín.; máx.). Kruskal-Wallis e teste de Dunn foram utilizados e as diferenças foram consideradas estatisticamente significativas se $p < 0.05$. **RESULTADOS:** Em todas as categorias, estavam distribuídos 4 mulheres e 1 homem. Entre os casos de CPTSF, a idade mediana foi de 48 anos. Quatro casos foram classificados como suspeitos para malignidade e um como maligno de acordo com o Sistema Bethesda. Todos os casos foram estadiados como pT1b pN0, com mediana do tamanho do nódulo de 1.3cm. Entre os casos de NIFTP, a mediana da idade foi de 40 anos. Todos os casos foram classificados como suspeitos para malignidade e a mediana do tamanho do nódulo foi de 1.5cm. Entre o CF, a mediana da

idade foi de 45 anos, três casos foram classificados como suspeitos para neoplasia folicular/suspeito para neoplasia folicular, um caso suspeito para malignidade e um caso como atipia de significado indeterminado/neoplasia folicular de significado indeterminado. Nas três categorias analisadas, o tamanho do tumor foi diferente entre os grupos, sendo maior no grupo do CF (CPTSF: média: 1.4 cm vs. NIFTP: 1.54 cm vs. CF: 5.66 cm; $p = 0.009$). Em relação a análise nuclear, todas as variáveis tiveram diferença entre os grupos ($p < 0.001$), inferindo dessa forma, pelas variáveis serem interdependentes que o tamanho nuclear foi maior no grupo da NIFTP, que por sua vez foi maior que no grupo do CF. (NIFTP > CF > CPTSF). Quando avaliou-se dois grupos entre si, apenas a circularidade nuclear não foi diferente entre NIFTP e CF ($p = 0.152$).

DISCUSSÃO/CONCLUSÃO: Comparativamente, a análise das imagens digitais com ênfase nos parâmetros nucleares foi diferente quanto ao tamanho entre NIFTP, CPTSF e CF em amostra citológica. Dessa forma, este instrumento tem potencial em acrescentar informações que possam auxiliar no diagnóstico dessas entidades ainda no pré-operatório. Sendo assim, mais estudos são necessários para criação de protocolos para estimular a aplicabilidade dos parâmetros morfológicos e morfométricos nucleares com enfoque na patologia digital para utilização de algoritmos e ferramentas que auxiliem na rotina diagnóstica do citopatologista.

Abstract

INTRODUCTION: Up to now non-invasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features (NIFTP) is a histological diagnosis. In the current post-NIFTP era, the challenge is to suspect the diagnosis, even in the preoperative period. We hypothesized that computerized analysis of nuclear images could differentiate NIFTP from papillary thyroid carcinoma follicular subtype (PTCFS) and follicular carcinoma (FC) influencing patient's management (lobectomy vs. total thyroidectomy) in the context of high risk for NIFTP. **METHODS:** We performed a retrospective analytical observational study based on nuclear morphometric variables of the cytological material of thyroid nodules classified as PTCFS, NIFTP, and FC. Five cases of each entity were analyzed. Two cytopathologists reviewed all cases according to the Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology (TBSRTC). We recorded sex, age, tumor size, and location (left lobe, right lobe, isthmus) from fine-needle aspirate reports. Cytological slides were photographed, and 1170 cells for each entity were analyzed digitally. The captured images were evaluated using free software (ImageJ) blindly. The morphometric evaluation included area, perimeter, width, height, and circularity. Numerical variables were expressed as mean, medians, minimum, and maximum (min; max). Kruskal-Wallis and Dunn's tests were used with a 5% significance level. **RESULTS:** In all categories, there were four women and one man. Among PTCFS cases, the median age was 48 years. Four cases were classified as suspicious for malignancy and one as malignant, according to TBSRTC. All cases were staged as pT1b pN0. Among NIFTP cases, the median age was 40 years. All cases were classified as suspicious of malignancy. Among FC cases, the median age was 45 years; three cases were classified as suspicious for follicular neoplasm, one case was suspicious for malignancy, and one case was a follicular lesion of undetermined significance. Tumor size was larger in the FC group (CPTSF: mean: 1.4 cm vs. NIFTP: 1.54 cm vs. FC: 5.66 cm; $p = 0.009$). Regarding nuclear analysis, all variables differed among the three groups ($p < 0.001$). Once the variables are interdependent, these data indicated that nuclear size was greater in the NIFTP group followed by CF and CPTSF. **DISCUSSION/CONCLUSION:** Comparatively, the analysis of digital images with emphasis on nuclear parameters was different regarding nuclear size among NIFTP, CPTSF and CF in cytological specimens. Thus, this instrument has the potential to add information that may help in the diagnosis for NIFTP,

even during the preoperative period. Additional studies are needed to create protocols, evaluate the applicability of nuclear morphological and morphometric parameters focusing on digital pathology, and create algorithms and tools to assist the cytopathologist's diagnostic routine.

Símbolos, siglas e abreviaturas

CF: Carcinoma folicular

CPT: Carcinoma papilífero de tireoide

CPTSF: Carcinoma papilífero de tireoide subtipo folicular

FMB: Faculdade de Medicina de Botucatu

IDH: Índice de Desenvolvimento Humano

INCA: Instituto Nacional de Câncer

IPAT: Instituto de Patologia de Araçatuba

NIFTP: Neoplasia tireoidiana folicular não invasiva com características nucleares do tipo carcinoma papilífero

OMS: Organização Mundial da Saúde

PAAF: Punção aspirativa por agulha fina

UNESP: Universidade Estadual Paulista

Sumário

Capítulo I: Revisão da literatura	10
1. Introdução	11
2. Nódulo de tireoide	12
3. Sistema Bethesda	13
4. Epidemiologia do câncer de tireoide	18
5. Classificação do câncer de tireoide	22
6. Neoplasia tireoidiana folicular não invasiva com características nucleares do tipo carcinoma papilífero – NIFTP	23
7. Patologia digital	25
8. Justificativa	26
9. Objetivo	27
10. Aspectos éticos	27
11. Referências bibliográficas	27
Capítulo II: Artigos científicos	32
Capítulo III: Conclusões	55
Capítulo IV: Anexos	57
1. Anais de Congresso	58
2. Parecer Consubstanciado do CEP	62

Capítulo I – Revisão da literatura

1. Introdução

O câncer de tireoide é a neoplasia mais frequente na endocrinologia, dessa forma, devido a sua prevalência, importância e impacto do diagnóstico e tratamento na vida do paciente, nos últimos anos, mudanças diagnósticas e novas recomendações têm surgido na prática clínica.

A incidência do câncer de tireoide tem aumentado em todo mundo e projeta-se que em 2040 juntamente com o câncer de mama, colorretal, rim e pelve estará entre os principais diagnósticos de câncer nos Estados Unidos (Rahib et al., 2021). O emprego corriqueiro de métodos de imagem sensíveis como o ultrassom cervical contribui para o diagnóstico de doenças subclínicas e também carcinomas papilíferos da tireoide de pequenas dimensões (Davies & Welch, 2006).

Por outro lado, apesar do crescente aumento no seu diagnóstico, não houve aumento proporcional em sua mortalidade, de modo que se estima que a grande maioria dos diagnósticos atuais sejam de carcinomas que não evoluiriam clinicamente devido ao caráter indolente e excelente prognóstico que apresentam (Davies & Welch, 2006).

A possibilidade de cura quando detectado precocemente é de aproximadamente 95% e segundo o Atlas de Mortalidade por Câncer, em 2019, o número de óbitos estimado foi de 869, sendo 298 homens e 571 mulheres (INCA, 2019). Sendo assim, a investigação de nódulos palpados no exame físico ou em exames ultrassonográficos deve ser realizada quando necessário.

Embora com excelente prognóstico e com grande possibilidade de cura que ele apresenta, dados recentes mostram que 64% da população associam automaticamente à morte quando ouvem a palavra câncer e a percepção ainda é bastante negativa, com 35% da população pensando em morte quando ouvem “câncer de tireoide” (Pitt et al., 2022).

Nesse sentido, em 2017, ocorreu a mudança na terminologia de carcinomas de tireoide de padrão folicular de baixo risco, encapsulado e de crescimento indolente, que agora são denominados como neoplasia tireoidiana folicular não invasiva com características nucleares do tipo carcinoma papilífero (NIFTP) (Nikiforov et al., 2016). Hoje, com a compreensão evolutiva das neoplasias de tireoide, foi possível essa reclassificação com um termo que remove a palavra “câncer”, sendo apoiada por um estudo envolvendo membros da comunidade Australiana (Shih et al., 2021).

Dessa forma, tais mudanças têm o potencial de diminuir o sofrimento psicológico e emocional em pacientes diagnosticados com NIFTP, evitando a realização de tireoidectomia total, uma vez que já está demonstrado que as complicações cirúrgicas e de tratamentos

adicionais têm grande impacto na qualidade de vida dos pacientes com carcinomas de tireoide (Pitt et al., 2022).

O diagnóstico de NIFTP ainda é feito após estudo histopatológico da peça operatória, sendo assim, o desafio nos dias atuais para clínicos e patologistas, é suspeitar, ainda no pré-operatório, dessa entidade para que condutas mais conservadoras possam ser tomadas.

2. Nódulo de tireoide

O nódulo de tireoide caracteriza-se por um lesão estruturalmente delimitada no interior da glândula tireoide e que se apresenta radiológica e/ou histologicamente, de forma distinta do parênquima que a circunda (Haugen et al., 2015).

Diversas afecções tireoidianas de etiologias diferentes podem se manifestar com padrão nodular, entre elas, as lesões inflamatórias/infecciosas, os cistos e as lesões hipercelulares que derivam do epitélio folicular como as hiperplasias, os adenomas e carcinomas (Zamora et al., 2022).

É um problema bastante comum na população em geral, fazendo parte da rotina da prática clínica. Sua prevalência quando avaliado por ultrassonografia varia de 20% a 67% (Eidt et al., 2022), dependendo da população estudada, mas, por outro lado, apenas cerca de 5 a 10% deles são malignos. Porém, quando detectado pelos exames de imagem, é um achado que causa bastante preocupação para os pacientes, e que podem levar a investigação e procedimentos desnecessários (Eidt et al., 2022).

Após avaliação médica que verifica os dados de identificação do paciente (sexo, idade, profissão, procedência), história patológica pregressa como exposição à radioterapia da região da cabeça e pescoço, história familiar de câncer de tireoide, tempo de aparecimento e crescimento da lesão nodular, possíveis queixas compressivas e sintomas de disfunção tireoidiana, o médico realiza o exame físico da região cervical com inspeção e palpação da tireoide e de possíveis nódulos (número, tamanho, consistência, bordas e mobilidade) e também de possíveis linfonodomegalias cervicais (Mesa Junior et al., 2022).

Adicionalmente, uma ferramenta de extrema importância é a ultrassonografia de tireoide que fornece informações mais precisas da lesão nodular como tamanho, forma, bordas, calcificação e vascularização, sendo possível uma estratificação inicial com relação ao risco de malignidade e auxiliando na decisão quanto à solicitação da punção aspirativa por agulha fina (PAAF) para melhor elucidação e definição quanto aos aspectos citológicos.

A PAAF guiada por ultrassonografia é um procedimento de baixo custo, pouco invasivo, seguro e confiável, representando o procedimento padrão-ouro na avaliação diagnóstica dos nódulos tireoidianos. Através da análise do material obtido é feito o diagnóstico citológico que permite categorizar os nódulos de tireoide pelo Sistema Bethesda (Bethesda System, 2018), para posterior conduta e seguimento (Durante et al., 2015; Guth et al., 2009).

3. Sistema Bethesda

O sistema Bethesda é a classificação para laudos citopatológicos de tireoide estabelecido a partir de 2007 (Bethesda System, 2018), cuja segunda edição foi publicada em 2018. Ela unificou a interpretação e nomenclatura do resultado do exame citopatológico da PAAF de nódulos tireoidianos. Atualmente, é referência para o diagnóstico nos laboratórios de citopatologia no mundo, refletindo a compreensão mais atual da biologia desse tumor (Bethesda System, 2018).

Ele propõe alguns parâmetros morfológicos para classificação das amostras citopatológicas que, no contexto clínico-radiológico adequado, apresenta boa acurácia na estimativa do risco de câncer, definindo assim o seguimento dos pacientes. Destacam-se como critérios: celularidade, quantidade de coloide, variação do tamanho dos núcleos, presença de fendas nucleares, inclusões nucleares, sobreposição dos núcleos, microcalcificações, presença de papilas, proporção de arranjos foliculares, etc. (Bethesda System, 2018).

O sistema Bethesda estabelece classificação categórica em seis grupos de resultados: categoria I (amostra não diagnóstica), categoria II (benigno), categoria III (atipias de significado indeterminado/lesão folicular de significado indeterminado), categoria IV (suspeito para neoplasia folicular), categoria V (suspeito para malignidade) e categoria VI (maligno) (Bethesda System, 2018), que apresentam diferentes riscos de malignidade (ROM). É importante ressaltar que, na era pós-NIFTP, o ROM das categorias sofreu alteração, principalmente nas categorias III, IV e V, nas quais mais frequentemente se encaixam os casos de NIFTP, conforme tabela 1, abaixo.

Tabela 1: Mudança no risco de malignidade nas categorias de Bethesda na era pós-NIFTP (Adaptado Baloch et al., 2022).

Categoria diagnóstica	Risco de Malignidade (%)	
	Pré-NIFTP	Pós-NIFTP
Categoria I	5-10	Sem diferença
Categoria II	0-3	Sem diferença
Categoria III	10-30	6-18
Categoria IV	25-40	10-40
Categoria V	50-75	45-60
Categoria VI	97-99	94-96

A categoria I contempla esfregaços não diagnósticos / insatisfatórios, que ocorrem quando não há o mínimo de seis grupamentos de dez células foliculares bem visualizadas, nem a presença de coloide abundante (Bethesda System, 2018). Geralmente, esses resultados são decorrentes de características próprias dos nódulos, como rica vascularização ou calcificações grosseiras, ou até mesmo pelas dificuldades técnicas. Nódulos muito pequenos ou muito profundos, mais frequentemente, podem resultar em esfregaços insatisfatórios (Borges et al., 2021).

A categoria II representa casos benignos, nos quais há proporção superior ou igual de coloide em relação à quantidade de células foliculares. Casos de nódulos císticos e casos de tireoidite linfocítica também se enquadram nessa categoria com suas particularidades citológicas, respectivamente, a saber, numerosos histiócitos por vezes com citoplasma contendo hemossiderina e numerosos linfócitos. Nessa categoria, observam-se, também, hiperplasias foliculares, nódulos adenomatosos e tireoidite sub-aguda (Bethesda System, 2018).

Devido à taxa de falsos negativos, que pode variar de 1 a 10%, nova punção está indicada para nódulos que apresentem crescimento durante o acompanhamento clínico e também para nódulos com citologia inicial benigna que apresentem características suspeitas a ultrassonografia, mesmo sem crescimento (Haugen et al., 2015).

