

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 12/04/2024.



**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

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.

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 $\text{NIFTP} > \text{CF} > \text{CPTSF}$.

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.