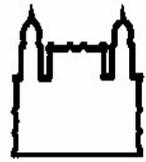




UFBA

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO GONÇALO MONIZ**



FIOCRUZ

Curso de Pós-Graduação em Patologia

TESE DE DOUTORADO

**ESTUDO DE PADRÕES HISTOLÓGICOS E PERFIL IMUNO-
HISTOQUÍMICO EM LINFONODOS MEDIASTINAIS QUE INTERFEREM NA
SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DO EXAME DE PET/CT EM
ESTADIAMENTO DE PACIENTES COM CARCINOMA DE PULMÃO NÃO
PEQUENAS CÉLULAS**

MARBELE GUIMARÃES DE OLIVEIRA

**Salvador – Bahia
2021**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO GONÇALO MONIZ**

Curso de Pós-Graduação em Patologia

**ESTUDO DE PADRÕES HISTOLÓGICOS E PERFIL IMUNO-
HISTOQUÍMICO EM LINFONODOS MEDIASTINAIS QUE INTERFEREM NA
SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DO EXAME DE PET/CT EM
ESTADIAMENTO DE PACIENTES COM CARCINOMA DE PULMÃO NÃO
PEQUENAS CÉLULAS**

MARBELE GUIMARÃES DE OLIVEIRA

Orientador: Daniel Abensur Athanazio

Tese de Doutorado apresentada ao Colegiado do Curso de Pós-Graduação em Patologia Humana, como pré-requisito obrigatório para obtenção do grau de Doutor.

**Salvador - Bahia
2021**

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do
Instituto Gonçalo Moniz / FIOCRUZ - Salvador - Bahia.

O48e Oliveira, Marbele Guimarães de.
Estudo de padrões histológicos e perfil imuno-histoquímico em linfonodos mediastinais que interferem na sensibilidade e especificidade do exame de PET/CT em estadiamento de pacientes com carcinoma de pulmão não pequenas células. / Marbele Guimarães de Oliveira. - 2021.
87. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Abensur Athanazio, Laboratório de Patologia e Biologia Molecular.
Tese (Doutorado em Patologia) – Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, 2021.

1. Linfonodos. 2. Carcinoma pulmonar. 3. PET-CT. I. Título.

CDU 616.24-006.6

**"ESTUDO DE PADRÕES HISTOLÓGICOS E PERFIL IMUNO-HISTOQUÍMICO EM LINFONODOS
MEDIASINAIS QUE INTERFEREM NA SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DO EXAME PET-TC EM
ESTADIAMENTO DE PACIENTES COM CARCINOMA DE PULMÃO DE NÃO PEQUENAS CÉLULAS".**

Marbele Guimarães de Oliveira

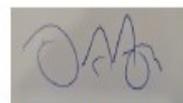
FOLHA DE APROVAÇÃO

Salvador, 13 de janeiro de 2021.

COMISSÃO EXAMINADORA



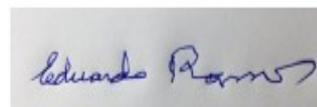
Dra. Iguaracyra Barreto de Oliveira Araújo
Professora
UFBA



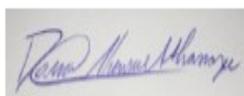
Dr. Dalton Alexandre dos Anjos
Coordenador
Diagnóstico das Américas S/A - DASA



Dr. Raphael Abegão de Camargo
Médico
Hospital São Rafael



Dr. Eduardo Antônio Gonçalves Ramos
Pesquisador
IGM/FIOCRUZ



Dr. Daniel Abensur Athanazio
Professor
UFBA

FONTE DE FINANCIAMENTO

Financiamento público do CNPq mediante o Edital MCTI/CNPq/MS – SCTIE – Decit 15/2013
– Pesquisa Clínica.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) -
Código de Financiamento 001.

AGRADECIMENTOS

Os agradecimentos são múltiplos e sinceros ao longo de uma jornada longa e interestadual.

Agradeço aO Nosso Senhor Jesus Cristo por permitir a execução deste trabalho em meio à mudança de projeto, de instituições de trabalho e estudo, de moradias em três diferentes estados e mesmo com as adversidades, ainda me conceder muitos frutos, como o aprendizado e a interação com diversas pessoas que participaram deste sonho.

Agradeço ao meu orientador, professor Daniel Athanazio, que com maestria me auxiliou com seus elogios e críticas, fazendo com que eu estudasse mais para explicar melhor.

Agradeço ao apoio de mestres e funcionários do Instituto Gonçalo Muniz, FIOCRUZ e UFBA que direta ou indiretamente me apoiaram, como a professora Clarissa Gurgel e funcionárias como Carol e Simone, sempre dizendo para não desistir.

Agradeço aos colegas do Hospital São Lucas e Escola de Medicina da PUCRS, que embarcaram neste projeto e compartilharam dados e experiências para que eu pudesse dar continuidade no estudo com um novo projeto. Comecei tudo de novo, desde aprovação em Comitê de Ética rumo à Qualificação, com a celeridade de várias estâncias para aprovação e execução do mesmo. Considerações especiais aos colegas e professores Bruno Hochhegger e Gustavo Werutsky, extensivos às equipes de cirurgia torácica, oncologia e patologia. Não posso deixar de citar os funcionários da patologia que me ajudaram na busca compromissada de material para análise, como a Liliane e Juliana.

Nesta trajetória, foram muitos dados obtidos que quase fundiram minha cabeça, quando tive o auxílio estatístico de Facundo Zaffaroni e Rafaela Gomes do LACOG e de Luigi Guimarães, que me ajudaram a ver variáveis diversas de forma significativa. E depois de tudo quase pronto, ainda tive assessoria e apoio de Tatiane Carvalho e Ana Maria Fiscina Vaz Sampaio nas correções finais.

Certamente, que tudo isto consumiu horas preciosas da minha família e apresento meus agradecimentos e desculpas finais ao meu esposo Márcio Oliveira e minha mãe Sônia Guimarães, assim como meus irmãos e *in memoriam* meu pai, Ordálvio Guimarães, que sempre me apoiaram na jornada da vida, profissional e pessoal, porque nada se constrói só!

OLIVEIRA, Marbele Guimarães de. Estudo de padrões histológicos e perfil imuno-histoquímico em linfonodos mediastinais que interferem na sensibilidade e especificidade do exame de pet/ct em estadiamento de pacientes com carcinoma de pulmão não pequenas células. 2021. 87 f. Tese (Doutorado em Patologia) – Instituto Gonçalo Moniz. Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2021.

RESUMO

INTRODUÇÃO: O câncer de pulmão é a causa mais comum de mortalidade relacionada ao câncer em todo o mundo, representando 18% de todas as mortes por câncer. As novas estratégias de tratamento tornam necessária uma abordagem multidisciplinar integrada entre patologistas, clínicos, biólogos moleculares, radiologistas e cirurgiões. A investigação através de técnicas de imagem e metabólicas, como PET/CT, na avaliação de metástases para linfonodos mediastinais vem sendo recomendada; contudo, a análise dos resultados é dificultada prioritariamente por resultados falso-positivos. **OBJETIVO:** O presente estudo investigou as alterações histopatológicas neoplásicas e, especialmente, não neoplásicas, assim como a imunexpressão de GLUT1 e Ki67 para avaliação de metabolismo celular e proliferação celular, respectivamente, correlacionando-as aos resultados do exame PET/CT com FDG-¹⁸F numa amostra de pacientes com CPNPC. **MÉTODOS:** Realizado estudo retrospectivo com 54 pacientes com CPNPC provenientes de centro de referência. As lâminas e blocos foram submetidos a exame histológico para avaliação de padrões histológicos neoplásicos e não neoplásico, e posteriormente a exame imunoistoquímico para análise de marcadores de proliferação e metabolismo celular, Ki67 e GLUT1, respectivamente. Análises estatísticas foram realizadas para verificação de associação ou correlação destes dados com informações clínicas e de exame de PET/CT, em especial, medidas de SUV e tamanho dos linfonodos. **RESULTADOS:** Observou-se associação estatisticamente significativa dos padrões histológicos de histiocitose com extensão paracortical com antracose ($p=0,0001$) e de hiperplasia folicular com número de cigarros/dia ($p=0,001$), respectivamente; no entanto, sem associação de padrões histológicos com os valores de captação no PET. A reação granulomatosa como resultado falso-positivo correspondente ocorreu em apenas 1/54 (1,8%) pacientes. Houve correlação estatisticamente significativa entre o índice de proliferação celular (Ki67) e o metabolismo celular (GLUT1); assim como entre o índice de proliferação celular (Ki67) e SUV 1h ($p=0,013$) e SUV 2h ($p=0,020$); no entanto, o mesmo não ocorreu para avaliação de metabolismo celular (GLUT1 - EIR), possivelmente em decorrência de captação de glicose por outro transportador em linfonodos reativos. A associação de técnicas de imagem e metabolismo unindo tomografia computadorizada e PET, aumentam a especificidade do exame de 54% e 57%, respectivamente, para 71%; e, o valor preditivo negativo atinge 71%. **CONCLUSÃO:** Houve correlação estatisticamente significativa entre a positividade de marcadores de proliferação celular (Ki67) e de metabolismo celular (GLUT1) assim como de proliferação celular (Ki67) e SUV; no entanto, não houve associação entre padrão histológico em linfonodos e captação no PET/CT. A reação granulomatosa foi incomum como causa de falso positivo no exame de PET/CT. A associação de técnicas de imagem e metabolismo unindo tomografia computadorizada e PET, aumentaram principalmente a especificidade.

Palavras-chave: Linfonodos mediastinais; Carcinoma pulmonar; PET/CT.