A categoria III é denominada atipias de significado indeterminado / lesão folicular de significado indeterminado. Ela contempla diversas situações microscópicas distintas, sendo a maioria delas não conclusivas devido à baixa celularidade ou pela escassez dos achados suspeitos para malignidade. Dentre esses achados, podemos destacar, por exemplo, quando a atipia nuclear (núcleos com cromatina clarificada e irregularmente distribuída e/ou variação do

volume nuclear) é focal ou discreta ou quando há alterações arquiteturais (grupamentos tridimensionais ou presença de microfolículos) (Bethesda System, 2018).

A categoria IV denominada suspeito para neoplasia folicular, se reserva a casos de moderada a elevada celularidade com escassa representação de coloide em arranjo predominantemente microfolicular ou trabecular, na ausência de achados citológicos que sejam indicativos de carcinoma papilífero. Apresenta risco de malignidade inferior a categoria V, devido às peculiaridades do diagnóstico do carcinoma folicular, que se baseia em invasão vascular e/ou capsular, que pode ser realizado, apenas, à histologia.

A categoria V corresponde aos casos cujos achados citomorfológicos são altamente suspeitos para malignidade (atipias nucleares), mas faltam critérios para o diagnóstico conclusivo.

A existência de categorias indeterminadas como as categorias III, IV e V ocorrem para preservar o valor preditivo positivo / valor preditivo negativo das demais categorias e também pelo fato, do diagnóstico do carcinoma folicular ser realizado, apenas, à histologia (Bethesda System, 2018).

Diante de esfregaços com critérios suficientes para o diagnóstico de malignidade (grupamento de células em monocamadas ou esboçando arranjo papilífero e núcleos com variação do seu volume, formato ovalado, contornos irregulares e, por vezes, apresentando fendas e pseudoinclusões citoplasmáticas nucleares), estes devem ser classificados na categoria VI, reservado, portanto, para os casos malignos com risco de malignidade próximo a 100%.

Destaca-se ainda que as categorias de Bethesda não estão restritas ao carcinoma papilífero e devem ser utilizadas para todas as neoplasias da tireoide, tais como carcinoma medular, carcinoma pouco diferenciado e até mesmo linfomas (Bethesda System, 2018).

Segue abaixo, na figura 5, imagens citológicas demonstrativas das categorias I, II, III e IV de Bethesda e na figura 6, imagens ilustrativas com os critérios citológicos utilizados para o diagnóstico do carcinoma papilífero de tireoide.

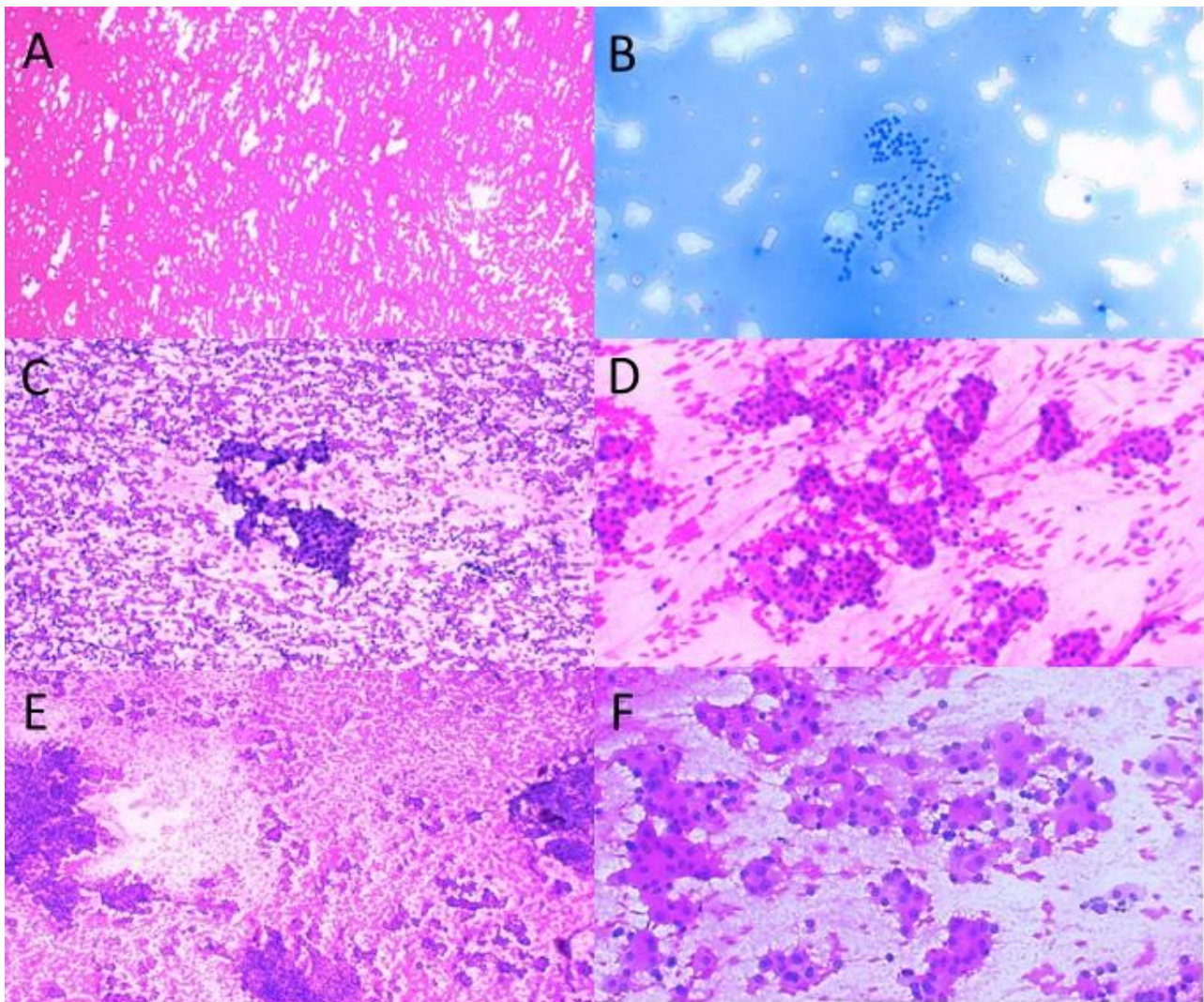


Figura 5: Imagens demonstrativas das categorias de Bethesda. **Fonte:** Arquivo próprio.

A) Categoria I – não diagnóstico: esfregaço hemorrágico, HE 100X. B) Categoria II – benigno: nódulo colóide (note o grupamento de células foliculares benignas em meio a grande quantidade de colóide), Giemsa 200X. C) Categoria II – benigno: tireoidite linfocítica (note os numerosos linfócitos permeando o grupamento de células foliculares) HE 100X. D) Categoria III – lesão folicular de significado indeterminado - esfregaço com frequentes microfolículos, HE 200X. E) Categoria IV – suspeito para neoplasia folicular: visão panorâmica demonstrando a hiper celularidade, HE 40X. F) Categoria IV – suspeito para neoplasia folicular: em detalhe predomínio de células oncocíticas, HE 200X.

HE: hematoxilina e eosina

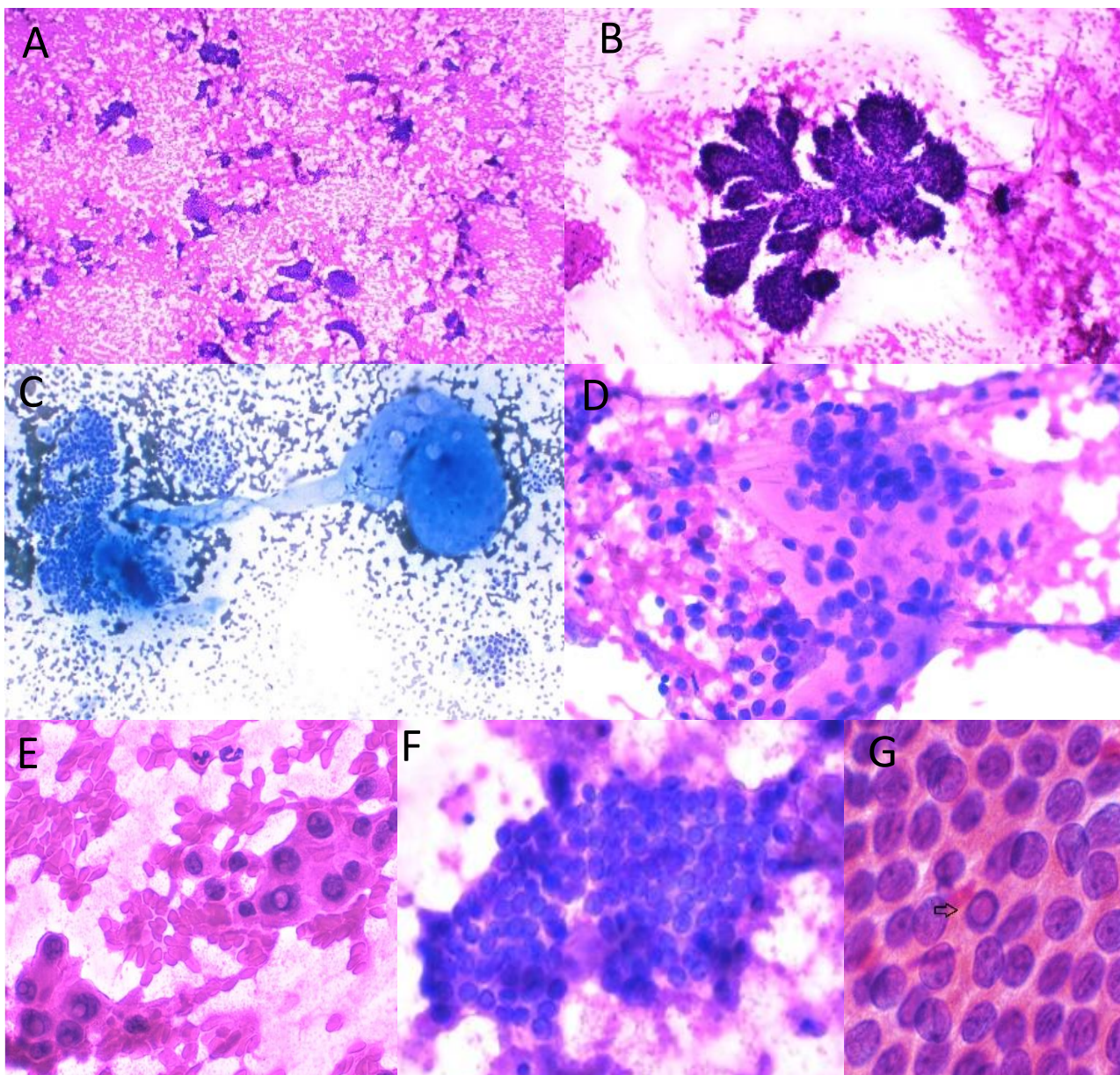


Figura 6: Imagem demonstrativa dos critérios citológicos utilizados para o diagnóstico do carcinoma papilífero de tireoide. **Fonte:** Arquivo próprio.

A) Hipercelularidade, HE 40X. B) Papilas, HE 100X. C) Coloide em goma de mascar, Giemsa 100X. D) Células gigantes multinucleadas, HE 400X. E) Pseudoinclusões nucleares, HE 400X. F) Cromatina clarificada, HE 400X. G) Seta indicando a pseudoinclusão nuclear e núcleos adjacentes com frequentes fendas, HE 1000X.

HE: hematoxilina e eosina

Os resultados falso-positivos são extremamente prejudiciais na tomada de decisão terapêutica, podendo ser consequência de amostra não representativa ou que esteja inadequada quanto a celularidade, processamento ou coloração (Malheiros et al., 2018). Nesses casos, condutas cirúrgicas (tireoidectomias) são realizadas desnecessariamente, estando sujeitos a possíveis complicações como hipoparatiroidismo pós-procedimento e lesão de nervo laríngeo recorrente (Holh, 2016; Malheiros et al., 2018).

Atualmente, NIFTP é considerada uma das causas de resultados falso-positivos no exame citológico; possivelmente, devido à falta de critérios que possibilitem predizer com segurança o seu diagnóstico somente com o material citológico e dessa forma determinar o tratamento mais seguro e assertivo (Rossi & Faquin, 2018).

Em artigo publicado previamente pelo nosso grupo de pesquisa, no serviço de Araçatuba, NIFTP correspondeu a dois dos quatro casos (50%) falso-positivos classificados como suspeitos para malignidade (categoria V) e para o único caso falso-positivo classificado como maligno (categoria VI); destacando essa entidade como principal fator confundidor para suspeita de malignidade à análise citológica (Borges et al., 2022).

Além desse aspecto, nódulos de citologia indeterminada (categorias III e IV da classificação de Bethesda) também são bastante comuns na prática clínica e nesses casos diversos marcadores moleculares têm sido avaliados e indicados (Rosário et al., 2013; Haugen et al., 2016). A presença de mutações em genes específicos como BRAF V600E e RAS ou rearranjos gênicos como RET/PTC e PAX8-PPAR γ também podem ser úteis na definição de malignidade (Nikiforov et al., 2011). Porém, o uso de um painel com esses quatro marcadores, além de pouco disponível e de alto custo, apresenta sensibilidade em torno de 64% (Ferraz et al., 2011).

4. Epidemiologia do câncer de tireoide

Nos últimos anos, tem se observado aumento na incidência do carcinoma de tireoide de maneira global, porém com estabilidade da sua taxa de mortalidade, fato atribuído principalmente ao efeito do sobrediagnóstico (Pizzato et al., 2022).

Em 2020, as taxas de incidência global, padronizada por idade foram de 10,1 por 100.000 mulheres e 3,1 por 100.000 homens e as taxas de mortalidade foram de 0,5 por 100.000 mulheres e 0,3 por 100.000 homens. Em ambos os sexos, as taxas de incidência foram cinco vezes maiores em países com Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) alto e muito alto,

quando comparado com países com IDH baixo e médio, já as taxas de mortalidade foram semelhantes em diferentes contextos (Pizzato et al., 2022).

Conforme estimativa da Global Cancer Observatory em 2020, o carcinoma de tireoide foi o 5º mais frequente na população feminina (figura 1) e o 9º mais frequente em ambos os sexos (figura 2) (Ferlay et al., 2021).

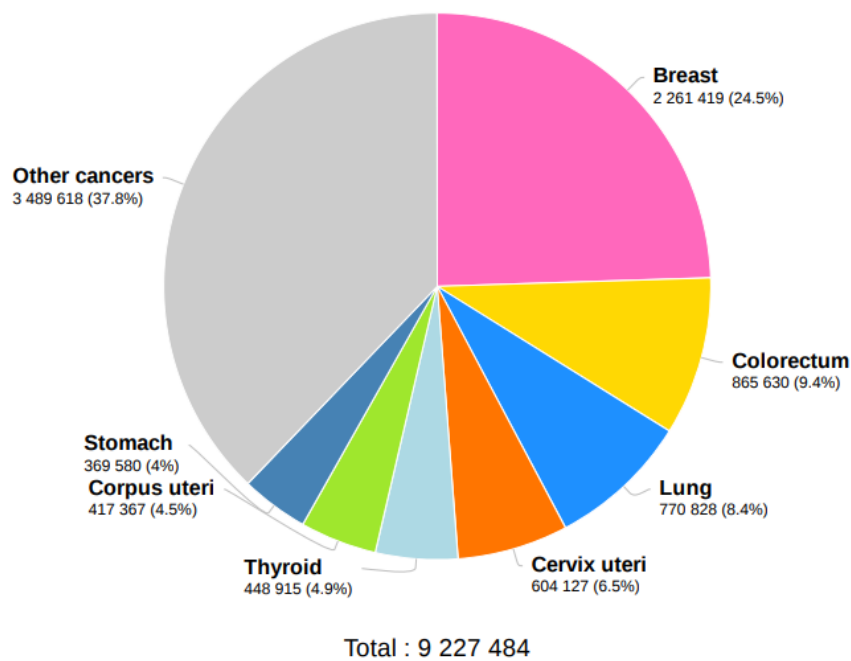


Figura 1: Número estimado de novos casos em 2020, no mundo, em mulheres de todas as idades. **Fonte:** GLOBOCAN 2020.

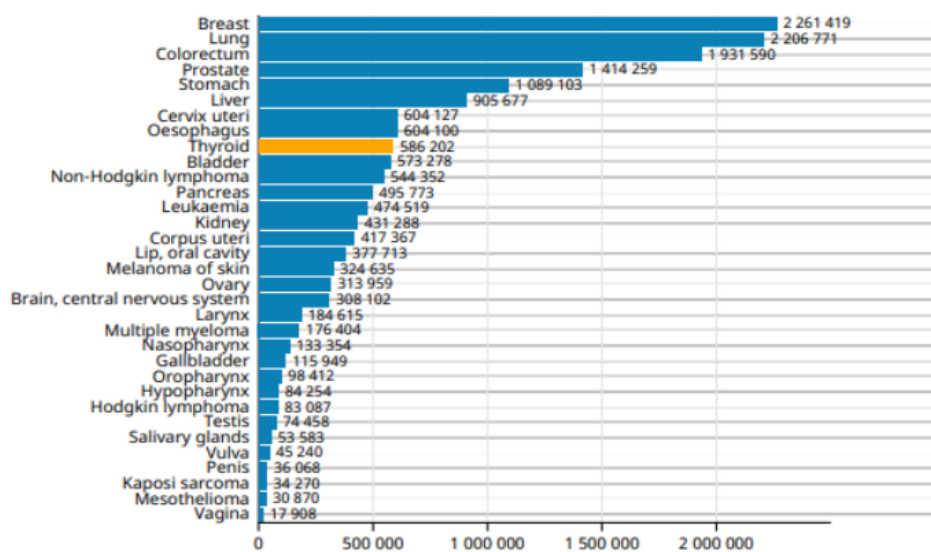


Figura 2: Número estimado de novos casos em 2020, no mundo, em ambos os sexos de todas as idades. **Fonte:** GLOBOCAN 2020.

No Brasil, essa tendência de aumento também é observada, sendo que o câncer de tireoide é o mais comum da região da cabeça e pescoço e afeta três vezes mais as mulheres do que os homens. Para o ano de 2023, estima-se que seja o terceiro câncer mais frequente entre as mulheres da região Sudeste e Nordeste e o quinto mais frequente entre as mulheres das regiões Centro-Oeste, excluindo câncer de pele não melanoma, segundo os dados do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA, 2022). A figura 3, abaixo, representa a taxa ajustada de carcinomas da tireoide, entre as mulheres, nos diferentes estados brasileiros.

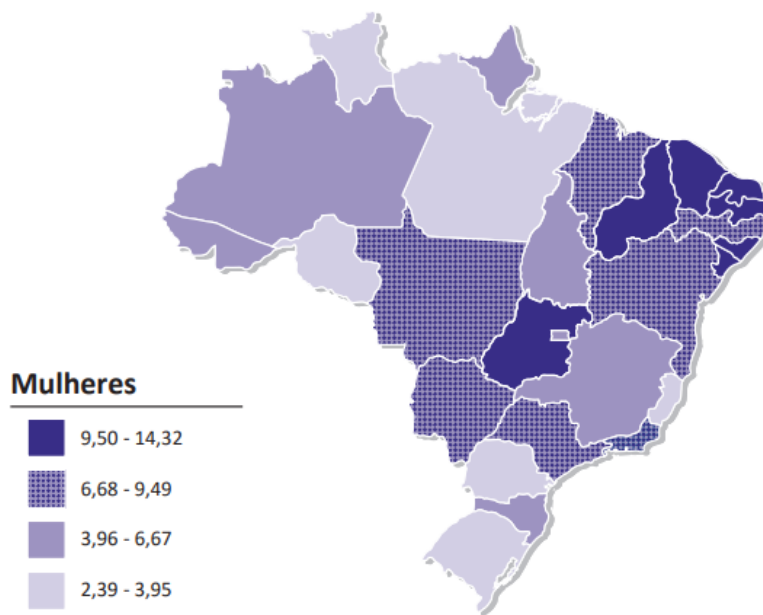


Figura 3: Representação espacial das taxas ajustadas de incidência por 100 mil mulheres, estimadas para o ano de 2023, segundo Unidade da Federação (câncer de tireoide). **Fonte:** INCA, 2022.

Ainda conforme estimativa do INCA para 2023, espera-se 16.660 casos novos de câncer da tireoide, com um risco estimado de 12,79 casos a cada 100 mil mulheres e 2,33 casos a cada 100 mil homens, sendo o 5º mais prevalente na população feminina brasileira, conforme observado na figura 4.

Localização Primária	Casos	%			Localização Primária	Casos	%
Próstata	71.730	30,0%	Homens	Mulheres	Mama feminina	73.610	30,1%
Cólon e reto	21.970	9,2%			Cólon e reto	23.660	9,7%
Traqueia, brônquio e pulmão	18.020	7,5%			Colo do útero	17.010	7,0%
Estômago	13.340	5,6%			Traqueia, brônquio e pulmão	14.540	6,0%
Cavidade oral	10.900	4,6%			Glândula tireoide	14.160	5,8%
Esôfago	8.200	3,4%			Estômago	8.140	3,3%
Bexiga	7.870	3,3%			Corpo do útero	7.840	3,2%
Laringe	6.570	2,7%			Ovário	7.310	3,0%
Linfoma não Hodgkin	6.420	2,7%			Pâncreas	5.690	2,3%
Fígado	6.390	2,7%			Linfoma não Hodgkin	5.620	2,3%

*Números arredondados para múltiplos de 10.

Figura 4: Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2023 por sexo, exceto pele não melanoma. **Fonte:** INCA, 2022.

5. Classificação do câncer de tireoide

Os carcinomas papilíferos de tireoide (CPT) correspondem a quase 90% dos casos de câncer de tireoide, acometem principalmente mulheres entre 3ª e 5ª década de vida e na maioria das vezes, apresentam bom prognóstico, com probabilidade de cura chegando a quase 100%. Os mais agressivos apresentam disseminação linfática para região cervical.

Eles apresentam, como subtipos morfológicos, as formas: clássica, folicular, oncocítico, células altas, difusamente esclerosante, cribiforme-morular, “hobnail”, sólido, entre outros.

O subtipo folicular do carcinoma papilífero (CPTSF), tal como os demais subtipos com exceção do clássico, pode representar uma dificuldade para o diagnóstico devido a ausência de formações papilares (Lloyd et al., 2017). Em relação ao subtipo folicular, a dificuldade ocorre devido à possível escassez dos achados nucleares típicos do carcinoma papilífero, tais como fendas e pseudoinclusões nucleares; podendo ser classificados nas categorias III, IV e V e mais raramente, casos falsos negativos classificados como categoria II (Yoon et al., 2016; Manimaran et al., 2014).

Identificam-se também, menos frequentemente, os carcinomas foliculares (CF), que representam quase 10% dos casos de câncer de tireoide, com acometimento em grupo etário mais avançado que o CPT, com pico de incidência entre a 4ª e 5ª década de vida. É mais agressivo do que o CPT, principalmente nos subtipos invasivos com alto grau de invasão dos vasos e da cápsula, com possível metástase para pulmão e ossos (Lloyd et al., 2017).

No exame citológico do CF, as características nucleares típicas do CPT não são, geralmente, observadas (fendas, pseudoinclusões, clarificação dos núcleos, etc). Dessa forma, idealmente, esses casos devem ser classificados como categoria IV uma vez que o diagnóstico de carcinoma folicular apenas pode ser realizado em cortes histológicos.

A partir da última classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2017, para tumores endócrinos, houve a inclusão da nova entidade NIFTP, que é um tumor não invasivo, encapsulado, bem delimitado, com padrão de crescimento folicular e com características nucleares de CPT (Lloyd et al., 2017). Segundo revisão da literatura, em material citológico, os casos de NIFTP apresentam-se em categorias muito variadas da classificação de Bethesda, sendo que mais de 50% dos casos de NIFTP são classificados nas categorias III ou IV (Haaga et al., 2022).

Dessa forma, como o CPTSF, CF e NIFTP apresentam arquitetura folicular, o diagnóstico diferencial entre essas entidades é desafiador. Observa-se na figura 8, neoplasia

folicular com características nucleares do tipo carcinoma papilífero, a qual poderia corresponder a um CPTSF ou a um NIFTP.

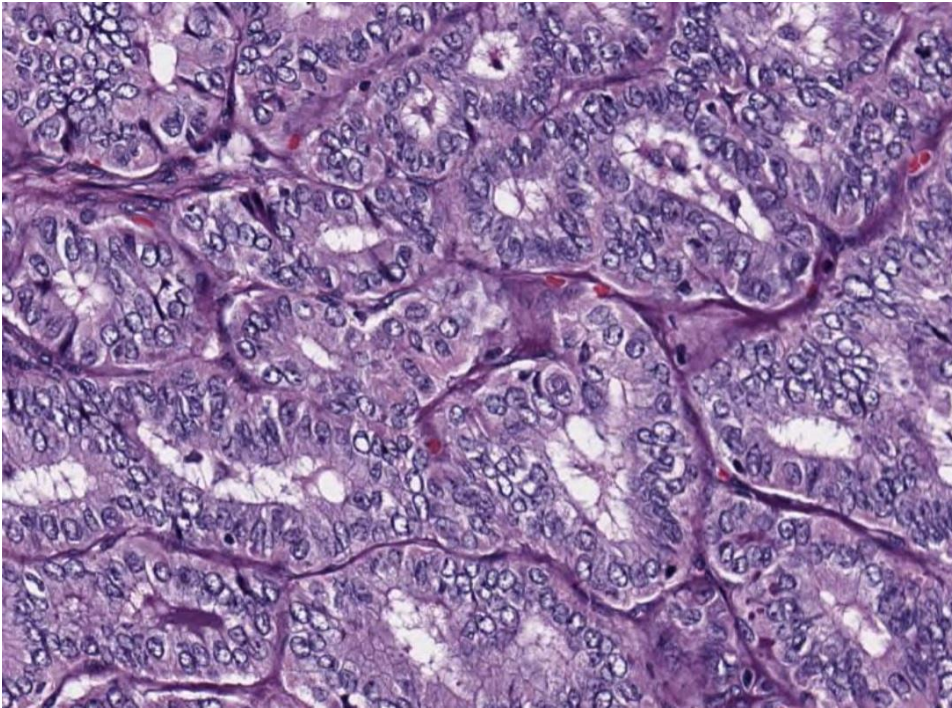


Figura 8: Aspecto histológico exibindo arquitetura folicular, composta por células com núcleos atípicos, irregulares e clarificados, HE 200X. **Fonte:** Arquivo próprio.

HE: hematoxilina e eosina

Em menor frequência ainda, há o carcinoma medular, muitas vezes relacionado a síndromes genéticas, os carcinomas pouco diferenciados e os carcinomas anaplásicos. Outras neoplasias diferentes de carcinomas, tais como linfomas e sarcomas, também podem ocorrer na tireoide, mas são muito raras (Lloyd et al., 2017).

6. Neoplasia tireoidiana folicular não invasiva com características nucleares do tipo carcinoma papilífero - NIFTP

NIFTP é um tumor não invasivo, encapsulado, bem delimitado, conforme observa-se na figura 9. À histológica apresenta padrão de crescimento folicular e características nucleares de CPT, conforme previamente descrito (Lloyd et al., 2017).



Figura 9: Imagem ultrassonográfica sagital mostrando massa bem delimitada, sólida, isoecogênica com margens regulares, cujo diagnóstico final correspondeu à neoplasia tireoidiana folicular não invasiva com características nucleares do tipo carcinoma papilífero - NIFTP. **Fonte:** Baloch et al., 2022

Mediante a classificação de 2017, tumores que previamente eram classificados como carcinomas (CPTSF encapsulado) deixaram de ser classificados como tal (Nikiforov et al., 2016), devido à compreensão do seu comportamento biológico, sem risco de invasão de estruturas adjacentes ou a distância, sem risco de recorrência ou impacto na morbimortalidade (Rosário et al., 2013; Durante et al., 2015).

Segundo a OMS, levando em consideração que NIFTP era previamente classificada como CPTSF encapsulado e não invasivo, a prevalência estimada, dessa entidade, nos países europeus e América do Norte é de 10-20% da totalidade dos cânceres de tireoide (Lloyd et al., 2017).

O diagnóstico de NIFTP, ainda, é feito após estudo histopatológico da peça operatória (vide tabela 2). No entanto, o exame ultrassonográfico de baixa ou moderada suspeição para malignidade (Yamamoto & Xavier, 2022), juntamente com a classificação de Bethesda - categorias III, IV e V (Haaga et al., 2022) e métodos moleculares (predomínio de mutação RAS) (Brandler et al., 2019), tem se mostrado bastante útil para auxiliar na suspeição desse tumor (Yamamoto & Xavier, 2022), confirmando a relevância do tripé diagnóstico clínica-radiologia-patologia.

Tabela 2: Critérios diagnósticos revisados para diagnóstico histopatológico da neoplasia tireoidiana folicular não invasiva com características nucleares do tipo carcinoma papilífero - NIFTP, 2018 (Adaptado Nikiforov et al., 2018).

Critério primário
Tumor encapsulado ou bem delimitado;
Padrão de crescimento folicular sem papilas bem formadas, sem corpos psamomatosos, menos de 30% de padrão de crescimento sólido, trabecular ou insular;
Características nucleares de CPT (grau 2 e 3);
Ausência de invasão vascular ou de cápsula;
Ausência de necrose ou alto índice mitótico (≥ 3 mitoses/campo (x400)).
Critério secundário
Ausência de mutação BRAFV600E detectada por teste molecular ou imunohistoquímico ou outra mutação de alto-risco (TERT, TP 53)

Ainda em recente revisão sistemática e metanálise publicada, Haaga e colaboradores concluíram que NIFTP permanece como diagnóstico histológico e que não pode ser feito apenas pela análise citológica. Entretanto, nesse estudo, evidenciou-se que os achados citomorfológicos das células foliculares não podem diferenciar NIFTP do CPTSF, mas podem ser úteis na distinção entre NIFTP e CPT clássico, uma vez que os achados citomorfológicos de NIFTP são mais similares ao CPTSF do que CPT clássico, sendo que, pseudoinclusões, papilas, microfolículos, células gigantes e corpos psamomatosos são achados com grande validade nessa diferenciação. Dessa forma, sugere-se que NIFTP não deva apresentar papilas ou corpos psamomatosos e as células gigantes raramente são observadas dentre esse casos (Haaga et al., 2022). Destaca-se, no entanto, que essa revisão não levou em consideração a aplicabilidade da patologia digital.