OLIVEIRA, Marbele Guimarães de. Study of histological patterns and immunohistochemical profile in mediastinal lymph nodes that interfere with the sensitivity and specificity of the PET/CT exam in staging patients with non-small cell lung carcinoma. 2021. 87 f. Tese (Doutorado em Patologia) – Instituto Gonçalo Moniz. Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2021.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Lung cancer is the most common cause of cancer-related mortality worldwide, accounting for 18% of all cancer deaths. The new treatment strategies require an integrated multidisciplinary approach between pathologists, clinicians, molecular biologists, radiologists and surgeons. Investigation through imaging and metabolic techniques, such as PET/CT in the evaluation of metastases to mediastinal lymph nodes has been recommended; however, the analysis of the results is hampered primarily by false-positive results. **OBJECTIVE:** The present study investigated neoplastic and, especially, non-neoplastic histopathological changes, as well as the immunoexpression of GLUT1 and Ki67 to assess cell metabolism and cell proliferation, respectively, correlating them to the results of the PET/CT examination with FDG-18F in a sample of patients with NSCLC. **METHODS:** A retrospective study was carried out with 54 patients with NSCLC from a referral center. The slides and blocks were subjected to histological examination to assess neoplastic and non-neoplastic histological patterns, and subsequently to immunohistochemical examination to analyze cell proliferation and metabolism markers, Ki67 and GLUT1, respectively. Statistical analyzes were performed to verify the association or correlation of these data with clinical information and PET / CT examination, in particular, SUV measurements and lymph node size. **RESULTS:** There was a statistically significant association between histological patterns of histiocytosis with paracortical extension with anthracosis ($p = 0.0001$) and follicular hyperplasia with a number of cigarettes/day ($p = 0.001$), respectively; however, however, histological patterns were not associated with PET uptake values. The granulomatous reaction as a corresponding false positive result occurred in only 1/54 (1.8%) patients. There was a statistically significant correlation between the cell proliferation index (Ki67) and cell metabolism (GLUT1); as well as between the cell proliferation index (Ki67) and SUV 1h ($p = 0.013$) and SUV 2h ($p = 0.020$); however, the same did not occur for the evaluation of cellular metabolism (GLUT1 - EIR), possibly due to glucose uptake by another transporter in reactive lymph nodes. The association of imaging and metabolism techniques, combining computed tomography and PET, increases the specificity of the exam from 54% and 57%, respectively, to 71%; and, the negative predictive value reaches 71%. **CONCLUSION:** There was a statistically significant correlation between the positivity of markers of cell proliferation (Ki67) and cell metabolism (GLUT1) as well as cell proliferation (Ki67) and SUV; however, there was no association between histological pattern in lymph nodes and PET/CT uptake. The granulomatous reaction was uncommon as a cause of false positive in the PET/CT examination. The association of imaging and metabolism techniques, combining computed tomography and PET, mainly increased specificity.

Keywords: Mediastinal lymph nodes; Lung carcinoma; PET/CT.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1: Mapa parcial de cadeias de linfonodos mediastinais da Associação Internacional de Estudos em Câncer de Pulmão (IASLC)..... 12
- Figura 2: Esquema mostra exames e procedimentos usados no estadiamento do CPNPC. À medida que a invasividade do procedimento aumenta a acurácia de estadiamento de CPNPC também aumenta. As modalidades são limitadas em capacidade de amostragem de todos os linfonodos das cadeias nodais e, frequentemente, são complementares (Adaptado de Walker, 2012). EBUS - Endobronchial ultrasound/ ultrassom endobrônquico; EUS - Endoscopic ultrasound/ Ecoendoscopia, endossonografia ou ultrassonografia endoscópica; PET - Positron emission tomography/ tomografia por emissão de pósitrons; RNM - Ressonância nuclear magnética; TBNA - Transbronchial needle aspiration/Punção aspirativa transbrônquica por agulha; TC - Tomografia computadorizada; VATS - Vídeo-assisted thoracoscopic surgery/ cirurgia toracoscópica assistida por vídeo. 14
- Figura 3: : O radiotraçador FDG-F18 é um análogo da glicose em que o grupo hidroxila é substituído por um átomo de flúor no carbono de posição 2 da glicose. 18
- Figura 4: : Mecanismo de amplificação do sinal FDG-F18. Como a glicose, o FDG-F18 é captado pelas células por meio do transportador de glicose (GLUT1) e fosforilado pela hexoquinase II (HKII) para formar FDG-6-fosfato; ao contrário da glicose, o metabolismo posterior é interrompido devido à ausência do grupo hidroxila no carbono de posição 2 e, portanto, FDG-F¹⁸ permanece aprisionado dentro da célula. O acúmulo de FDG-6-PO₄ nas células ao longo do tempo, leva à amplificação do sinal e torna este radiotraçador um indicador adequado da atividade de hexoquinase II, bem como da necessidade de glicose pela célula. 19
- Figura 5: Princípio de formação da imagem de PET. 26
- Figura 6: Foto do equipamento PET/CT, InsCer..... 27
- Figura 7: Expressão dos marcadores imuno-histoquímicos para GLUT1, Ki67 e AE1/AE3, com positividade membranar, nuclear e citoplasmática, respectivamente..... 33
- Figura 8: Fluxograma ilustrativo da obtenção de casos/pacientes para estudo, após aplicação dos critérios de exclusão e disponibilidade de material. 36

Figura 9: Fluxograma ilustrativo da obtenção de linfonodos e/ou cadeia linfonodal para avaliação histológica com distribuição dos linfonodos positivos e negativos à histologia. Foram excluídos nove linfonodos de peça cirúrgica de pacientes submetidos à quimioterapia foram considerados na análise. Para análise de SUV máximo, a amostra foi de 184 linfonodos.....37

Figura 10: Correlação das medidas de SUV 1h no PET/CT com (1) linfonodos positivos para metástases, (2) linfonodos negativos de pacientes apenas com linfonodos negativos e (3) linfonodos negativos de pacientes com outros linfonodos positivos com gráfico descritivo das diferenças e teste post hoc (t Tukey).42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classificação TNM de carcinoma de pulmão, da American Joint Committee on Cancer 8ª edição (Rami-Porta, 2017).....	10
Tabela 2: Grupos prognósticos, AJCC 8ª edição.....	11
Tabela 3: Generalidades numa amostra de 54 pacientes com carcinoma de pulmão não pequenas células e distribuição dos pacientes, segundo metástases nodal à avaliação histológica.....	38
Tabela 4: Distribuição de padrões histológicos predominante (HP), padrão histológico secundário (HS), granulomas, percentagem de antracose e percentagem de fibrose em 179 linfonodos mediastinais não neoplásicos.	39
Tabela 5: Correlação entre padrão histológico predominante na avaliação histológica de linfonodos mediastinais não neoplásicos e tipo histológico, tamanho da neoplasia primária, necrose tumoral, percentagem de necrose tumoral, tabagismo, número de cigarros/dia, al, tabagismo, número de cigarros/dia, tempo de tabagismo e percentagem de antracose.	40
Tabela 6: Associação das medidas de SUV no PET/CT com metástase nodal e granulomas (Student's t-test).	42
Tabela 7: Associação das medidas de SUV no PET/CT com padrão histológico predominante e secundário (ANOVA)	43
Tabela 8: Correlação das medidas de SUV no PET/CT com percentagem de neoplasia, tamanho da metástase nodal, tamanho do linfonodo à tomografia computadorizada (TC) e percentagem de antracose (Rô de Spearman).....	43
Tabela 9: Distribuição da expressão de GLUT1 segundo nível de intensidade da coloração (GLUTi), percentagem de células positivas (GLUTp) e escore de imunorreatividade (EIR).	44
Tabela 10; Distribuição da expressão de Ki67, segundo percentagem de células positivas (Ki67p).	45

Tabela 11: Distribuição da expressão de AE1AE3 segundo porcentagem de células positivas (AE1AE3p).	45
Tabela 12: Distribuição da expressão de GLUT1, Ki67 e AE1AE3, segundo topografia (tipo celular) com positividade predominante no linfonodo.	45
Tabela 13: Correlação dos resultados da marcação imuno-histoquímica de metabolismo celular (GLUT1), proliferação celular (Ki67) e de células epiteliais (AE1AE3) em linfonodos mediastinais de 43 pacientes com carcinoma de pulmão não pequenas células com medidas de SUV no PET/CT (Spearman's rho).	46
Tabela 14: Sensibilidade (S), especificidade (E), valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN), acurácia (A), falso-positivos (FP) e falso-negativos (FN) para linfonodos mediastinais com e sem metástases utilizando diferentes parâmetros em 43 pacientes com CPNPC: (1) Impressão médica; (2) Medidas de linfonodos à tomografia computadorizada (TC); (3) Medida de SUV máximo à 1h ao PET; (4) Medida de SUV máximo às 2h ao PET; (5) Medidas de linfonodos à TC associada a captação de SUV de 1h ao PET (PET/CT). As medidas de SUV foram consideradas positivas quando maior ou igual a 2,5.	47
Tabela 15: Sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia do PET/CT usando diferentes pontos de corte do SUV na avaliação de 184 linfonodos mediastinais positivos ou negativos histologicamente em 54 pacientes.	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CPC	Câncer de pequenas células
CPNPC/ NSCLC	Carcinoma de pulmão não pequenas células/ <i>non small cell lung carcinoma</i>
EIR	Escore de imunorreatividade
EBUS	Acrônimo anglo-saxônico de <i>endobronchial ultrasound</i> - ultrassom endobrônquico
EUS	Acrônimo anglo-saxônico de <i>endoscopic ultrasound</i> - Ecoendoscopia, endossonografia ou ultrassonografia endoscópica
GLUT	Acrônimo anglo-saxônico de <i>glucose transporter</i> – (transportador de glicose)
IASLC	Acrônimo anglo-saxônico de <i>International Association for the Study of Lung Cancer</i> - Associação Internacional de Estudos em Câncer de Pulmão
PET	Acrônimo anglo-saxônico de <i>positron emission tomography</i> - tomografia por emissão de pósitrons
RNM	Ressonância nuclear magnética
TBNA	Acrônimo anglo-saxônico de <i>transbronchial needle aspiration</i> - Punção aspirativa transbrônquica por agulha
TC	Tomografia computadorizada
VATS	Acrônimo anglo-saxônico de <i>video-assisted thoracoscopic surgery</i> - cirurgia toracoscópica assistida por vídeo
FDG- ¹⁸ F	Fluorodeoxiglicose marcada com flúor-18, radiofármaco análogo da glicose