7. Patologia digital

Diferentemente do estudo molecular que é uma ferramenta de difícil acesso na maioria das localidades, incluindo a realidade brasileira, recentemente tem se despontado como um instrumento bastante promissor o emprego da patologia digital que é custo-efetiva, objetiva e facilmente aplicável na avaliação de parâmetros nucleares (morfológicos e morfométricos) das células foliculares (Yashaswini et al., 2017).

Em um estudo conduzido por Hayashi e colaboradores, a análise computadorizada de imagens nucleares de amostra citológica de lesões tireoidianas indeterminadas (categorias III e IV da classificação de Bethesda) já se mostrou uma ferramenta útil e eficaz para o diagnóstico de malignidade (Hayashi et al., 2021). Chain e colaboradores também demonstraram que casos de CPT clássico apresentavam maior área nuclear que as lesões benignas em materiais citológicos. Nesse estudo também ficou demonstrado que os casos de NIFTP apresentaram “elongation” (parâmetro definido pela razão entre o diâmetro do núcleo no maior e no menor eixo) menor que os casos de CPT (Chain et al., 2019).

Nos estudos que avaliaram amostras histológicas, Coelho e colaboradores verificaram diferença na textura da cromatina nuclear quando comparados NIFTP e CPTSF infiltrativo, os primeiros apresentando núcleos mais claros com coloração mais heterogênea, porém essa diferença não foi encontrada quando comparou-se ao CPTSF encapsulado com invasão de cápsula (Coelho et al., 2021). Wang e colaboradores mostraram que foi possível diferenciar lesões foliculares (adenoma folicular e CF) e células tireoidianas normais através dos parâmetros morfométricos (tamanho do núcleo e distribuição da cromatina). As células tireoidianas normais apresentavam menor tamanho nuclear e menor variação entre os núcleos (entropia), ao passo que o CF apresentava a maior irregularidade na distribuição dos tamanhos e da entropia (Wang et al., 2010).

Valentim e colaboradores demonstraram que a análise dos achados nucleares em imagens computadorizadas é uma ferramenta útil na diferenciação histológica entre adenoma folicular, carcinoma papilífero variante folicular e carcinomas foliculares devido a alta sensibilidade e especificidade diagnóstica, sendo que, quando comparada apenas uma lesão maligna e um adenoma folicular, 100% dos casos foram classificados corretamente, reiterando a importância da patologia digital como ferramenta na avaliação de tumores de padrão folicular (Valentim et.al, 2018).

8. Justificativa

Uma vez que NIFTP é classificado nas categorias III, IV e V de Bethesda (Rossi & Faquin, 2018) e existe grande sobreposição dos resultados na citologia dessa entidade com o CPTSF e o CF (Arco & Aceñero, 2018) e até o momento, não há estudos que forneçam substratos morfológicos para diferenciar essas três entidades ao exame citológico, o desafio

para clínicos e patologistas, é suspeitar, ainda no pré-operatório, dessa entidade para que condutas mais conservadoras sejam tomadas.

A luz do conhecimento mais atual, frente a possibilidade de NIFTP, é necessário uma conduta menos agressiva, preferindo a tireoidectomia parcial em detrimento da total e sem realização de tratamentos adicionais como ablação com radioiodo e terapia supressiva com hormônio tireoidiano (Perros et al., 2014; Haugen et al., 2016).

Dessa forma, levantamos a hipótese, de que a análise computadorizada das características nucleares, através da patologia digital, poderia auxiliar na diferenciação dessas três entidades no material citológico.

9. Objetivo

Comparar quanto aos parâmetros morfométricos e morfológicos nucleares através de técnica de análise digital de imagens, utilizando a ferramenta ImageJ, material citológico de NIFTP, CPTSF e CF do período de 2017 a 2021, no Instituto de Patologia de Araçatuba (IPAT), Araçatuba/SP.

10. Aspectos éticos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário Católico Salesiano Auxilium (UNISALESIANO), Araçatuba, São Paulo, Brasil [CAAE 91316418.4.0000.5379].

11. Referências Bibliográficas

Arco CD, Aceñero MJF. Noninvasive Follicular Thyroid Neoplasm with Papillary-Like Nuclear Features: Can Cytology Face the Challenge of Diagnosis in the Light of the New Classification? *Acta Cytologica*. 2018; 62(4):265-272.

Baloch ZW, Asa SL, Barletta JA, et al. Overview of the 2022 WHO Classification of Thyroid Neoplasms. *Endocr Pathol*. 2022; 33(1):27-63.

Borges FA, Camilo-Júnior DJ, Xavier-Júnior JCC. Thyroid nodules 1 cm or less are related to Bethesda System nondiagnostic and suspicious for malignancy categories. *Cytopathology*. 2021; 32(1):45-49.

Borges FA, Camilo-Júnior DJ, Yamamoto FM, et al. Thyroid FNA performed by cytopathologists accompanied by radiologists guiding the ultrasound provide high-level quality results: A retrospective observational study. *Ann Diagn Pathol*. 2022; 58:151912.

Brandler TC, Cho M, Wei XJ, et al. Noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features: An interobserver study of key cytomorphological features from a large academic medical center. *Cytopathology*, 2019; 30(1):39-45.

Chain K, Legesse T, Heath JE, et al. Digital image-assisted quantitative nuclear analysis improves diagnostic accuracy of thyroid fine-needle aspiration cytology. *Cancer Cytopathol*. 2019; 127(8):501-513.

Coelho BP, de Oliveira Valentim F, Miot HA, et al. Follicular Lesions with Papillary Nuclear Characteristics: Differences in Chromatin Detected by Computerized Image Analysis. *Arch Endocrinol Metab*. 2021; 64(5):630-635.

Davies L, Welch HG. Increasing Incidence of Thyroid Cancer in the United States, 1973-2002. *JAMA*. 2006; 295(18):2164-2167.

Durante C, Costante G, Lucisano G, et al. The natural history of benign thyroid nodules. *JAMA*. 2015; 313(9):926-935.

Eidt LB, Nunes de Oliveira C, Lagos YBBD, et al. A prospective comparison of ACR-TIRADS and EU-TIRADS in thyroid nodule assessment for FNA-US. *Clin Endocrinol*. 2022; 1-11.

Ferlay J, Ervik M, Lam F, et al. (2020). *Global Cancer Observatory: Cancer Today*. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Available from: <https://gco.iarc.fr/today>, accessed 15/11/2022.

Ferraz C, Eszlinger M, Paschke R. Current state and future perspective of molecular diagnosis of fine-needle aspiration biopsy of thyroid nodules. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011; 96(7):2016-2026.

Guth S, Theune U, Aberle J, et al. Very high prevalence of thyroid nodules detected by high frequency (13 MHz) ultrasound examination. *Eur J Clin Invest*. 2009; 39(8):699-706.

Haaga E, Kalfert D, Ludvíková M, et al. Non-Invasive Follicular Thyroid Neoplasm with Papillary-Like Nuclear Features Is Not a Cytological Diagnosis, but It Influences Cytological Diagnosis Outcomes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Acta Cytol*. 2022; 66(2):85-105.

Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, 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; 26(1):1-133.

Hayashi CY, Jaune DTA, Oliveira CC, et al. Indeterminate thyroid cytology: detecting malignancy using analysis of nuclear images. *Endocr Connect*. 2021; 10(7):707-714.

Holh A. Posicionamento Oficial da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) sobre Variante Folicular do Carcinoma Papilífero de Tireoide Não Invasivo e Encapsulado (VFCPT). Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia, 2016.

Instituto Nacional do Câncer (Brasil). Estimativa 2023. Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro, INCA: 2022.

Lloyd RV, Osamura RY, Klöppel G, et al, editores. WHO Classification of Tumours of Endocrine Organs. 4.th edition Lyon: IARC; 2017.

Malheiros DC, Canberk S, Poller DN, et al. Thyroid FNAC: Causes of false-positive results. *Cytopathology*. 2018; 29(5):407-417.

Manimaran D, Karthikeyan TM, Khan DM, et al. Follicular variant of papillary thyroid carcinoma: cytological indicators of diagnostic value. *J Clin Diagn Res*. 2014; 8(3):46-48.

Mesa Junior CO, Scheffel RS, Teixeira PFS. Guia Prático em Doenças da Tireoide. 1 ed, São Paulo, Editora Clannad; 2022

Nikiforov YE, Baloch ZW, Hodak SP, et al. Change in Diagnostic Criteria for Noninvasive Follicular Thyroid Neoplasm With Papillary like Nuclear Features. *JAMA Oncol.* 2018; 4(8):1125-1126.

Nikiforov YE, Ohori NP, Hodak SP, et al. Impact of mutational testing on the diagnosis and management of patients with cytologically indeterminate thyroid nodules: a prospective analysis of 1056 FNA samples. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96(11):3390-3397.

Nikiforov YE, Seethala RR, Tallini G, et al. Nomenclature Revision for Encapsulated Follicular Variant of Papillary Thyroid Carcinoma: A Paradigm Shift to Reduce Overtreatment of Indolent Tumors. *JAMA Oncol.* 2016; 2(8):1023-1029.

Perros P, Boelaert K, Colley S, et al. Guidelines for the management of thyroid cancer. *Clinical Endocrinology.* 2014; 81 (Supplement 1) 1-122.

Pitt SC, Zanoocco K, Sturgeon C. The Patient Experience of Thyroid Cancer. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2022; 51(4):761-780.

Pizzato M, Li M, Vignat J, et al. The epidemiological landscape of thyroid cancer worldwide: GLOBOCAN estimates for incidence and mortality rates in 2020. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2022; 10(4):264-272.

Rahib L, Wehner MR, Matrisian LM, et al. Estimated Projection of US Cancer Incidence and Death to 2040. *JAMA Netw Open.* 2021; 4(4):e214708.

Rosário PW, Ward LS, Carvalho GA, et al. Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia. Thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: update on the Brazilian consensus. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2013; 57(4):240-264.

Rossi ED, Faquin WC. NIFTP Revised: Chronicle of a Change Foretold. *Cancer Cytopathology.* 2018; 126(11):897-901.

Shih P, Nickel B, Degeling C, et al. Terminology Change for Small Low-Risk Papillary Thyroid Cancer As a Response to Overtreatment: Results from Three Australian Community Juries. *Thyroid.* 2021; 31(7):1067-1075.

The Bethesda System for reporting Thyroid Cytopathology, 2018. Second Edition. Springer International Publishing.

Valentim FO, Coelho BP, Miot HA, et al. Follicular thyroid lesions: is there a discriminatory potential in the computerized nuclear analysis? *Endocr Connect*. 2018; 7(8):907-913.

Wang W, Ozolek JA, Rohde GK. Detection and classification of thyroid follicular lesions based on nuclear structure from histopathology images. *Cytometry A*. 2010; 77(5):485-494.

Yamamoto FM, Xavier Junior JCC. Findings other than age that help identify possible cases of non-invasive follicular thyroid neoplasm with nuclear characteristics of the papillary carcinoma type. *Annals of Diagnostic Pathology*. 2022; 56, 151863.

Yashaswini R, Suresh TN, Sagayaraj A. Cytological evaluation of thyroid lesions by nuclear morphology and nuclear morphometry. *J Cytol*. 2017; 34:197-202.

Yoon JH, Kwon HJ, Kim EK, et al. The follicular variant of papillary thyroid carcinoma: characteristics of preoperative ultrasonography and cytology. *Ultrasonography*. 2016; 35(1):47-54.

Zamora EA, Khare S, Cassaro S. Thyroid Nodule. 2022 Sep 5. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan.

Capítulo II – Artigos científicos

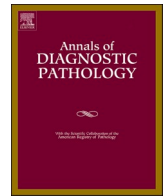
Artigo 1

Yamamoto FM, Xavier Junior JCC. Findings other than age that help identify possible cases of non-invasive follicular thyroid neoplasm with nuclear characteristics of the papillary carcinoma type. *Annals of Diagnostic Pathology*, 2022; 56, 151863.



Contents lists available at ScienceDirect

Annals of Diagnostic Pathology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/anndiagpath

Letter to the Editors

Findings other than age that help identify possible cases of non-invasive follicular thyroid neoplasm with nuclear characteristics of the papillary carcinoma type



ARTICLE INFO

Keywords

Thyroid
Thyroid Neoplasms
Cancer
Fine-Needle Biopsy
Radiology

Dear editor,

Since identifying the non-invasive follicular thyroid neoplasm with nuclear characteristics of the papillary carcinoma type (NIFTP) in 2017, and after the publication of the new classification for endocrine tumors of the World Health Organization [1], many questions remain without clear answers. NIFTP remains a challenging diagnosis for clinicians and pathologists and is based on the following criteria: encapsulation or clear demarcation from adjacent thyroid parenchyma; follicular growth pattern with <1% papillae, no psammoma bodies, and <30% solid/trabecular/insular growth pattern; nuclear features of papillary thyroid carcinoma (PTC) (nuclear score 2–3); and no vascular or capsular invasion and no tumor necrosis or high mitotic activity (<3 mitoses per ten high-power fields) [1].

After reading the commendable paper from Turan and Ozkara [2], we would like to contribute some comments that extend the discussion. As the authors pointed out, NIFTP classification did not reduce the number of total thyroidectomies; one possible reason might be the limitations of cytology in suggesting this diagnosis. A search for NIFTP on PubMed yielded 324 papers as of October 2nd, 2021; most of these are descriptive and do not provide a specific approach for preoperative selection of cases suspect for NIFTP.

Therefore, we would like to integrate radiological and cytological findings to create a practical flowchart that will influence the management of patients presenting with high indexes of suspicion for NIFTP.

Because the NIFTP criteria for lesions smaller than 1.0 cm are controversial [2], and many guidelines recommend performing fine-needle aspiration when lesions are larger than 1.0 cm, even when they show a highly suspect pattern [3,4], we do not consider subcentimeter lesions in our flowchart. Despite the higher prevalence of NIFTP among women [2], gender is also not considered because most thyroid tumors are more frequent among female patients [1].

Compared to follicular adenoma and PTC, NIFTPs are generally wider than taller, and they display smooth borders, an absence of calcification, and minimal Doppler flow. Furthermore, they frequently occur in multinodular thyroids (perinodular and intranodular). Nodule composition is not an essential feature because follicular adenoma,

NIFTP, and PTC are frequently solid [6]. Regarding the American College of Radiology – Thyroid Imaging Reporting and Data System (TIRADS) classification, Rana et al. found that TIRADS 3 was the most common ultrasound diagnosis of NIFTP cases corresponding to 95% of the total [5].

Following the Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology (TBSRTC), NIFTP cases were frequently classified as category III/AUS/FLUS, category IV/follicular neoplasm, or possible follicular neoplasm and category V/suspicious for malignancy [7]. They were rarely classified as category II/benign [2,5,6]. Because benign nodules are followed clinically, category II/benign was not considered in our flowchart.