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 HIPÓTESE	21
3 OBJETIVOS	22
4 JUSTIFICATIVA	23
5 METODOLOGIA	24
6 ÉTICA	35
7 RESULTADOS	36
8 DISCUSSÃO	50
9 CONCLUSÕES	56
REFERÊNCIAS	57
ANEXO I	64
APÊNDICE A – ROTEIRO PARA AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA	65
APÊNDICE B - LEGENDA DE AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA	66
APÊNDICE C – ROTEIRO PARA AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA	68
APÊNDICE D - LEGENDA DE AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA	69
APÊNDICE E – GENERALIDADES	71
APÊNDICE F - DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA	72

1 INTRODUÇÃO

Generalidades

O câncer de pulmão configura-se entre os principais em incidência no mundo, ocupando a primeira posição entre os homens e terceira posição entre as mulheres (INCA, 2019). É a causa mais comum de mortalidade relacionada ao câncer, representando 18% de todas as mortes por câncer (JEMAL, 2011; BRAY, 2018). Até 85% de todos os casos são classificados como carcinoma de pulmão não pequenas células - CPNPC (ZUGAZAGOITIA, 2014). Apenas 19% de todos os pacientes com câncer de pulmão estão vivos há cinco anos ou mais após o diagnóstico, o que inclui pacientes com CPNPC e câncer de pulmão de células pequenas - CPC (HOWLADER, 2019).

As novas estratégias de tratamento e uma melhor compreensão da biologia do câncer de pulmão levaram a grandes mudanças em comparação com a classificação patológica anterior da Organização Mundial da Saúde - OMS de 2004 (TRAVIS, 2004) e tornou evidente a necessidade de uma abordagem multidisciplinar integrada entre patologistas, clínicos, biólogos moleculares, radiologistas e cirurgiões (ZUGAZAGOITIA, 2014; TRAVIS, 2015).

Estadiamento

As alternativas terapêuticas dependem, em princípio, do estadiamento clínico e patológico da doença, assim como da expressão de alguns biomarcadores. Assim, pacientes com mais acurado estadiamento TNM têm maiores chances de sobrevida e até de cura. O câncer de pulmão é estadiado de acordo com o sistema TNM, que codifica a extensão anatômica da doença e é o indicador prognóstico mais importante até hoje. A classificação não inclui aspectos clínicos, biológicos, moleculares ou genéticos, embora estes possam ser usados em combinação com a classificação TNM para criar subgrupos prognósticos (AMIN, 2017). As definições para TNM e grupos prognósticos para a 8ª edição do sistema TNM, da American Joint Committee on Cancer estão resumidas nas Tabelas 1 e 2.

A progressão natural do tumor primário inclui a disseminação para os linfonodos intrapulmonar, hilar, mediastinal e supraclavicular. Alguns pacientes, no entanto, desenvolvem doença nodal mediastinal sem envolvimento nodal intrapulmonar ou hilar, o que é conhecido como metástases descontínuas ou intermitentes. A Associação Internacional para Estudo do Câncer de Pulmão (*International Association for the Study of Lung Cancer*)

descreve os limites anatômicos das estações nodais e seu agrupamento em zonas nodais (RUSCH, 2009), conforme Figura 1.

Tabela 1: Classificação TNM de carcinoma de pulmão, da American Joint Committee on Cancer 8ª edição (Rami-Porta, 2017).

Definições para T, N, M	
T – Tumor primário	
TX – O tumor primário não pode ser avaliado ou o tumor foi comprovado pela presença de células malignas na expectoração ou lavagens brônquicas, mas não visualizado por imagem ou broncoscopia.	
T0 – Sem evidência de tumor primário.	
Tis – Carcinoma <i>in situ</i> .	
Carcinoma de células escamosas <i>in situ</i> (SCIS)	
Adenocarcinoma <i>in situ</i> (AIS): adenocarcinoma com padrão lepidico puro, ≤ 3 cm na maior dimensão	
T1 – Tumor ≤ 3 cm na maior dimensão, circundado por pulmão ou pleura visceral, sem evidência broncoscópica de invasão mais proximal do que o brônquio lobar (ou seja, não no brônquio principal):	
T1mi - Adenocarcinoma minimamente invasivo: adenocarcinoma (≤ 3 cm na maior dimensão) com um padrão predominantemente lepidico e ≤ 5 mm de invasão na maior dimensão.	
T1a – Tumor ≤ 1 cm na maior dimensão. Tumor superficial e disseminado de qualquer tamanho, cujo componente invasivo é limitado à parede brônquica e pode se estender proximalmente ao brônquio principal também é classificado como T1a, mas esses tumores são incomuns.	
T1b – Tumor > 1 cm, mas ≤ 2 cm na maior dimensão.	
T1c - Tumor > 2 cm, mas ≤ 3 cm na maior dimensão.	
T2 - Tumor > 3 cm, mas ≤ 5 cm ou com qualquer uma das seguintes características: (1) Envolve o brônquio principal, independentemente da distância a carina, mas sem envolvimento da carina; (2) Invade a pleura visceral (PL1 ou PL2); (3) Associado à atelectasia ou pneumonia obstrutiva que se estende até a região hilar, envolvendo parte ou todo o pulmão.	
T2a – Tumor > 3 cm, mas ≤ 4 cm na maior dimensão.	
T2b – Tumor > 4 cm, mas ≤ 5 cm na maior dimensão.	
T3 – Tumor > 5 cm, mas ≤ 7 cm na maior dimensão ou invadindo diretamente qualquer um dos seguintes: pleura parietal (PL3), parede torácica (incluindo tumores do sulco superior), nervo frênico, pericárdio parietal; ou nódulo (s) tumoral separado (s) no mesmo lobo que o primário.	
T4 – Tumor > 7 cm ou tumor de qualquer tamanho invadindo um ou mais dos seguintes: diafragma, mediastino, coração, grandes vasos, traquéia, nervo laríngeo recorrente, esôfago, corpo vertebral, carina; nódulo (s) tumoral (is) separado (s) em um lobo ipsilateral diferente daquele do primário.	
N – Linfonodos Regionais	
NX – Linfonodos regionais não podem ser avaliados.	
N0 – Sem metástase em linfonodo regional.	
N1 – Metástase peribrônquica ipsilateral e/ou linfonodos hilares e linfonodos intrapulmonares ipsilaterais, incluindo envolvimento por extensão direta.	
N2 – Metástase em linfonodo mediastinal ipsilateral e/ou subcarinal.	
N3 – Metástase em linfonodo mediastinal contralateral; hilar contralateral; escalênico ipsilateral ou contralateral; ou supraclavicular.	
M – Metástases à distância	
MX – Metástases à distância não podem ser avaliadas.	
M0 – Sem evidência de metástase à distância.	
M1 – Metástase à distância:	
M1a – Nódulo (s) tumoral separado (s) em um lobo contralateral; tumor com nódulos pleurais ou pericárdicos ou efusões pleurais ou derrame pericárdico malignos.	
M1b – Metástase extratorácica única em um único órgão (incluindo envolvimento de um único linfonodo não regional)	
M1c - Múltiplas metástases extratorácicas em um único órgão ou em múltiplos órgãos.	

Tabela 2: Grupos prognósticos, AJCC 8ª edição.

Estágio	T	N	M
Carcinoma oculto	TX	N0	M0
0	Tis	N0	M0
IA1	T1mi	N0	M0
	T1a	N0	M0
IA2	T1b	N0	M0
IA3	T1c	N0	M0
IB	T2a	N0	M0
IIA	T2b	N0	M0
IIB	T1a, b, c	N1	M0
	T2a, b	N1	M0
	T3	N0	M0
IIIA	T1a, b, c	N2	M0
	T2a, b	N2	M0
	T3	N1	M0
	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
IIIB	T1a, b, c	N3	M0
	T2a, b	N3	M0
	T3	N2	M0
	T4	N2	M0
IIIC	T3	N3	M0
	T4	N3	M0
IVA	Qualquer T	Qualquer N	M1a
	Qualquer T	Qualquer N	M1b
IVB	Qualquer T	Qualquer N	M1c

Abreviaturas: T1mi, adenocarcinoma minimamente invasivo; Tis, tumor *in situ*.
Reimpresso e adaptado de: Goldstraw (2016)

O envolvimento de linfonodos tem implicações prognósticas e terapêuticas, e deve ser determinado da forma mais acurada possível (GEISINGER, 2015). A avaliação da extensão anatômica é realizada usando uma combinação de técnicas de imagem, metabólicas e invasivas (GEISINGER, 2015). Sempre que possível, elas devem ser realizadas sequencialmente e com um grau crescente de invasividade. A presença de metástases linfonodais no mediastino é um dos elementos mais importantes na determinação da estratégia ideal de tratamento em pacientes com carcinoma de pulmão não pequenas células (TERAN, 2014). A doença N2 é muito heterogênea e requer múltiplas modalidades para uma investigação completa.

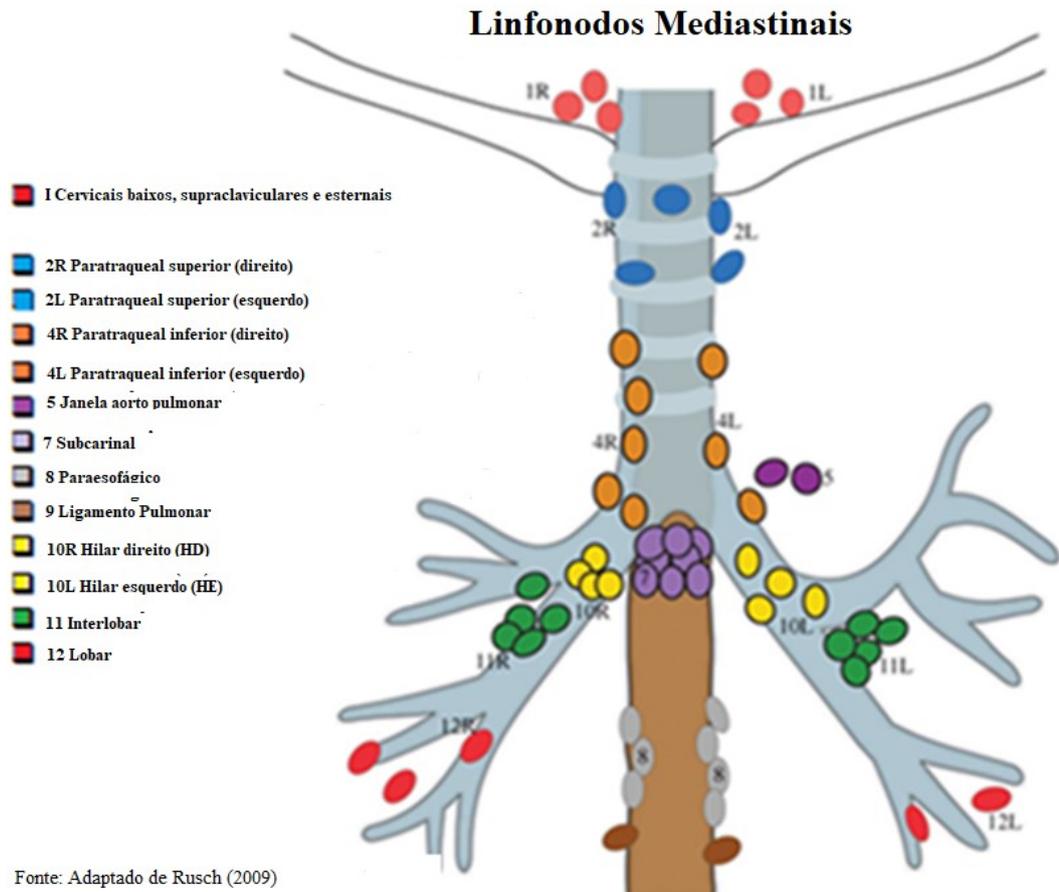


Figura 1: Mapa parcial de cadeias de linfonodos mediastinais da Associação Internacional de Estudos em Câncer de Pulmão (IASLC).

A quantificação da doença nodal tem impacto prognóstico. Na análise de dados recentes, a quantificação foi baseada no número de estações linfonodais envolvidas com piora progressiva da sobrevida (AMIN, 2017). O número de linfonodos envolvidos em topografias de N1 e N2, com presença ou ausência de metástases descontínuas, é o determinante prognóstico mais importante do que a classificação baseada na localização destes (KANDATHIL, 2018).

A doença, em estágio inicial, caracteriza-se por estágios I e II com linfonodos negativos (N0), enquanto a doença, localmente avançada, está nos estágios II e III com linfonodos positivos (N+). A doença avançada ou metastática caracteriza o estágio IV. O estadiamento patológico utiliza informações de estadiamento clínico (que não é invasivo e inclui histórico médico, exame físico e imagem) e outros procedimentos invasivos de estadiamento (por exemplo, toracotomia, exame de linfonodos usando mediastinoscopia) (EDGE, 2010).

A doença N1 é caracterizada por metástase em linfonodos ipsilaterais peribrônquicos e/ou ipsilaterais hilares e intrapulmonares, incluindo envolvimento por extensão direta; a

doença N2 caracteriza-se por metástase nos linfonodos mediastinais e/ou subcarinais ipsilaterais; e a doença N3, por metástase no mediastino contralateral, hilar contralateral, escaleno ipsilateral ou contralateral ou linfonodo(s) supraclavicular (BRIERLEY, 2016).

O estadiamento mediastinal invasivo é recomendado antes da ressecção cirúrgica para a maioria dos pacientes com câncer de pulmão em estágio clínico I ou II. Os pacientes devem, preferencialmente, ser submetidos ao estadiamento mediastinal invasivo (mediastinoscopia) como etapa inicial antes da ressecção planejada (ETTINGER, 2019).

A avaliação para estadiamento clínico completo deve incluir TC do tórax, PET/CT, RM do cérebro e outros procedimentos que possam ser clinicamente justificados, incluindo imagens de RM de outros órgãos, conforme indicado pelos sintomas do paciente, para determinar se o paciente é realmente um candidato para intervenção cirúrgica útil. No câncer de pulmão avançado (estágio III B/IV), a cirurgia é contraindicada porque representa doença incurável; não há estadiamento cirúrgico-patológico porque a cirurgia não é realizada (GINSBERG, 2007).

Nos pacientes operados, o estadiamento clínico pré-operatório está sujeito à alteração pelos achados cirúrgicos e patológicos. Frequentemente, o estadiamento patológico revela neoplasia igual ou mais avançada do que o estadiamento clínico e é mais preciso. Raramente resulta em redução do estágio de uma neoplasia; ocasionalmente, pode diagnosticar doença benigna em uma lesão, anteriormente, considerada maligna (GINSBERG, 2007).

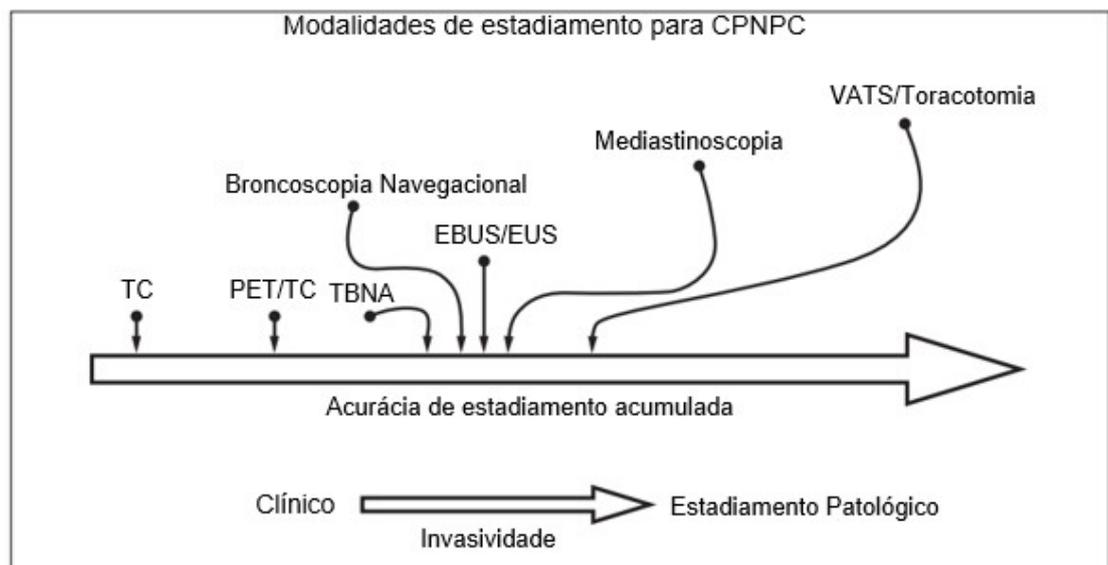
Embora a classificação TNM não explique toda a variabilidade prognóstica encontrada no câncer de pulmão, é a mais forte para prognóstico. A classificação anatômica pode ser determinada por uma variedade de métodos não invasivos e invasivos. Isto é universalmente aplicável em diferentes contextos médicos e constitui a base para o planejamento terapêutico e ensaios clínicos terapêuticos (RAMI-PORTA, 2015).

Métodos diagnósticos

Os fatores a serem considerados na escolha da ferramenta de diagnóstico ideal incluem: (1) sensibilidade; (2) precisão diagnóstica, incluindo especificidade e particularmente a confiabilidade de um estudo diagnóstico negativo (ou seja, verdadeiro negativo); (3) adequada amostra de tecido para diagnóstico; (4) invasividade e risco do procedimento; (5) eficiência da avaliação (acesso e rapidez do procedimento; estadiamento concomitante, sendo preferível biópsia da patologia que conferiria o estágio mais elevado, ou seja, biopsiar uma suspeita de metástase ou linfonodo mediastinal ao invés da lesão

pulmonar); (6) tecnologias e conhecimentos disponíveis; (7) viabilidade do tumor no local proposto para biópsia a partir de imagens obtidas por PET (ETTINGER, 2019).

Os métodos de avaliação incluem mediastinoscopia, mediastinotomia, EBUS (*Endobronchial ultrasound*/ ultrassom endobrônquico), EUS (*Endoscopic ultrasound*/ Ecoendoscopia, endossonografia ou ultrassonografia endoscópica) e biópsia guiada por TC (Figura 2). No resultado negativo para malignidade através de EBUS-TBNA (*Endobronchial ultrasound*/ ultrassom endobrônquico - *Transbronchial needle aspiration*/ Punção aspirativa transbrônquica por agulha) em um mediastino clinicamente positivo no PET e/ou TC, o paciente deve ser submetido à mediastinoscopia subsequente antes da ressecção cirúrgica (ETTINGER, 2019).