Extending the WHO NIFTP criteria to cytological specimens, mitoses and necrosis were absent. Papillae cannot represent more than 1% of tumor pattern [1]. Therefore, these three characteristics were not permitted in the cytological specimens suspect for NIFTP [5]. Jaconi et al. reported preoperative fine-needle aspiration findings and found that thyroid cells were usually arranged in monotonous follicular structures with nuclear crowding, focal clearing, and rare grooves (nuclear score ranged between 1 and 2, mostly in score 1 on cytology) [8].

The nuclear score 2 for histological images, described by Turan and Ozkara, is a crucial NIFTP criterion. Therefore, we would like to reinforce the applicability of the nuclear grading concept to cytological smear. Nevertheless, scores of 3 and 2 on histology usually present scores 2 and 1 on cytology (Fig. 1). This difference highlights the necessity of more standard criteria to apply the nuclear grading to cytological specimens. In TBSRTC [7], there is no specific mention of the nuclear grading scale, for example.

In summary, ultrasound and cytological features might help preoperatively to identify cases of possible NIFTP. Suspicious sonographic findings include well-demarcated solid oval-to-round nodules with smooth and regular margins showing minimal vascular flow and no calcification. NIFTP aspirates usually show grade 1 nuclear score on cytology and are classified in categories III, IV, or V from TBSRTC (Fig. 2). Future studies are needed to validate the use of our flowchart.

In brief, ultrasound and cytological findings (including nuclear score) can help gauge the preoperative index of suspicion for NIFTP;

<https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2021.151863>

Available online 22 November 2021
1092-9134/© 2021 Elsevier Inc. All rights reserved.

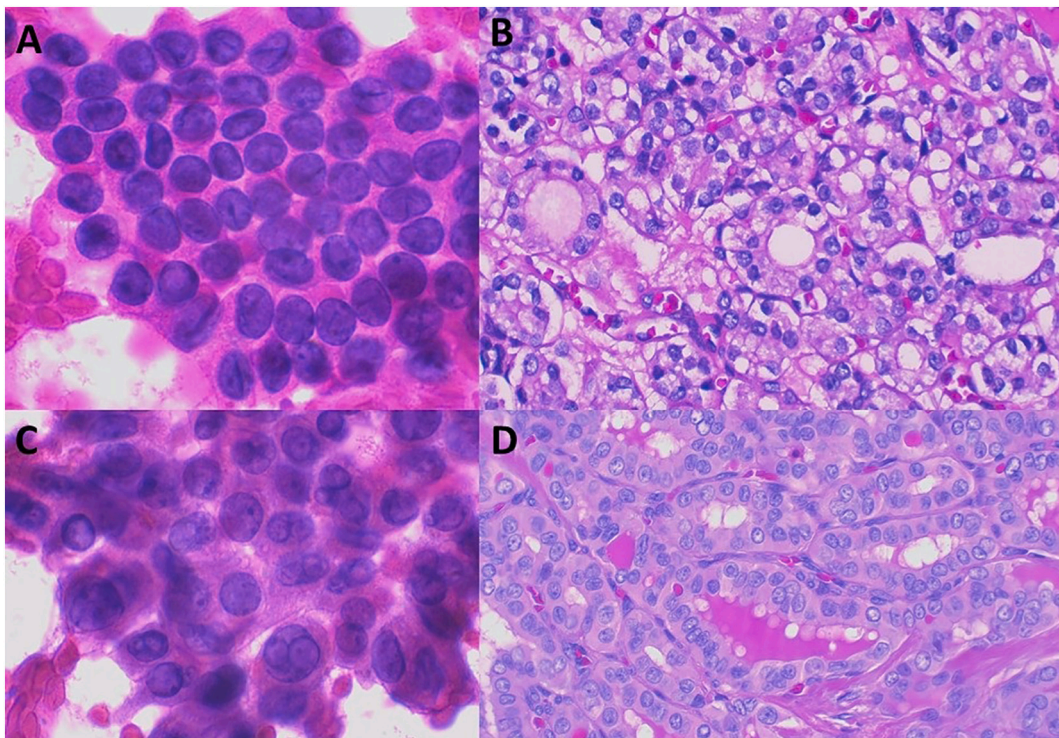


Fig. 1. NIFTP case a) nuclear 1 at cytology (HE 400×) b) nuclear 2 at histology (HE 400×); PTC case a) nuclear 2 at cytology (HE 400×) b) nuclear 3 at histology (HE 400×).

HE: hematoxylin and eosin

NIFTP: non-invasive follicular thyroid neoplasm with nuclear characteristics of the papillary carcinoma type

PTC: papillary thyroid carcinoma.

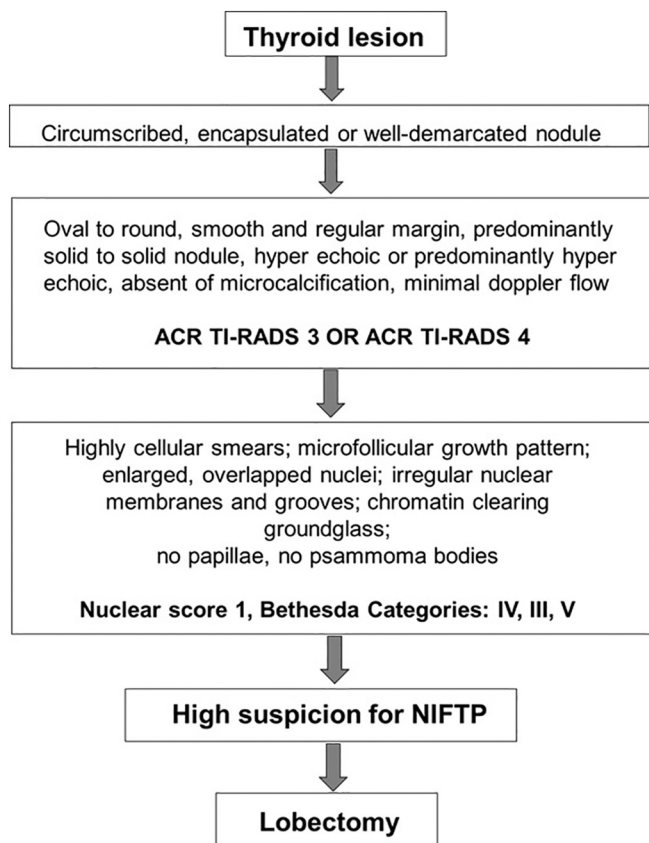


Fig. 2. A practical flowchart for the diagnosis of non-invasive follicular thyroid neoplasm with nuclear characteristics of the papillary carcinoma type (NIFTP) using radiological and cytological findings. ACR TI-RADS: American College of Radiology Thyroid Imaging Reporting and Data System.

characteristics other than age can be used to choose management using lobectomy vs. total thyroidectomy in the context of high risk for NIFTP.

Funding

There are no funding sources.

Declaration of competing interest

None.

References

- [1] Lloyd RV, Osamura RY, Klöppel G, Rosai J, editors. WHO classification of tumours of endocrine organ. 4th edition. Lyon: IARC; 2017.
- [2] Turan G, Özkara SK. Pathological findings of the retrospective diagnosis of NIFTP (non-invasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features) in 84 cases from Turkey and systematic review. *Ann Diagn Pathol* 2021;53:151764.
- [3] Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, Doherty GM, Mandel SJ, Nikiforov YE, Pacini F, Randolph GW, Sawka AM, Schlumberger M, Schuff KG, Sherman SI, Sosa JA, Steward DL, Tuttle RM, Wartofsky L. 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;26(1):1–133.
- [4] Russ G, Bonnema SJ, Erdogan MF, Durante C, Ngu R, Leenhardt L. European Thyroid Association guidelines for ultrasound malignancy risk stratification of thyroid nodules in adults: the EU-TIRADS. *Eur Thyroid J* 2017;6(5):225–37.
- [5] Rana C, Manjunath S, Ramakant P, Singh K, Babu S, Mishra A. Noninvasive follicular neoplasm with papillary like nuclear features: a comprehensive analysis with a diagnostic algorithm. *Diagn Cytopathol* 2020;48(4):330–41.
- [6] Brandler TC, Cho M, Wei XJ, Simms A, Levine P, Hernandez O, Oweity T, Zhou F, Simsir A, Rosen L, Sun W. Noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features: an interobserver study of key cytomorphological features from a large academic medical center. *Cytopathology* 2019;30(1):39–45.
- [7] Ali SZ, Cibas ES. The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology. 2nd ed. Switzerland: Springer International Publishing AG; 2018.
- [8] Jaconi M, Manzoni M, Pincelli AI, Giardini V, Scardilli M, Smith A, Fellegara G, Pagni F. The impact of the non-invasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear feature terminology in the routine diagnosis of thyroid tumours. *Cytopathology* 2017;28(6):495–502.

Fábio Massahito Yamamoto^a, José Cândido Caldeira Xavier-Junior^{a,b,c,*}
^a São Paulo State University, Botucatu, SP, Brazil
^b Pathology Institute of Araçatuba, Araçatuba, SP, Brazil
^c School of Medicine, Centro Universitário Católica Salesiano Auxilium (Unisalesiano), Araçatuba, SP, Brazil

* Corresponding author at: Instituto de Patologia de Araçatuba, Rua Floriano Peixoto, 808. Centro, Araçatuba, SP 16011-071, Brazil. E-mail address: josecandidojr@yahoo.com.br (J.C.C. Xavier-Junior).

Artigo 2

Artigo científico que será submetido a revista Acta Cytologica. Apresentação conforme as normas especificadas na revista Acta Cytologica. Disponível em: <https://www.karger.com/Journal/Guidelines/254338#sec82>

Research Article

Title: Digital analyses of nuclear features can help discriminate non-invasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features from papillary thyroid carcinoma follicular subtype and follicular carcinoma in cytological specimens.

Fábio Massahito Yamamoto^a, Leonardo Carnevalli Liano^b, Deolino João Camilo Júnior^c, José Cândido Caldeira Xavier Junior^{a,b,c}

^a School of Medicine, São Paulo State University, Botucatu – SP, Brazil.

^b School of Medicine. Centro Universitário Católico Salesiano Auxilium (Unisaesiano), Araçatuba – SP, Brazil.

^c Pathology Institute of Araçatuba; Araçatuba – SP, Brazil.

Short Title: Nuclear features of NIFTP: digital analyses

Corresponding author:

José Cândido Caldeira Xavier-Júnior
Instituto de Patologia de Araçatuba
Rua Floriano Peixoto, 808. Centro
Araçatuba – SP
Zip code: 16011-071
Tele: (18) 36236326
Email: josecandidojr@yahoo.com.br

Number of Tables: 4

Number of Figures: 3

Word count: 2452

Keywords: thyroid, thyroid neoplasms, cancer, fine-needle biopsy, cytology.

Abstract

Introduction: Up to now non-invasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features (NIFTP) is a histological diagnosis. In the current post-NIFTP era, the challenge is to suspect the diagnosis, even in the preoperative period. We hypothesized that computerized analysis of nuclear images could differentiate NIFTP from papillary thyroid carcinoma follicular subtype (PTCFS) and follicular carcinoma (FC) influencing patient's management (lobectomy vs. total thyroidectomy) in the context of high risk for NIFTP. **Methods:** We performed a retrospective analytical observational study based on nuclear morphometric variables of the cytological material of thyroid nodules classified as PTCFS, NIFTP, and FC. Five cases of each entity were analyzed. Two cytopathologists reviewed all cases according to the Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology (TBSRTC). We recorded sex, age, tumor size, and location (left lobe, right lobe, isthmus) from fine-needle aspirate reports. Cytological slides were photographed, and 1170 cells for each entity were analyzed digitally. The captured images were evaluated using free software (ImageJ) blindly. The morphometric evaluation included area, perimeter, width, height, and circularity. Numerical variables were expressed as mean, medians, minimum, and maximum (min; max). Kruskal-Wallis and Dunn's tests were used with a 5% significance level. **Results:** In all categories, there were four women and one man. Among PTCFS cases, the median age was 48 years. Four cases were classified as suspicious for malignancy and one as malignant, according to TBSRTC. All cases were staged as pT1b pN0. Among NIFTP cases, the median age was 40 years. All cases were classified as suspicious of malignancy. Among FC cases, the median age was 45 years; three cases were classified as suspicious for follicular neoplasm, one case was suspicious for malignancy, and one case was a follicular lesion of undetermined significance. Tumor size was larger in the FC group (PTCFS: mean: 1.4 cm vs. NIFTP: 1.54 cm vs. FC: 5.66 cm; $p = 0.009$). Regarding nuclear analysis, all variables differed among the three groups ($p < 0.001$). Once the variables are interdependent, these data indicated that nuclear size was greater in the NIFTP group followed by FC and PTCFS. **Discussion/Conclusion:** Comparatively, the analysis of digital images with emphasis on nuclear parameters was different regarding nuclear size among NIFTP, PTCFS and FC in cytological specimens. Thus, this instrument has the potential to add information that may help in the diagnosis for NIFTP, even during the preoperative period. Additional studies are needed to create protocols, evaluate the applicability

of nuclear morphological and morphometric parameters focusing on digital pathology, and create algorithms and tools to assist the cytopathologist's diagnostic routine.

Introduction

The prevalence of thyroid nodules assessed by ultrasound varies from 20% to 67% [1], depending on the population, and only about 5% to 15% are malignant. However, when detected using imaging tests, these findings cause substantial concern for patients, leading to unnecessary investigations and procedures [1].

The most recent World Health Organization (WHO) classification for endocrine tumors defined non-invasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features (NIFTP) [2]. It is a non-invasive, encapsulated, and delimited tumor with a follicular growth pattern and nuclear features of papillary thyroid carcinoma [3]. Due to this change, tumors previously classified as carcinomas (e.g., encapsulated follicular subtype papillary carcinoma) are no longer classified as such [4] because of the understanding of their biological behavior without the risk of invasion of adjacent or distant structures without recurrence risk or impact on morbidity and mortality [5, 6].

The diagnosis of NIFTP is made after a histopathological study of a surgical specimen. In the current post-NIFTP era, the challenge is to suspect the diagnosis, even in the preoperative period. In this scenario, the most conservative lobectomy can be effective. The ultrasound examination of lesions with low or moderate suspicion for malignancy [7] based on cytological characteristics (e.g., atypia of undetermined significance/follicular neoplasm of undetermined significance - AUS/FLUS, follicular neoplasia/suspected for follicular neoplasia - FN/SFN, and suspected for malignancy - SM in the Bethesda classification) and molecular (RAS mutation predominance) [8] is helpful in this investigative perspective and can help rule out this tumor.

Unlike a molecular study, which is expensive and not readily available, digital pathology has emerged as a promising instrument; it is cost-effective, objective, and easily applicable for evaluating nuclear parameters (morphological and morphometric) of follicular cells [9]. Hayashi et al. performed a computerized analysis of nuclear images of a cytological sample of indeterminate follicular cells (AUS/FLUS and FN/SFN nodules from the Bethesda classification); the authors found digital pathology to be valuable and effective in the diagnosis of malignancy [10].