Fonte: Adaptado de Walker (2012)

Figura 2: Esquema mostra exames e procedimentos usados no estadiamento do CPNPC. À medida que a invasividade do procedimento aumenta a acurácia de estadiamento de CPNPC também aumenta. As modalidades são limitadas em capacidade de amostragem de todos os linfonodos das cadeias nodais e, frequentemente, são complementares (Adaptado de Walker, 2012). EBUS - *Endobronchial ultrasound*/ ultrassom endobrônquico; EUS - *Endoscopic ultrasound*/ Ecoendoscopia, endossonografia ou ultrassonografia endoscópica; PET - *Positron emission tomography*/ tomografia por emissão de pósitrons; RNM - Ressonância nuclear magnética; TBNA - *Transbronchial needle aspiration*/Punção aspirativa transbrônquica por agulha; TC - Tomografia computadorizada; VATS - *Video-assisted thoracoscopic surgery*/ cirurgia toracoscópica assistida por vídeo.

PET/CT e técnicas, minimamente, invasivas como biópsia endobrônquica e endoscópica guiada por ultrassonografia, são agora os principais métodos de investigação na avaliação do mediastino para presença de metástases (TERAN, 2014), sendo recomendado PET/CT no pré-operatório para a maioria dos pacientes com suspeita de câncer de pulmão.

FDG PET/CT combina dados anatômicos com informações funcionais e metabólicas. O detalhamento anatômico fornecido pela TC, como o tamanho do tumor e agressividade

local, é complementado pelas informações metabólicas do PET (KANDATHIL, 2018). Embora a TC convencional ainda seja amplamente usada para o estadiamento do NSCLC, a avaliação de metástases nodais é limitada com esta modalidade (DILLEMANS, 1994).

Os achados de PET/CT positivos para doença à distância precisam de confirmação patológica ou outra confirmação radiológica; especialmente na investigação de metástases em SNC, em razão da alta taxa de captação de glicose em células normais. A investigação de lesões cerebrais pelo método mostra especificidade limitada com PET/CT. O uso de diferentes traçadores, como 11C-metionina, foi sugerido para compensar essa limitação, embora outros estudos sejam necessários para validar o uso desses traçadores como alternativas à FDG. Por outro lado, estudos de RNM do cérebro já alcançaram maior acurácia do que PET/CT, notavelmente com o desenvolvimento de novas melhorias técnicas, e são, atualmente, a modalidade não invasiva de última geração para a avaliação do SNC (HOCHHEGGER, 2015).

Se o PET/CT é positivo no mediastino, é necessária confirmação histopatológica. O estadiamento mediastinal invasivo pré-operatório pode ser apropriado para uma forte suspeita clínica de doença nodal N2, ou N3, ou quando a citologia intraoperatória ou análise de congelação não estiverem disponíveis. Há baixa probabilidade de linfonodos mediastinais positivos quando esses linfonodos são negativos para TC e PET em tumores pulmonares sólidos <1 cm e tumores puramente não sólidos <3 cm (ETTINGER, 2019).

Em um estudo randomizado multicêntrico envolvendo 188 pacientes com CPNPC, a investigação de estadiamento convencional, em comparação com a investigação convencional mais FDG-PET, foi avaliada e concluiu-se que a cirurgia desnecessária foi evitada em um dos cinco pacientes pela adição de FDG-PET na avaliação convencional. Além disso, 27% dos pacientes foram redefinidos com base nos achados de FDG-PET (VAN TINTEREN, 2002).

Os linfonodos devem ser medidos em seu menor eixo; aqueles maiores que 1,0 cm são considerados anormais e sugerem envolvimento metastático em imagens de TC ou RNM (AMIN, 2017; WALKER, 2012). Os intervalos relatados para a sensibilidade e especificidade da TC para a detecção de nódulos metastáticos são 51%-64% e 74%-86%, respectivamente (WALKER, 2012). Em comparação com a tomografia computadorizada, o PET mostrou ter sensibilidades e especificidades significativamente melhores, 77% e 86%, respectivamente, ao avaliar as metástases mediastinais (TERAN, 2014).

PET/CT pode demonstrar captação de FDG em nódulos doentes medindo menos de 10mm ou podem mostrar resultados falso-negativos em nódulos doentes medindo mais de 10mm (KANDATHIL, 2018).

FDG PET/CT demonstrou ter uma sensibilidade de 58%-94% e uma especificidade de 76-96% para a detecção de metástases em linfonodos mediastinais (SCHIMMER, 2006).

Com sensibilidade e especificidade elevadas em torno de 90%, a FDG-F¹⁸ PET é, atualmente, o método de imagem mais acurado para o estadiamento nodal e extranodal no CPNPC (SOARES, 2010). Apesar de produzir resultados promissores, a PET/CT tem mostrado um valor preditivo positivo (VPP) relativamente baixo (HOCHHEGGER, 2015). Como regra geral, valores de SUV_{máx} $\geq 2,5$ são considerados indicativos de processos malignos, enquanto tumores com SUV_{máx} $< 2,5$ apresentam maior probabilidade de serem benignos. Porém, muitas condições que aumentam a atividade metabólica podem levar a captação aumentada de FDG (fluorodesoxiglucose) na PET/CT, produzindo assim inúmeras situações desafiadoras (HOCHHEGGER, 2015).

O valor de captação padronizado (SUV) ou razão de captação padronizada é usado para fornecer uma medição objetiva da atividade de pósitrons na região de interesse. SUV é calculado como a concentração de atividade máxima detectada na lesão dividida pela atividade injetada e corrigida para o peso corporal.

Um resultado de PET falso-positivo pode ser causado por infecção ou inflamação (GINSBERG, 2007). Em áreas de doença granulomatosa endêmica, como sarcoidose, infecção por HIV e doença fúngica, como a histoplasmose, o PET mostrou aumentar as taxas de falso-positivos, em linfonodos mediastinais, devido ao aumento da atividade metabólica que essas doenças geram em linfonodos N2, assim a confirmação histológica é, frequentemente, necessária para confirmar os achados do PET (TERAN, 2014) através de mediastinoscopia, um procedimento invasivo, que há muito tempo permanece como “padrão-ouro” para avaliação diagnóstica dos linfonodos mediastinais.

Um resultado de PET falso-negativo pode ser causado por lesões que contém poucas células neoplásicas/lesão pequena, baixa densidade celular ou baixa avidéz do tumor para FDG, como ocorre em carcinomas indolentes/bem diferenciados (GINSBERG, 2007), resultando em armadilhas na interpretação da PET/CT (HOCHHEGGER, 2015).

Nódulos pequenos (<7 mm) podem não ser detectados por imagem FDG-PET porque a quantidade de captação de FDG nessas lesões não pode ser determinada de forma confiável e pode estar abaixo do limite de resolução dos *scanners* PET/CT atuais.

FDG PET/CT, atualmente, não é seguro na vigilância e seguimento de rotina de pacientes com CPNPC. No entanto, muitas condições benignas (como atelectasia, consolidação e fibrose por radiação) difíceis de diferenciar de neoplasia em imagens convencionais de TC, são melhor avaliadas nesse contexto por FDG PET/CT. No entanto, se

FDG PET/CT for usado em pacientes após a radioterapia, a confirmação histopatológica da doença recorrente é necessária porque áreas previamente tratadas com radiação podem permanecer ávidas por FDG por até dois anos (ETTINGER, 2019).

Padrões histológicos em linfonodos mediastinais (alterações morfológicas)

Diferentes padrões histológicos podem estar presentes em linfonodos de pacientes com câncer. A histiocitose sinusal (HS) é uma reação comum, inespecífica, caracterizada pela expansão dos seios pelos histiócitos; muitas vezes, é vista nos gânglios linfáticos que drenam uma neoplasia. Seu significado prognóstico (um marcador de resposta imune), neste cenário, tem sido debatido na literatura com alguns estudos sugerindo uma melhor sobrevida quando HS estava presente. O grau de reação histiocitária é variável (HIS, 2017). A hiperplasia paracortical do linfonodo pode representar uma resposta à infecção viral, reação a uma malignidade próxima ou ser parte de um processo autoimune (HIS, 2017).

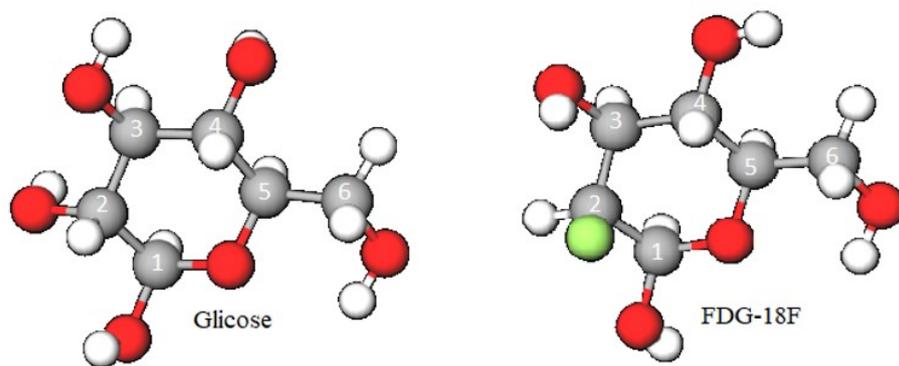
Granulomas epitelióides não necrotizantes são, frequentemente, vistos como reações inespecíficas à malignidade, como linfoma de Hodgkin, linfoma não-Hodgkin ou carcinoma (HIS, 2017). A inflamação granulomatosa pode ser encontrada nos gânglios linfáticos que drenam o tumor primário, com ou sem câncer metastático. Na maioria dos casos, nenhuma causa definida pode ser encontrada e a etiologia permanece obscura. Alguns autores sugerem a possibilidade de reação imunológica mediada por células T aos antígenos solúveis liberados pelo tumor, o que leva a uma resposta granulomatosa, enquanto outros atribuem à persistência de um produto não degradável (KOBAYASHI, 2001). Alguns outros mecanismos, como reação de corpo estranho a material necrótico no tumor ou secundário a procedimentos prévios realizados também foram sugeridos como as prováveis causas (COYNE, 2002).