Regarding histological specimens, Valentim et al. demonstrated that the analysis of nuclear features in computerized images is helpful for the histological differentiation between follicular adenoma, follicular variant papillary carcinoma, and follicular carcinomas, due to the high diagnostic sensitivity and specificity. Comparing a malignant lesion and a follicular adenoma, 100% of the cases were classified correctly, highlighting the importance of digital pathology as a tool in the evaluation of follicular pattern tumors [17].

Because NIFTP represents a diagnostic challenge for clinicians and pathologists, the objective of the present study is to evaluate digital image analysis technique to strengthen the identification of this new entity even in the preoperative period, seeking a more assertive approach, comparing the findings to those of follicular carcinoma (FC) and papillary thyroid carcinoma follicular subtype (PTCFS), the primary differential diagnoses of NIFTP.

Materials and methods

We performed a retrospective and analytical observational study of nuclear morphometric variables of the cytological material of thyroid nodules classified as PTCFS, NIFTP, and FC from the Instituto de Patologia de Araçatuba (IPAT), São Paulo, Brazil using ImageJ software.

We analyzed follicular cells from five patients of each entity from surgical specimens with smears from fine-needle aspirations (FNAs) performed between 2017 and 2021. Once in the evaluated service, there were five patients diagnosed as NIFTP during this period, five patients from other entities were also chosen: the last five cases of pure non-encapsulated PTCFS and the last five cases of non-oncocytic FC with available cytological and histological specimens.

At least one conventional slide was produced and stained with hematoxylin and eosin for each nodule. Two cytopathologists reviewed all cases based on the Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology (TBSRTC). Sex, age, location (left lobe, right lobe, isthmus), and ultrasound data (i.e., size, considering the measurement of the primary axis) were collected from the FNA reports. The histological classification and the nuclear score of thyroid surgical specimens were determined according to the WHO Classification of Endocrine Organ Tumors [2] and were reviewed by two pathologists.

Each cytological slide was photographed (BEL camera, Model: HD-CAM, Full HD, 6Mpixel) to obtain samples of follicular cells. From this photograph bank, the project researchers selected five photos from each slide, choosing only photos with higher

magnification (400X) of a large number of clear follicular cell nuclei, avoiding regions with overlapping, clustered, or fragmented nuclei.

The photographed images were analyzed using ImageJ (<https://imagej.nih.gov/ij/>) by a researcher blinded to the final histopathological diagnosis. Careful manual tracing of the boundaries of each nucleus was performed on the image using drawing tools, followed by data extraction (Figure 1).

The number of nuclei to be evaluated in each entity was determined using a pilot statistical study that estimated the minimum amount of cells in each group, considering that the unit of analysis would be the cells and the variables of interest of the study would be obtained by aggregation of photos. The most significant coefficients of variation, type I and II errors, absence of confounders, simple random sampling, uniform allocation ratio in each group, and minimum significant differences were considered. On this basis, we determined it necessary to analyze at least 226 cells for each entity with 5% significance level.

For each nucleus, the program provided a list of morphometric parameters; from them, the most relevant ones were chosen to proceed with the nuclear evaluation. The three entities were compared in terms of patient age, sex, tumor size, and location using non-parametric Kruskal-Wallis tests followed by Dunn's test for multiple comparisons or Fisher's exact test.

Cytological material from thyroid nodules classified as PTCFS, NIFTP, and FC was compared according to the following nuclear morphometric variables: area, perimeter, width, height, and circularity.

The comparison between the groups concerning the nuclear variables was performed using the Kruskal-Wallis test, followed by the Dunn test for multiple comparisons. Differences were considered statistically significant if $p < 0.05$.

Analyses were performed using SPSS software version 21.0. Data were expressed as absolute (n) and relative (%) values. Numerical variables were expressed as the mean, median and minimum/maximum (min; max).

Results

In all categories, of the five patients evaluated, four were female, and only one was male. There was a significant difference between the groups regarding mean tumor size measured on the longest axis (PTCFS: 1.4 cm vs. NIFTP: 1.54 cm vs. FC: 5.66 cm; $p = 0.009$), with the FC entity being significantly different from the PTCFS and NIFTP entities.

There was no significant difference between the groups in terms of age (PTCFS: Median: 48 years (Min: 42; Max: 58) vs. NIFTP: 40 years (32; 67) vs. FC: 45 years (33; 77); $p = 0.811$), or regarding tumor location (Table 1).

Regarding the Bethesda classification, four (80%) of PTCFS were classified as SM, and one (20%) was malignant (M). All NIFTP cases (100%) were classified as SM, while for FC, three (60%) were classified as FN/SFN, one (20%) was SM, and one (20%) was AUS/ FLUS (Table 2).

According to pathological staging, among the PTCFS, four (80%) were classified as pT1b pN0, and one (20%) was pT1b pNx. For FC cases, four (80%) had extensive vascular invasion and were largely invasive; these were classified as pT3. Only one (20%) was minimally invasive and was classified as pT1b pN0.

According to the nuclear score system [2], all PTCFS were classified as grade 3 (Figure 2). Four of five NIFTPs were classified as grade 3, and only one was classified as grade 2 because chromatin clearing was not evident (Figure 3).

Regarding the nuclear parameters (area, perimeter, width, height, and circularity), all variables showed significant differences among the three groups, and for all of them, the size of NIFTP is greater than FC, which in turn is greater than PTCFS ($p < 0.001$) (Table 4). When the two groups were compared separately, only the NIFTP and FC groups showed no difference in circularity ($p = 0.15$), but all other variables showed significant differences between the groups when evaluated two by two (Table 3).

Discussion/Conclusion

Our primary finding was that computerized analysis of nuclear images showed difference among PTCFS, NIFTP, and FC. Considering that area, perimeter, width and height measurements are interdependent variables and related to nuclear size, all analyzed variables demonstrated nuclear features among NIFTP cases are greater than FC and PTCFS ones, so this analysis can be used to increase the accuracy in diagnosing these tumors in routine diagnosis.

We demonstrated the importance of evaluating nuclear parameters using digital pathology, a finding corroborated by studies that analyzed follicular cells in cytological [9, 10, 13] and histological [11, 12, 14] samples. However, studies with histological samples are more frequent [11, 12, 14]. In cytological samples, digital pathology increased the diagnostic accuracy of malignancy in indeterminate nodules [10] and helped differentiate malignant from benign nodules because, in the former, the minimum nuclear diameter, maximum nuclear diameter, perimeter, and nuclear area were more significant [9].

In studies that evaluated histological samples, Coelho et al. used ImageJ software and found a difference in the texture of nuclear chromatin when comparing NIFTP and infiltrative follicular subtype papillary thyroid carcinoma; the former presented lighter nuclei with more heterogeneous staining, but this difference was not found when compared to the encapsulated/well demarcated follicular subtype of papillary thyroid carcinoma with tumor capsular invasion [11]. Wang et al. showed that it was possible to differentiate follicular lesions (follicular adenoma and FC) and normal thyroid cells using morphometric parameters (nucleus size and chromatin distribution). Normal thyroid cells had smaller nuclei and less variation between nuclei (entropy), while FC had the most significant irregularity in the distribution of sizes and entropy [12]. Chain et al. reported that cases of the classic papillary thyroid carcinoma subtype had a larger nuclear area than benign lesions in cytological materials. In the present study, we also demonstrated that cases of NIFTP presented elongation (a parameter defined by the ratio between the diameters of the nucleus in the most significant and smallest axes) smaller than the cases of papillary thyroid carcinoma [13].

In addition to the practical relevance in the evaluation of nuclear parameters, Ramos et al. demonstrated agreement in the assessment of the nuclear score of thyroid lesions with a follicular pattern from histological images when using optical and digital evaluation; they also observed agreement in the analyses between different pathologists, validating the use of digital pathology in the nuclear score of thyroid lesions with a follicular pattern [14].

Compared to surgical pathology, cytopathology is at a disadvantage when analyzing the application of digital pathology in routine diagnosis. There are no specific regulations or standardization of images. Furthermore, the costs are substantial. The number of slides per case, the different types of specimens to be analyzed (e.g., cell block, cyto spin, and smear), and the stains used in different services (e.g., hematoxylin and eosin, Giemsa, and Papanicolaou) make it even more challenging to use digital pathology. Furthermore, in a smear, the cells are not always arranged in the same plane (e.g., three-dimensional clusters), which impairs the scanned image quality [15]. On the other hand, the application of telecytopathology could help to reduce inequality and facilitate access to specimens by specialists in each area [16].

To the best of our knowledge, this is the first study to compare nuclear morphometric variables of cytological material of thyroid nodules classified as PTCFS, NIFTP, and CF. One limitation was that the database originated from a single research center. Another was that there were few patients in each group. Nevertheless, considering that the analysis unit of the present study is the cells and not the number of patients, we sought to evaluate a significant number of

them in each entity (N= 1170; more than four times the number of cells defined in the pilot study) for a more reliable comparison.

NIFTP, CPTSF, and CF presented distinct nuclear parameters using digital image analyses of cytological samples, especially with regard to size. This is a little-explored area with substantial potential to assist in diagnosing a challenging entity (NIFTP) in the preoperative period. Additional studies are needed to create protocols to stimulate the applicability of nuclear morphological and morphometric parameters with a focus on digital pathology and to create algorithms and tools that assist diagnoses by cytopathologists in a multidisciplinary approach, also considering clinical and radiological information.

Statements

Acknowledgment

We are grateful to Hélio Rubens de Carvalho Nunes, the statistical adviser of the Research Support Office of the Faculty of Medicine of Botucatu/UNESP, for his statistical analysis.

Statement of ethics

The Committee for Research Ethics of the Centro Universitário Católico Salesiano Auxilium approved the study, Araçatuba, São Paulo, Brazil [CAAE 1316418.4.0000.5379].

Conflict of interest statement

None

Funding sources

None

Author contributions

Fábio Massahito Yamamoto: data collection, statistical analyses, and manuscript writing.

Leonardo Carnevalli Liano: data collection.

Deolino João Camilo-Júnior: FNA, microscopic analysis.

José Cândido Caldeira Xavier-Junior: study design, FNA, microscopic analysis, and manuscript review.

Data Availability Statement

All data generated or analyzed during this study are included in this article. Further inquiries can be directed to the corresponding author.

References

1. Eidt LB, Nunes de Oliveira C, Lagos YBBD, et al. A prospective comparison of ACR-TIRADS and EU-TIRADS in thyroid nodule assessment for FNA-US. *Clin Endocrinol.* 2022;1-11.
2. Lloyd RV, Osamura RY, Klöppel G, et al, editores. WHO Classification of Tumours of Endocrine Organs. 4.th edition Lyon: IARC; 2017.
3. Nikiforov YE, Seethala RR, Tallini G, et al. Nomenclature Revision for Encapsulated Follicular Variant of Papillary Thyroid Carcinoma: A Paradigm Shift to Reduce Overtreatment of Indolent Tumors. *JAMA Oncol.* 2016;2(8):1023-1029.
4. Rosario PW, Mourão GF. Noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features (NIFTP): a review for clinicians. *Endocrine - Related Cancer.* 2019;26(5):R259-R266.
5. Rosario PW, Penna GC, Calsolari MR. Noninvasive encapsulated follicular variant of papillary thyroid carcinoma: is lobectomy sufficient for tumours ≥ 1 cm? *Clinical Endocrinology.* 2014;81(4):630-632.
6. Ganly I, Wang L, Tuttle RM, et al. Invasion rather than nuclear features correlates with outcome in encapsulated follicular tumors: further evidence for the reclassification of the encapsulated papillary thyroid carcinoma follicular variant. *Human Pathology.* 2015;46(5):657-664.
7. Yamamoto FM, Xavier Junior JCC. Findings other than age that help identify possible cases of non-invasive follicular thyroid neoplasm with nuclear characteristics of the papillary carcinoma type. *Annals of Diagnostic Pathology,* 2022;56, 151863.
8. Brandler TC, Cho M, Wei XJ, et al. Noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features: An interobserver study of key cytomorphological features from a large academic medical center. *Cytopathology.* 2019;30(1):39-45.
9. Yashaswini R, Suresh TN, Sagayaraj A. Cytological evaluation of thyroid lesions by nuclear morphology and nuclear morphometry. *J Cytol.* 2017;34:197-202.
10. Hayashi CY, Jaune DTA, Oliveira CC, et al. Indeterminate thyroid cytology: detecting malignancy using analysis of nuclear images. *Endocr Connect.* 2021;10(7):707-714.
11. Coelho BP, de Oliveira Valentim F, Miot HA, et al. Follicular Lesions with Papillary Nuclear Characteristics: Differences in Chromatin Detected by Computerized Image Analysis. *Arch Endocrinol Metab.* 2021;64(5):630-635.

12. Wang W, Ozolek JA, Rohde GK. Detection and classification of thyroid follicular lesions based on nuclear structure from histopathology images. *Cytometry A*. 2010;77(5):485-494.
13. Chain K, Legesse T, Heath JE, et al. Digital image-assisted quantitative nuclear analysis improves diagnostic accuracy of thyroid fine-needle aspiration cytology. *Cancer Cytopathol*. 2019;127(8):501-513.
14. Ramos HE, Vale J, Lopes S, et al. Nuclear score evaluation in follicular-patterned thyroid lesions using optical and digital environments. *Endocrine*. 2022;77(3):486-492.
15. Hanna MG, Pantanowitz L. Why is digital pathology in cytopathology lagging behind surgical pathology? *Cancer Cytopathol*. 2017;125(7):519-520.
16. Chantziantoniou N, Mukherjee M, Donnelly AD, et al. Digital Applications in Cytopathology: Problems, Rationalizations, and Alternative Approaches. *Acta Cytol*. 2018;62(1):68-76.
17. Valentim FO, Coelho BP, Miot HA, et al. Follicular thyroid lesions: is there a discriminatory potential in the computerized nuclear analysis? *Endocr Connect*. 2018; 7(8):907-913.

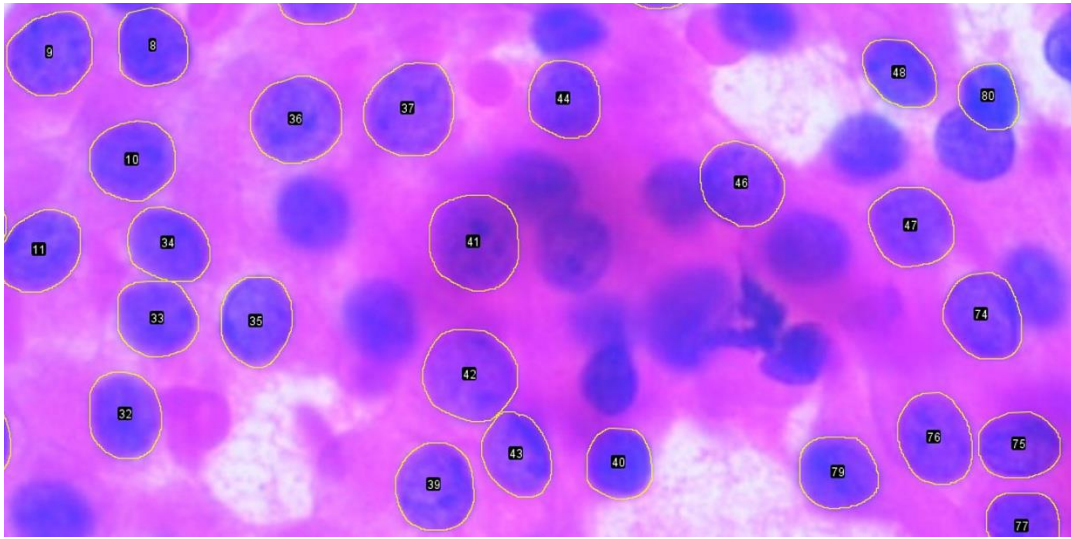


Fig. 1: Image of the cytological material with the nuclei selected using ImageJ. HE: Hematoxylin and eosin.