Uma apuração rigorosa de tais granulomas é necessária para evitar o subdiagnóstico de doença metastática. Entretanto, dificuldades na identificação das células tumorais no linfonodo pode requerer imunomarcção com citoqueratina para reconhecê-las (BHATIA, 2009). Células tumorais isoladas (CTI) ou aglomerados celulares <0,2 mm de maior dimensão em linfonodos detectados por técnicas morfológicas (HE ou imuno-histoquímica) não se qualificam como doença N1, N2, N3 ou M1b, mas são identificadas por pN0 (i+) ou pM0 (i+), respectivamente (GEISINGER, 2015); alguns estudos mostram que podem induzir resposta no linfonodo com alterações reacionais.

Metabolismo e proliferação celular (achados imuno-histoquímicos)

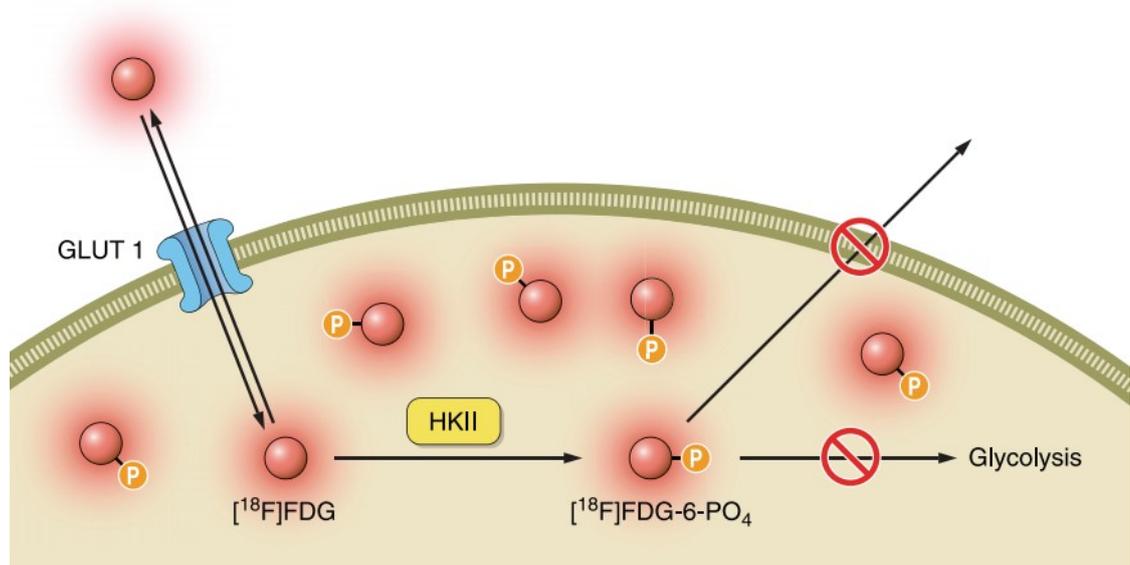
A Tomografia por emissão de pósitrons (PET) baseia-se na premissa de que células neoplásicas crescem rapidamente e, portanto, absorvem mais açúcar radioativo (FDG), cuja radioatividade é visualizada topograficamente melhor quando associada à tomografia computadorizada (ASC, 2018).

A captação de glicose e fluorodeoxiglicose (FDG) pelas células malignas, em sua grande maioria, mostra alto metabolismo glicolítico comparado aos tecidos normais (Figura 3). Esta diferença no consumo de glicose favorece a detecção de doença pela FDG-F¹⁸ PET. Após a administração intravenosa, o FDG é absorvido pelas células de forma semelhante à D-glicose não marcada, que é então convertida em FDG-6-fosfato, após ser fosforilada pela hexoquinase. A FDG-6-fosfato não pode ser posteriormente desfosforilada ou degradada pela via glicolítica (Figura 4). O FDG é, finalmente, filtrado pelos rins e reabsorvido por transportadores de glicose (LANGER, 1993).



Fonte: Disponível em <https://molview.org/>. Acesso em 01 de novembro de 2018

Figura 3: O radiotraçador FDG-F¹⁸ é um análogo da glicose em que o grupo hidroxila é substituído por um átomo de flúor no carbono de posição 2 da glicose.



Fonte: Langer, 1993

Figura 4: Mecanismo de amplificação do sinal FDG-F18. Como a glicose, o FDG-F18 é captado pelas células por meio do transportador de glicose (GLUT1) e fosforilado pela hexoquinase II (HKII) para formar FDG-6-fosfato; ao contrário da glicose, o metabolismo posterior é interrompido devido à ausência do grupo hidroxila no carbono de posição 2 e, portanto, FDG-F¹⁸ permanece aprisionado dentro da célula. O acúmulo de FDG-6-PO₄ nas células ao longo do tempo, leva à amplificação do sinal e torna este radiotraçador um indicador adequado da atividade de hexoquinase II, bem como da necessidade de glicose pela célula.

Assim, notou-se uma mudança no paradigma de avaliação dos tumores, historicamente avaliados através dos métodos de imagem morfológicos, como a tomografia computadorizada (TC), para uma análise associada baseada no metabolismo (SOARES, 2010). Uma vez que os processos metabólicos e bioquímicos precedem as alterações morfoestruturais, é promissor verificar as condições, tanto no diagnóstico quanto no acompanhamento de pacientes oncológicos através do PET.

É descrita a correlação entre índice de proliferação celular (Ki67) e o consumo de glicose. A avaliação da expressão da proteína Ki-67 em células avalia a proliferação celular. A proteína está presente na fase S e nas fases G2 e M do ciclo celular, bem como na fase G1 associada à proliferação, mas não na G0. A expressão da proteína Ki-67 é estritamente correlacionada com proliferação e com as fases ativas do ciclo celular. Dependente da fase do ciclo de proliferação celular, o nível da proteína Ki-67 varia; no entanto, a detecção por um anticorpo para o Ki-67 é possível durante toda a vida da proteína (VESSELLE, 2002).

Contudo, o consumo aumentado de glicose também ocorre dissociado de proliferação celular em alterações reacionais com alto metabolismo celular. Os transportadores de glicose - GLUT são os principais transportadores de glicose e são amplamente distribuídos em vários tecidos e células humanas.

O transportador de glicose-1 (GLUT1) apresenta alta afinidade à glicose e está intimamente relacionado com o metabolismo da glicose. A positividade de GLUT1 em células malignas revelada por imuno-histoquímica indica aumento da atividade proliferativa, necessidade de energia e comportamento agressivo (CARVALHO, 2011). De forma a conturbar a avaliação de metástases, células inflamatórias com alto metabolismo, como linfócitos, granulócitos e macrófagos, apresentam alta captação de FDG-F¹⁸, resultando em imagens falso-positivas em FDG PET/CT e com redução da eficácia de PET/CT para diagnóstico diferencial entre lesões benignas e malignas.

Sabe-se que o transportador de glicose (GLUT) é o principal transportador que intervém na captação de glicose pela célula. A expressão de GLUT1 e GLUT3 tem estreita relação com a captação de 18 Fluoro-2-desoxiglicose (FDG-F¹⁸). Segundo Wu (2008), a expressão de GLUT1 foi positivamente correlacionada com SUV ($r = 0,78$; $P < 0,01$) em pacientes com CPNPC. A expressão de GLUT3 foi, positivamente, correlacionada com SUV máx ($r = 0,45$; $P = 0,03$) em pacientes com lesão pulmonar benigna. O GLUT1 e o GLUT3 são expressos não apenas no CPNPC, mas também em lesão pulmonar benigna. GLUT1 desempenha um papel predominante na captação de FDG no NSCLC; enquanto o GLUT3 desempenha um papel predominante na captação de FDG na lesão pulmonar benigna.

Outras referências também demonstram que a captação de FDG no CPNPC primário não tratado está relacionada à expressão do GLUT1 (BROWN, 1999). Há correlação entre o grau de diferenciação do adenocarcinoma pulmonar e a expressão de GLUT1 e captação de FDG (HIGASHI, 2000).

O objetivo deste estudo foi investigar a relação entre as alterações patológicas que dificultam a avaliação de resultados do exame de PET/CT em linfonodos mediastinais neoplásicos e não neoplásicos de pacientes com carcinoma de pulmão não pequenas células, a fim de que se possa aprimorar a utilização e entendimento deste método de alta tecnologia diagnóstica não invasivo. O estadiamento apropriado por imagem pode ter um impacto significativo no tratamento adequado e nas opções cirúrgicas.

2 HIPÓTESE

Histiocitose sinusal com expansão paracortical ou ocupação de toda amostra nodal associada a aumento de metabolismo da glicose é o principal fundamento de falso-positivos em linfonodos mediastinais de pacientes com carcinoma de pulmão não pequenas células na avaliação por meio de PET/CT com FDG-F¹⁸.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Identificar padrões histológicos e expressão de marcadores de metabolismo celular e proliferação celular em linfonodos mediastinais de pacientes com carcinoma de pulmão não pequenas células, numa população do Sistema Único de Saúde proveniente dos serviços de oncologia, cirurgia torácica ou pneumologia do Hospital São Lucas da PUCRS submetida a PET/CT com FDG-F¹⁸.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever padrões histológicos não neoplásicos em linfonodos mediastinais de pacientes com carcinoma de pulmão não pequenas células;
- Correlacionar padrões histológicos não neoplásicos em linfonodos mediastinais com tipo histológico da neoplasia primária e necrose tumoral;
- Correlacionar padrões histológicos não neoplásicos e neoplásicos em linfonodos mediastinais de pacientes com carcinoma de pulmão não pequenas células com medidas de SUV no PET/CT;
- Avaliar metabolismo celular e proliferação celular em linfonodos mediastinais de pacientes com carcinoma de pulmão não pequenas células através de estudo imuno-histoquímico (GLUT1 e Ki67), respectivamente;
- Correlacionar os resultados da marcação imuno-histoquímica de metabolismo celular e proliferação celular em linfonodos mediastinais de pacientes com carcinoma de pulmão não pequenas células com medidas de SUV no PET/CT.

4 JUSTIFICATIVA

A avaliação dos linfonodos mediastinais em pacientes com câncer de pulmão é requisito para determinar o estadiamento, definir a conduta terapêutica e o prognóstico do paciente. A avaliação de metástases linfonodais por método de imagem não invasivo, como por meio de exames de PET/CT, é bastante atraente. No entanto, há taxa não negligenciável de falso-positivo em decorrência de alterações reacionais nestes linfonodos, muitas vezes relacionadas a características populacionais ou regionais, em especial, devido a doenças inflamatórias endêmicas segundo a literatura médica vigente.

O objetivo geral do projeto original foi validar o uso do radiofármaco FDG-F¹⁸ em exames de PET/CT para diagnóstico de gânglios metastáticos no mediastino em pacientes do SUS com carcinoma de pulmão não pequenas células, considerando: sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia; cujo padrão-ouro de diagnóstico é o estudo histológico, o qual determina de maneira inequívoca a presença ou ausência de metástases. Entretanto, a análise dos resultados em exames de PET/CT mostrou falso-positivos com valor preditivo positivo (VPP) de 54% (IC95% 40% –67%) quando um SUV máx > 5 foi utilizado como ponto de corte, possivelmente, em decorrência de alterações reacionais.

O presente estudo propõe analisar as condições histopatológicas, assim como de metabolismo e proliferação celular que interferem na avaliação do PET/CT nesta amostra de pacientes, avaliando os possíveis fatores que interferem na sensibilidade e especificidade do exame, para que este método não invasivo possa ser utilizado e interpretado de forma criteriosa para diagnóstico, estadiamento, conduta terapêutica, avaliação de resposta terapêutica e de prognóstico em pacientes oncológicos.

5 METODOLOGIA

Delineamento

O presente estudo visa avaliar padrões histológicos, assim como a expressão de marcadores de metabolismo celular e proliferação celular em linfonodos mediastinais de pacientes com carcinoma de pulmão não pequenas células numa população do Sistema Único de Saúde submetida a PET/CT com FDG-F¹⁸ atendidos no Hospital São Lucas (HSL) da PUCRS. Trata-se de estudo retrospectivo onde os dados dos pacientes estudados foram obtidos a partir de banco de dados de projeto antecessor de título Emprego do FDG-F¹⁸ em PET/CT no Sistema Único de Saúde como alternativa de método não invasivo para diagnóstico e estadiamento do câncer de pulmão, coordenado pelo pesquisador Carlos Cezar Fritscher, CAAE 30315114.5.0000.5336, aprovado pelo CEP da PUCRS, Parecer 641.287 em 07/05/2014 e patrocinado pelo Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (ANEXO I). O projeto foi realizado no Hospital São Lucas em conjunto com as seguintes instituições: Instituto do Cérebro do Rio Grande do Sul – InsCer, Latin American Cooperative Oncology Group – LACOG e Faculdade de Medicina da Pontifícia Católica do Rio Grande do Sul – PUCRS.

População alvo

Oitenta e cinco pacientes com carcinoma de pulmão não pequenas células de uma população do Sistema Único de Saúde provenientes dos serviços de oncologia, cirurgia torácica ou pneumologia do Hospital São Lucas da PUCRS, submetidos a PET/CT com FDG-F¹⁸, participantes do projeto intitulado Emprego do FDG-F¹⁸ em PET/CT no Sistema Único de Saúde como alternativa de método não-invasivo para diagnóstico e estadiamento do câncer de pulmão. Estes pacientes foram incluídos no estudo durante um período de recrutamento de, aproximadamente, 20 meses com início em 2014 e finalização em 2016. Os pacientes atendidos no HSL eram provenientes de cidades do estado do Rio Grande do Sul.

Critérios de inclusão

1. Pacientes com diagnóstico histopatológico de carcinoma de pulmão não pequenas células;
2. Pacientes que realizaram previamente estadiamento da doença com tomografia computadorizada (tórax e abdome);

3. Pacientes com indicação de mediastinoscopia e biópsia linfonodal para complementar o estadiamento inicial;
4. Pacientes entraram no estudo antes de iniciarem tratamento definitivo para o câncer de pulmão (ex. cirurgia, quimioterapia e radioterapia ou quimioterapia isolada);
5. Pacientes com exames de hematologia e bioquímica;
6. Mulheres em idade fértil estavam em uso de métodos contraceptivos ou com teste de gravidez negativo;
7. Todos os pacientes eram maiores de 18 anos;
8. Ambos os gêneros.

Crítérios de exclusão

1. Mulheres grávidas;
2. Pacientes com tumor primário de outra localização que não o de pulmão;
3. Pacientes sem confirmação histopatológica de carcinoma de pulmão não pequenas células;
4. Pacientes com diagnóstico de carcinoma de pulmão de pequenas células.

Procedimento para avaliação de Imagem

O PET é um equipamento que utiliza radiofármacos produzidos a partir de radioisótopos emissores de pósitrons. Uma vez no corpo do indivíduo, geralmente administrado via intravenosa, o isótopo emite um pósitron (β^+) e um neutrino (ν), conforme a Figura 5. Os neutrinos praticamente não interagem com a matéria e, portanto, não são detectados pelo PET. Por outro lado, o pósitron emitido interage com um elétron, sua antimatéria. Esse fenômeno resulta em um evento de aniquilação, que produz dois fótons de 511 keV de energia, emitidos em direções opostas (180°) (MILLER, 2008).

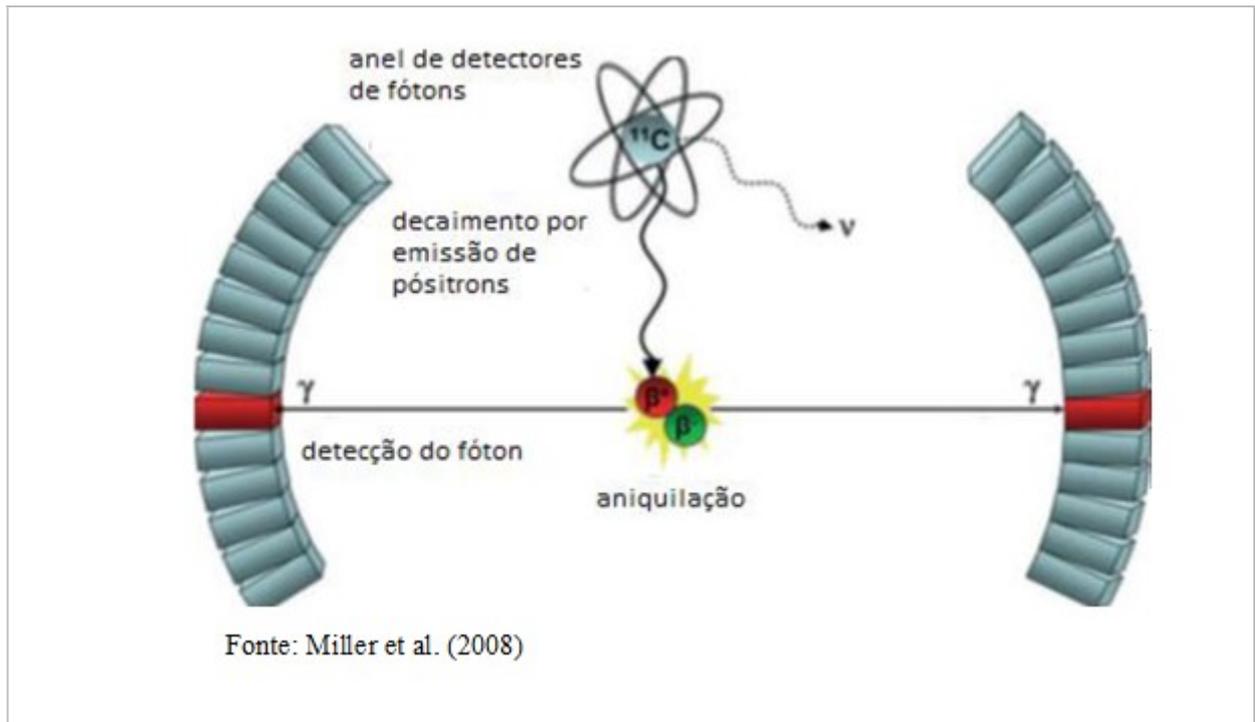


Figura 5: Princípio de formação da imagem de PET.