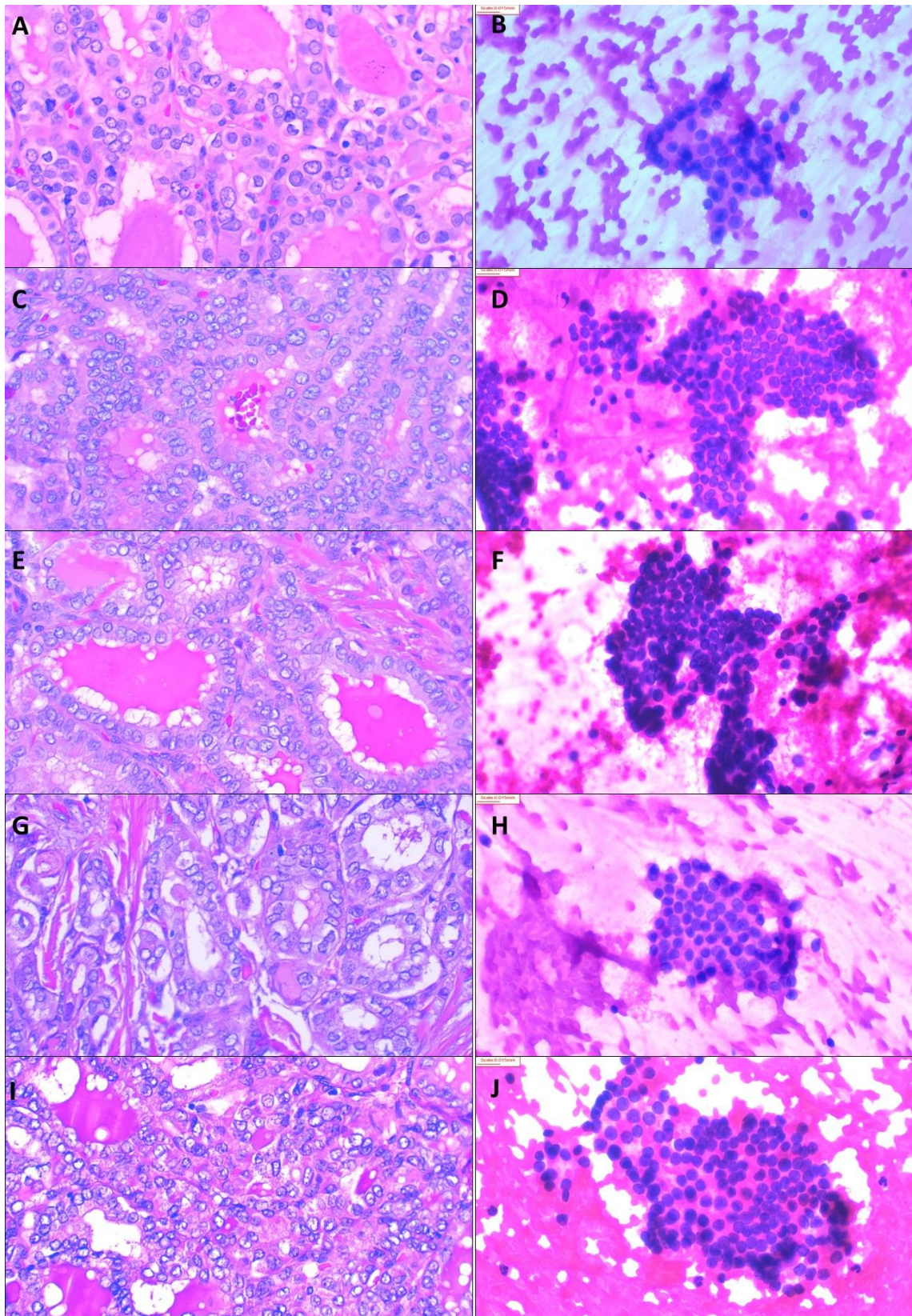


Fig. 2: Cytologic-histologic correlation for papillary thyroid carcinoma follicular subtype cases: Case 1 a) surgical specimen HE 400X b) cytological specimen HE 400X. Case 2 c) surgical specimen HE 400X d) cytological specimen HE 400X. Case 3 e) surgical specimen HE 400X f) cytological specimen HE 400X. Case 4 g) surgical specimen HE 400X h) cytological specimen HE 400X. Case 5 i) surgical specimen HE 400X j) cytological specimen HE 400X.

HE: Hematoxylin and eosin.

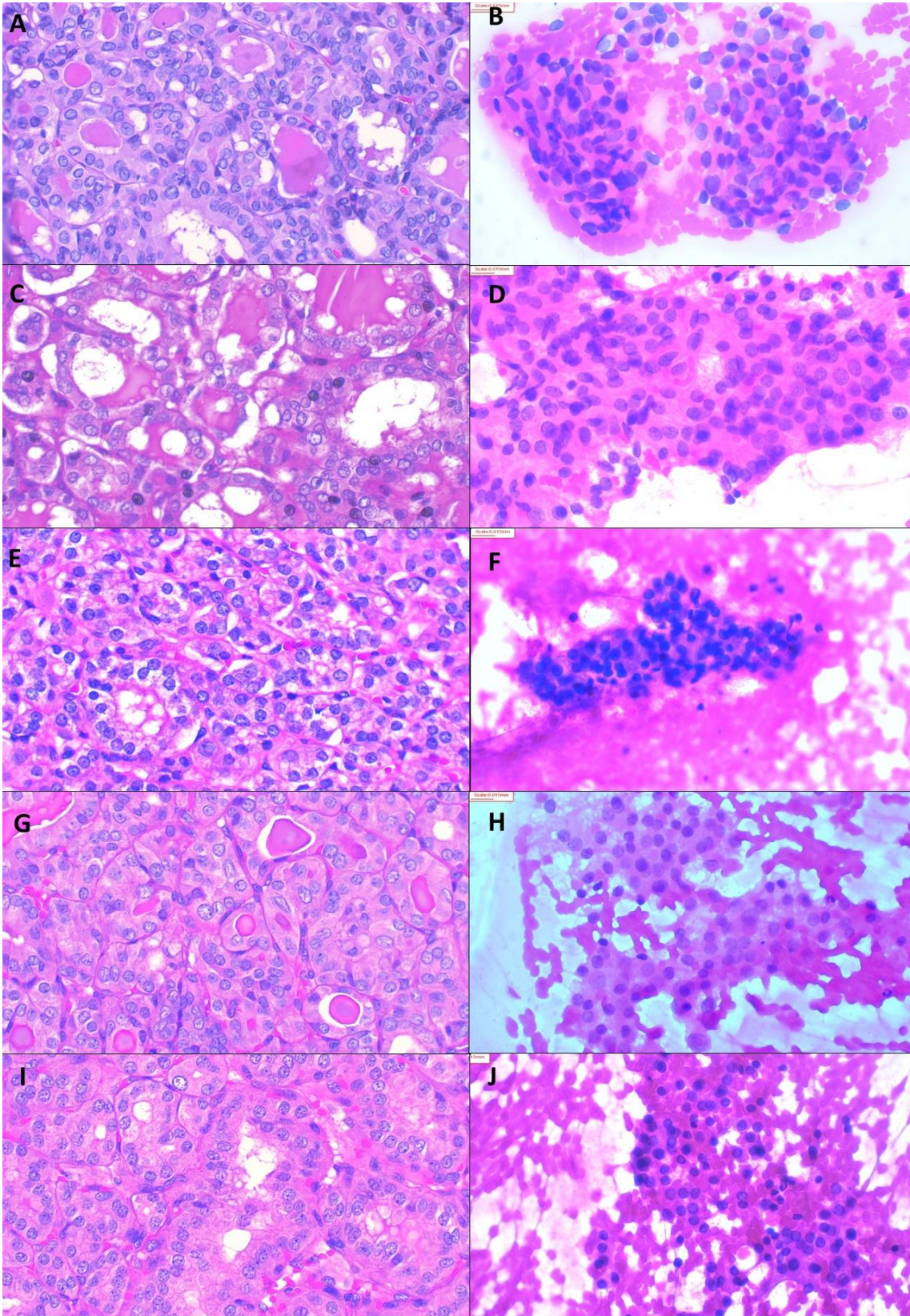


Fig. 3: Cytologic-histologic correlation for non-invasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features cases: Case 1 a) surgical specimen HE 400X b) cytological specimen HE 400X. Case 2 c) surgical specimen HE 400X d) cytological specimen HE 400X. Case 3 e) surgical specimen HE 400X f) cytological specimen HE 400X. Case 4 g) surgical specimen HE 400X h) cytological specimen HE 400X. Case 5 i) surgical specimen HE 400X j) cytological specimen HE 400X.

HE: Hematoxylin and eosin.

Table 1. General data of patients and tumors evaluated

Variable	Tumor diagnoses			p
	PTCFS	NIFTP	FC	
Feminine (n (%))	4 (80)	4 (80)	4 (80)	1.000
Age (years)	48 (42; 58)	40 (32; 67)	45 (33; 77)	0.811
Measure (cm)	1.3 (1.1; 2.0)	1.5 (1.5; 1.7)	6.5 (1.8; 8.0)	0.009
Location				
Isthmus	0	1 (20)	0	0.301
RTL	3 (60)	4 (80)	2 (40)	
LTL	2 (40)	0	3 (60)	

Median (Min; Max). Statistical Tests: Kruskal-Wallis Test, Dunn's Test, and Fisher's Exact Test.

PTCFS, papillary thyroid carcinoma follicular subtype; NIFTP, non-invasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features; FC, follicular carcinoma; RTL, right thyroid lobe; LTL, left thyroid lobe.

Table 2. Distribution of tumors according to the Bethesda Classification

	Bethesda Classification			
	AUS/FLUS	FN/SFN	SM	M
PTCFS (n (%))	0	0	4 (80)	1 (20)
NIFTP (n (%))	0	0	5 (100)	0
FC (n (%))	1 (20)	3 (60)	1 (20)	0

PTCFS, Papillary thyroid carcinoma follicular subtype; NIFTP, non-invasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features; FC, follicular carcinoma; AUS/FLUS, atypia of undetermined significance / follicular neoplasm of undetermined significance; FN/SFN, follicular neoplasm/suspect for follicular neoplasia; SM, suspect for malignancy; M, malignant.

Table 3. Nuclear parameters of the evaluated cytological material

Variable	Cytological material			p	Dunn's Test		
	PTCFS (1)	NIFTP (2)	FC (3)		1x2	1x3	2x3
Area (mm²)	0.042 (0.007; 0.095)	0.046 (0.017; 0.155)	0.041 (0.018; 0.115)	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Perimeter (mm)	0.024 (0.010; 0.036)	0.025 (0.015; 0.047)	0.024 (0.015; 0.039)	< 0.001	< 0.001	0.001	< 0.001
Width (mm)	0.007 (0.003; 0.015)	0.008 (0.004; 0.016)	0.007 (0.005; 0.013)	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Height (mm)	0.007 (0.002; 0.012)	0.008 (0.004; 0.015)	0.007 (0.004; 0.012)	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Circularity	0.919 (0.684; 0.979)	0.948 (0.685; 0.974)	0.947 (0.743; 0.971)	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.152

Median (Min; Max). Statistical Tests: Kruskal-Wallis Test, Dunn's Test, and Fisher's Exact Test.

PTCFS, papillary thyroid carcinoma follicular subtype; NIFTP, non-invasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features; FC, follicular carcinoma.

Table 4. Nuclear parameters of the evaluated cytological material

Variable	Cytological material			p
	PTCFS (1)	NIFTP (2)	FC (3)	
Area (mm²)	0.0399	0.0502	0.0463	< 0.001
Perimeter (mm)	0.0229	0.0256	0.0245	< 0.001
Width (mm)	0.0071	0.0080	0.0077	< 0.001
Height (mm)	0.0068	0.0077	0.0075	< 0.001
Circularity	0.9074	0.9408	0.9410	< 0.001

Mean. Statistical Tests: Kruskal-Wallis Test

PTCFS, papillary thyroid carcinoma follicular subtype; NIFTP, non-invasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features; FC, follicular carcinoma.

Capítulo III – Conclusões

O presente estudo mostrou que todos os parâmetros nucleares avaliados: área, perímetro, largura, altura e circularidade utilizando o software imageJ apresentaram diferença estatística entre os grupos. Quando se comparou, em separado, cada dois grupos entre si, apenas o grupo NIFTP e CF não apresentaram diferença quanto a circularidade ($p = 0,15$), porém todas as outras variáveis apresentaram diferença estatística entre os grupos, quando avaliados dois a dois.

Em relação as variáveis área, perímetro, largura e altura, em todas elas, a média do tamanho no grupo NIFTP foi maior que no grupo CF que por sua vez foi maior que no grupo CPTSF ($p < 0,001$). Essas variáveis são interdependentes e corroboram o mesmo achado, ou seja, o tamanho nuclear no grupo NIFTP > CF > CPTSF.

Dessa forma, a análise computadorizada de imagens nucleares mostra-se como uma ferramenta adicional na distinção entre NIFTP, CPTSF e CF, podendo facilitar e aumentar a acurácia no diagnóstico citológico desses tumores na rotina diagnóstica, ainda no pré-operatório.

Concluindo, NIFTP, CPTSF e CF apresentaram parâmetros nucleares distintos em análise digital de imagens de amostras citológicas, especialmente quanto ao tamanho. Portanto, essa área ainda pouco explorada é de grande potencial para acrescentar informações no diagnóstico da tão desafiadora entidade NIFTP. Nesse sentido, mais estudos são necessários para o desenvolvimento de protocolos com objetivo de estimular a aplicação dos parâmetros morfológicos e morfométricos nucleares, com enfoque na patologia digital, para criação de algoritmos e ferramentas que auxiliem na rotina diagnóstica do citopatologista.

Capítulo IV – Anexos

1. Anais de Congresso

Apresentação na forma de pôster no USCAP (United States and Canadian Academy of Pathology); 11-16 de março de 2023 – New Orleans, Louisiana.

ABSTRACTS

(286-408)

CYTOPATHOLOGY



2023

or IHC were more likely to show HLM, giant cells, reactive pneumocytes, and viral cytopathic changes than patients with negative results. 6 of 9 (67%) of patients with positive PCR alone and 2 of 9 (22%) patients with positive IHC alone experienced severe disease or complications including hospitalization, superimposed pneumonia, pulmonary embolism, and death.

Cytologic Features	SARS-CoV-2 PCR or IHC Positive (%)	SARS-CoV-2 PCR and IHC Negative (%)
	Hemosiderin Laden Macrophages	14/21 (66.7%)
Giant Cells	12/21 (57.1%)	13/41 (31.7%)
Squamous Metaplasia	5/21 (23.8%)	10/41 (24.4%)
Reactive Pneumocytes	9/21 (42.9%)	4/41 (9.8%)
Reactive Bronchial Cells	4/21 (19.0%)	12/41 (29.3%)
Viral Cytopathic Changes	4/21 (19.0%)	4/41 (9.8%)

Conclusions: HLMS, multinucleated giant cells, reactive pneumocytes and viral cytopathic changes were more common in BAL specimens from patients with positive SARS-CoV-2 PCR or IHC than in patients with negative results. Positive SARS-CoV2 IHC did not correlate with increased clinical complications compared to SARS-CoV2 PCR. SARS-CoV-2 spike protein was found to persist within pulmonary macrophages months after infection, identifying pulmonary macrophages as a possible reservoir of COVID infection.

399 Analysis of Nuclear Images as a Valuable Tool to Differentiate NIFTP from Follicular Carcinoma and Follicular Variant of Papillary Thyroid Carcinoma in Cytological Specimens

José Cândido Xavier¹, Leonardo Liano¹, Fabio Yamamoto²

¹Araçatuba, Brazil, ²Botucatu School of Medicine, UNESP, Botucatu, Brazil

Disclosures: José Cândido Xavier: None; Leonardo Liano: None; Fabio Yamamoto: None

Background: Up to now, Non-Invasive Follicular Thyroid Neoplasm with Papillary-Like Nuclear Features (NIFTP) remains as a histological diagnosis. We hypothesized that computerized analysis of nuclear images can differentiate NIFTP from follicular variant of papillary thyroid carcinoma (FVPTC) and follicular carcinoma, helping to choose conservative management (lobectomy vs. total thyroidectomy) in the context of high risk for NIFTP.

Design: We analyzed five cases of each entity (NIFTP, follicular carcinoma and FVPTC). All cases were reviewed by two cytopathologists following The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology (TBSRTC). Clinical information such as sex, age, location (left lobe, right lobe, isthmus) were collected from fine needle aspiration reports. The histological classification was in accordance with the World Health Organization’s Classification of Tumours of Endocrine Organs. Cytological slides were photographed and 1170 cells for each entity were analyzed. The captured images were evaluated using free software (Image J) blindly. Careful manual tracing of the boundaries of each nucleus in the digitized image was performed using drawing tools, followed by data extraction (figure 1). Morphometric evaluation included area, perimeter, width, height, circumference and diameter. Numerical variables were described by means, medians and standard deviation. Kruskal-Wallis and the Mann-Whitney were used with 5% level of significance.

Results: In all categories, there were four were women and one man. Among PTCFV cases, the mean age was 48 y/o. Four cases were classified as suspicious for malignancy and one as malignant according to TBSRTC. All cases were staged as pT1b pN0 with mean nodules’ size of 1.4 cm. Among NIFTP cases, the mean age was 46 y/o. All cases were classified as suspicious for malignancy and the mean nodules size was 1.5 cm. Among follicular carcinoma, the mean age was 48 y/o, three cases were classifies as suspicious for follicular neoplasm, one case as suspicious for malignancy and one case as follicular lesion of undetermined significance. The mean nodules’ size was 8.9 cm. Considering the digital imaging information of the cells nuclei, all three entities were different considering area, perimeter, width, height, circumference and diameter (p< 0.001) (table 1).

Table 1: Descriptive digital imaging information for the three entities analyzed

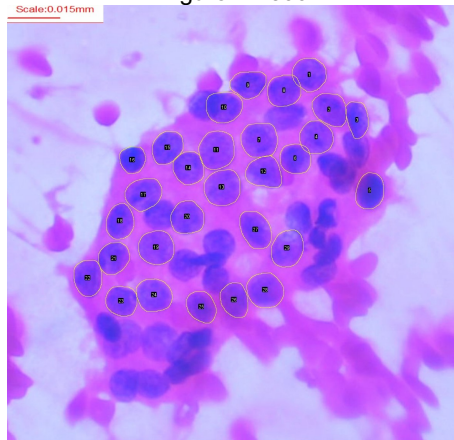
	FVPTC			NIFTP			Follicular Carcinoma		
	Mean	Median	SD	Mean	Median	SD	Mean	Median	SD
Area	,040	,042	,017	,0502	,0461	,0175	,0463	,0414	,0163
Perimeter	,023	,024	,006	,0256	,0250	,0042	,0245	,0240	,0042
Width	,007	,007	,002	,0080	,0080	,0015	,0077	,0070	,0014
Height	,007	,007	,002	,0077	,0080	,0014	,0075	,0070	,0015
Circumference	,907	,919	,042	,9408	,9480	,0266	,9410	,9470	,0228
Diameter	,008	,008	,002	,0089	,0090	,0016	,0085	,0080	,0016

FVPTC: follicular variant of papillary thyroid carcinoma

NIFTP: Non-Invasive Follicular Thyroid Neoplasm with Papillary-Like Nuclear Features

SD: standard deviation

Figure 1 - 399



Conclusions: Imaging data analysis focus on nuclear features can be useful to differentiate PTCFV, NIFTP and follicular carcinoma in cytological specimens.

400 Role of Fine Needle Biopsy Cytology in Adult Renal Tumors: A Five-year Retrospective Study at a Tertiary Medical Center

Hongzhi Xu¹, Ian Taylor-Cho², Xiaoyin “Sara” Jiang³, Wen-Chi Foo²

¹Moffitt Cancer Center, Tampa, FL, ²Duke University Medical Center, Durham, NC, ³Duke University, Durham, NC

Disclosures: Hongzhi Xu: None; Ian Taylor-Cho: None; Xiaoyin “Sara” Jiang: None; Wen-Chi Foo: None

Background: The role of fine needle biopsy in the workup and diagnosis of renal mass lesions remains controversial due to perceptions that this diagnostic modality has low sensitivity and little utility in clinical decision-making for these cases. This study was designed to gain more information on the performance and clinical impact of this procedure in patients with renal masses.

Design: A five-year retrospective study of ultrasound or Computer Tomography (CT)-guided fine needle biopsies of renal masses diagnosed via Cytopathology was conducted at a tertiary medical center. Clinical data including patient sex, age, cytologic diagnosis, subsequent surgical excision, treatment and clinical follow-up were collected. Based on the results of subsequent nephrectomy specimens, the overall diagnostic rate and sensitivity were calculated. Further analysis of diagnostic accuracy at different levels, including accuracy of major diagnostic category and tumor subtyping, were also performed.

Results: A total of 227 cases of fine needle biopsies of renal masses were identified, 76 cases with subsequent nephrectomies. The diagnostic rate and sensitivity were 83.3% and 89.5%, respectively. Diagnostic accuracy was 98.8% at the major categorical level and 94.7% at the tumor subtype level. Significant diagnostic discrepancy was noted in one case: a biopsy deemed negative for malignancy proved to be a chromophobe renal cell carcinoma on resection. In 41 cases patients underwent cryotherapy based on the cytological diagnosis, with 95% of the cases demonstrating stable clinical follow-up at the conclusion of the study.

Conclusions: This study demonstrates that fine needle biopsy of renal masses is a safe and reliable minimal invasive diagnostic tool with excellent accuracy in confirmation of malignancy and subclassification of tumors. The diagnostic information yielded by this procedure may play an important role in guiding a personalized clinical treatment plan.

401 Non-Cell Block Cytology Specimens Provide Reliable DNA/RNA Quality for Comprehensive Next-Generation Sequencing (NGS) Assay for Solid Tumors

Mohamed Yakoub¹, Gina Fanelli¹, Kelsey Dillehay McKillip¹, Paul Lee²

¹University of Cincinnati Medical Center, Cincinnati, OH, ²University of Cincinnati, Cincinnati, OH

Disclosures: Mohamed Yakoub: None; Gina Fanelli: None; Kelsey Dillehay McKillip: None; Paul Lee: None

Background: Next-generation sequencing (NGS) allows for large scale genomic profiling of solid tumors to identify actionable mutations with therapeutic and prognostic implications. Often cytology specimens may be the only tissue available. While cell blocks (CB) may contain adequate cellularity to meet threshold for NGS testing, the diagnostic material may only be found in non-cell block (NCB) cytology specimens. Adequacy of NCB cytology samples has been shown mostly in smaller (≤ 50 genes) DNA-only panels. This study interrogates NCB specimens with a larger panel (500+ genes) with multi-biomarker detection (TMB, MSI,

2. Parecer Consubstanciado do CEP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA EFETIVIDADE DA PUNÇÃO ASPIRATIVA POR AGULHA FINA COMO MÉTODO DIAGNÓSTICO PARA OS CARCINOMAS DE TIREOIDE EM ARAÇATUBA - SP E REGIÃO

Pesquisador: José Cândido Caldeira Xavier Junior

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 91316418.4.0000.5379

Instituição Proponente: Centro Universitário Católico Salesiano Auxilium - UniSALESIANO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.929.631

Apresentação do Projeto:

O Protocolo de Pesquisa intitulado "Avaliação da efetividade da punção aspirativa por agulha fina como método diagnóstico para os carcinomas de tireóide em Araçatuba e Região.

Objetivo da Pesquisa:

3- OBJETIVO GERAL

Estudar o resultado da PAAF de tireoide identificando a categoria de lesão e alguns fatores associados ao resultado alterado, dos procedimentos realizados em Araçatuba, correlacionando com dados da peça cirúrgica, de forma comparativa aos dados nacionais.

3.1- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar frequência de resultado de PAAF alterado estratificado por faixas etárias
- Correlacionar as categorias diagnósticas da PAAF com o resultado da peça cirúrgica
- Correlacionar dados sociodemográficos (idade, sexo, localização) e clínicos (tamanho, tipo de nódulo) e a presença de carcinoma.
- Identificar a frequência de neoplasia tireoidiana não invasiva de padrão folicular exibindo alterações nucleares do tipo carcinoma papilífero (NIFTP)..
- Estudar o valor preditivo positivo de achados morfológicos suspeitos para malignidade (hipercelularidade, variação do tamanho dos núcleos, sobreposição nuclear, hipercromasia nuclear, calcificações, células gigantes multinucleadas, papilas, quantidade de coloide, fendas nucleares,

Endereço: Rodovia Teotônio Vilela 3821

Bairro: Alvorada

CEP: 16.016-500

UF: SP

Município: ARACATUBA

Telefone: (18)3636-5252

Fax: (18)3636-5252

E-mail: claudialopes@salesiano-ata.br

Continuação do Parecer: 2.929.631

inclusões nucleares.)

- Identificar a frequência de microcarcinomas incidentais nas peças cirúrgicas
- Comparar as diferentes formas de realização do esfregaço e a satisfatoriedade da amostra para as lesões císticas
- Comparar os resultados de PAAF alterados da região de Araçatuba com outros dados nacionais e internacionais.
- Construir indicadores de falso-positivo e falso-negativo para os resultados da PAAF.
- Análise computadorizada de fotos de lâminas através de programas gratuitos de imagem (Image J).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Uma vez que o projeto se baseia na análise de banco de dados e revisão de lâminas os riscos são mínimos. Destaca-se, no entanto, o risco de avaria ao material analisado (lâminas do arquivo), que poderá ser minimizado através da manipulação das lâminas dentro dos procedimentos operacionais padrão da instituição participante.

Como benefícios destacam-se a formulação de dados que possam ser utilizados para as políticas de saúde pública de Araçatuba e região, tão bem como a identificação de novos casos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

1. Projeto bem elaborado

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

1. todos os termos de apresentação obrigatória estão presentes no projeto de pesquisa.

Recomendações:

1. Não há recomendações

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

1. projeto bem elaborado não havendo pendências e inadequações

Considerações Finais a critério do CEP:

A lista de pendências encontra-se descrita no Parecer consubstanciado emitido pelo CEP, disponível neste Protocolo de Pesquisa. Para auxiliar na localização do referido Parecer, sugere-se consultar os Manuais da Plataforma Brasil em: 1. Manual do Pesquisador. Versão 3.2 disponível no site da Plataforma Brasil, em sua página inicial pública.

O pesquisador responsável deve sanar as pendências no prazo de 30 dias, a partir da data de

Endereço: Rodovia Teotônio Vilela 3821

Bairro: Alvorada

CEP: 16.016-500

UF: SP

Município: ARACATUBA

Telefone: (18)3636-5252

Fax: (18)3636-5252

E-mail: claudialopes@salesiano-ata.br

**CENTRO UNIVERSITÁRIO
CATÓLICO SALESIANO
AUXILIUM - UNISALESIANO/SP**



Continuação do Parecer: 2.929.631

envio do parecer do CEP, após esse prazo o protocolo será arquivado. Solicita-se ainda que as respostas às pendências sejam enviadas de forma ordenada, conforme os itens de considerações do Parecer, destacando em vermelho a localização das possíveis alterações realizadas em todos os documentos do protocolo, inclusive no TCLE e/ou dispensa, se houver. As respostas devem ser encaminhadas por meio de documento a ser anexado na Plataforma Brasil, com opção de copiar e colar.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1149529.pdf	11/07/2018 06:31:17		Aceito
Outros	declaracao.pdf	11/07/2018 06:30:49	José Cândido Caldeira Xavier Junior	Aceito
Outros	arquivo.pdf	11/07/2018 06:30:12	José Cândido Caldeira Xavier Junior	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	compromisso.pdf	11/07/2018 06:29:56	José Cândido Caldeira Xavier Junior	Aceito
Declaração de Pesquisadores	responsabilidade.pdf	11/07/2018 06:29:41	José Cândido Caldeira Xavier Junior	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	dispensa.pdf	11/07/2018 06:29:15	José Cândido Caldeira Xavier Junior	Aceito
Folha de Rosto	folha.pdf	11/07/2018 06:28:00	José Cândido Caldeira Xavier Junior	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.doc	09/07/2018 17:47:34	José Cândido Caldeira Xavier Junior	Aceito
Cronograma	cronograma.docx	09/07/2018 17:47:24	José Cândido Caldeira Xavier Junior	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto.docx	09/07/2018 17:47:13	José Cândido Caldeira Xavier Junior	Aceito

Endereço: Rodovia Teotônio Vilela 3821

Bairro: Alvorada

CEP: 16.016-500

UF: SP

Município: ARACATUBA

Telefone: (18)3636-5252

Fax: (18)3636-5252

E-mail: claudialopes@salesiano-ata.br

CENTRO UNIVERSITÁRIO
CATÓLICO SALESIANO
AUXILIUM - UNISALESIANO/SP



Continuação do Parecer: 2.929.631

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

ARACATUBA, 01 de Outubro de 2018

Assinado por:
CLAUDIA LOPES FERREIRA
(Coordenador(a))

Endereço: Rodovia Teotônio Vilela 3821

Bairro: Alvorada

CEP: 16.016-500

UF: SP

Município: ARACATUBA

Telefone: (18)3636-5252

Fax: (18)3636-5252

E-mail: claudialopes@salesiano-ata.br