A imagem no PET é obtida através de uma série de detectores de cintilação, distribuídos em volta do local onde é posicionado o indivíduo, em forma de anel. O equipamento utiliza o método de detecção por aniquilação coincidente, para obter a projeção das imagens da distribuição do radiofármaco, ou radiotraçador. Para que se possa obter uma imagem quantitativa da captação e localização do radiotraçador em vários órgãos e/ou tecidos, várias correções são necessárias, como por exemplo, atenuação e normalização. Posteriormente, as imagens são processadas mediante fórmulas matemáticas, para se obter imagens de cortes transversais em um determinado campo de visão. Um importante avanço na tecnologia desses equipamentos foi a integração do PET com a TC em um único equipamento. A combinação dessas duas técnicas de imagem permite correlacionar as informações funcionais fornecidas pelo PET, com as informações anatômicas do TC. O uso de FDG-F¹⁸ PET em oncologia é baseado nas taxas diferenciais de metabolismo de glicose nos tecidos benignos e malignos. A Figura 6 apresenta um sistema PET/CT.



Figura 6: Foto do equipamento PET/CT, InsCer.

Procedimento para a realização do PET/CT

O protocolo para aquisição de estudos oncológicos de FDG-F¹⁸ ocorreu conforme abaixo.

I. Antes da chegada do paciente no Centro de Imagem do InsCer:

- O paciente estava em jejum de no mínimo 6 horas, de modo a garantir baixos níveis séricos de glicose e insulina. Foi recomendado que o paciente bebesse, aproximadamente, 1 litro de água, 2 horas antes da injeção do radiofármaco e o mesmo não poderia ter realizado exercício nas 24 horas que antecederem ao exame.

II. Ao chegar no Centro de Imagem do InsCer:

- Na chegada do paciente, sua massa (peso) foi aferida e a glicemia foi medida, imediatamente, antes da realização da injeção com expectativa de um nível entre 4 e 7 mmol/L (72 e 126 mg/dL) e não superior a 10 mmol/l (180 mg/dL). O paciente foi acomodado na sala de injeção/espera e a cânula foi inserida em ambiente com temperatura agradável e de baixa luminosidade. Após a punção, aguardou-se 5 minutos para a administração do FDG-F¹⁸ com uma atividade entre 10mCi e 15 mCi, conforme o peso do paciente, o qual foi submetido ao estudo de PET/CT em, aproximadamente, 60 minutos.

Para uma adequada estimativa do *Standardized Uptake Value* (SUV) obteve-se:

- Medida da atividade da seringa contendo o FDG-F¹⁸ antes da injeção, bem como o horário da realização dessa medição;
- Medida da atividade do radiofármaco contido na seringa e no equipo depois da injeção, bem como o horário dessa medição;
- Sincronização de todos os relógios do InsCer, inclusive do equipamento de PET/CT e do curiômetro (medidor de atividade).

III. Após o tempo de captação do radiofármaco no organismo do paciente:

- O paciente foi orientado a urinar antes de ser submetido ao exame de imagem no equipamento de PET/CT.

IV. Aquisição das imagens:

- As imagens foram adquiridas em dois tempos (1 e 2 horas após o exame);
- A extensão anatômica do exame foi de 100 cm, indo da base do crânio até, aproximadamente, a região superior das coxas, implicando em, aproximadamente, 6 posições de mesa;
- O tempo recomendado para cada posição de mesa foi de, aproximadamente, 2,5 minutos, dependendo dos níveis de contagens registrados pelo equipamento, com uma duração de no máximo 20 minutos;
- Previamente, ao início da aquisição do PET, um estudo de CT foi realizado. Esse estudo foi feito com baixa intensidade de radiação (baixo valor de mAs) e alta energia (valor de kVp situado entre 120 e 140 kV), com o propósito de localização anatômica e correção de atenuação.

Valores de SUV (*standardized uptake value*)

As imagens de PET/CT foram avaliadas visualmente (análise qualitativa) e através do valor de SUV (*standardized uptake value*), que representam uma avaliação semiquantitativa. O SUV pode representar a captação máxima ou média do radiofármaco pelo tumor. O SUV é calculado dividindo-se a atividade média dentro de uma região de interesse (em mCi/mL) pela dose injetada (em mCi/kg). Entretanto, o SUV máximo mostrou sofrer menor variabilidade interobservador e proporciona uma excelente representação do metabolismo da glicose no tumor.

O cálculo do SUV máximo é realizado, automaticamente, pelo *software* de visualização das imagens após a simples definição da região de interesse (ROI) por parte do interpretador. A análise visual é baseada na seguinte premissa: a captação anormal nos linfonodos mediastinais ou hilares é, normalmente, definida como atividade mais elevada do que nos tecidos adjacentes. Dados extraídos do projeto original de título Emprego do FDG-F¹⁸ em PET/CT no Sistema Único de Saúde como alternativa de método não-invasivo para diagnóstico e estadiamento do câncer de pulmão.

No entanto, a captação de FDG por tecidos não neoplásicos, como no caso de alterações reacionais pode levar a um diagnóstico falso-positivo. Este é um problema no nosso meio. Portanto, uma avaliação da captação da imagem do PET-CT, em dois tempos, poderia ajudar a distinguir os linfonodos metastáticos daqueles não metastáticos. O racional seria que os linfonodos que captassem inicialmente o radiofármaco e que tivessem origem benigna, tenderiam a apresentar clareamento da atividade com o passar do tempo, ou, pelo menos, a não apresentar acúmulo progressivo. No caso de linfonodos com doença neoplásica associada, estes tenderiam a manter ou acumular progressivamente o radiotraçador em questão. A performance diagnóstica do FDG em exames de PET/CT foi realizada em dois tempos (leitura na hora 1 e 2 pós exame, referidos como SUV1h e SUV2h, respectivamente).

Adicionalmente, foram notificados o tamanho dos linfonodos obtidos das imagens no exame de PET/CT considerando o maior eixo e o menor eixo assim como a impressão diagnóstica quanto à linfonodomegalia mediastinal mencionada na conclusão diagnóstica conforme a seguir: (1) Doença nodal em atividade; (2) Doença nodal sem atividade; e, (3) Comentário ou laudo indisponível.

Avaliação das imagens obtidas mediante PET/CT

As imagens foram avaliadas separadamente por dois médicos, com treinamento em medicina nuclear e radiologia. Em casos de discordância entre os diagnósticos, um terceiro especialista foi consultado.

Procedimentos durante a mediastinoscopia / cirurgia

Foi utilizado procedimento padrão para mediastinoscopia, com avaliação pré-operatória e preparo inicial com anestesia local e intubação endotraqueal seguida de anestesia geral e realização de pequena incisão imediatamente abaixo do pescoço ou acima do esterno. O mediastinoscópio foi introduzido através da incisão e foram examinados e biopsiados linfonodos de aspecto suspeito por exame de imagem ou da visualização durante o

procedimento ou diâmetro igual ou superior a 10 mm. O paciente foi acompanhado durante o processo de recuperação pós-operatória.

Padrão ouro

O padrão ouro do estudo foi a confirmação histológica de câncer no exame anátomo-patológico dos linfonodos mediastinais. A doença metastática linfonodal foi examinada em lâmina histológica corada com hematoxilina eosina. Cada lâmina foi avaliada separadamente por dois patologistas treinados e, no caso de discordância no resultado do exame, um terceiro patologista foi consultado para definir o diagnóstico. Casos em que persistiram indefinição diagnóstica foram confirmados através de exame imuno-histoquímico. Estes procedimentos foram realizados no projeto antecessor e revisados pela médica patologista pesquisadora.

Procedimentos para avaliação histológica

No projeto atual, foram separadas todas as lâminas e todos os blocos de parafina referentes aos linfonodos mediastinais e neoplasia primária do pulmão arquivados no Serviço de Patologia do Hospital São Lucas da PUCRS dos 85 pacientes selecionados no projeto antecessor. Todos os linfonodos mediastinais foram examinados novamente pela médica patologista pesquisadora, e classificados, primeiramente, em neoplásicos e não neoplásicos, sendo assim separados em dois grupos.

Os linfonodos neoplásicos foram submetidos à (1) avaliação da percentagem de ocupação do linfonodo ou fragmento de linfonodo por neoplasia (%); e (2) medida do tamanho da neoplasia no maior eixo (em milímetros). Os linfonodos não neoplásicos e, quando possível, adicionalmente os neoplásicos, foram avaliados quanto ao padrão histológico predominante e secundário: (1) hiperplasia folicular; (2) hiperplasia paracortical; (3) histiocitose sinusal; (4) histiocitose sinusal com extensão paracortical; (5) histiocitose sinusal com ocupação de toda amostra nodal; e (6) linfonodo normal. Outros achados morfológicos foram avaliados como antracose (percentagem de área com pigmento no linfonodo), fibrose (percentagem de área acometida) e presença/ausência de granulomas.

O tipo histológico da neoplasia primária foi determinado previamente no projeto original, onde o carcinoma de pulmão não pequenas células foi classificado (OMS, 2014), em adenocarcinoma, carcinoma epidermóide e outros. Foram avaliados, adicionalmente, o tamanho da neoplasia e a presença de necrose com quantificação em percentagem (%) da área acometida na amostragem feita da neoplasia primária por biópsia ou peça cirúrgica.

Informações clínicas

Dados clínicos como idade (em anos), sexo (masculino/feminino), *status* quanto ao tabagismo (fumante, ex-fumante, nunca fumante), número de cigarros/dia e tempo de tabagismo (em anos) foram adicionados e avaliados. No projeto antecessor, também foram obtidos do prontuário informações de exame físico (altura e peso), hematologia, bioquímica, teste de gravidez e resultados da tomografia tórax e pulmão.

Avaliação dos padrões histológicos em linfonodos

Os padrões histológicos foram avaliados conforme descrição a seguir:

- (0) não avaliável: linfonodo totalmente ocupado por neoplasia;
- (1) hiperplasia folicular: definida como um aumento no número e, geralmente, no tamanho e na forma dos folículos linfóides secundários;
- (2) hiperplasia paracortical ou expansão da região paracortical (zona T) do linfonodo: caracterizada por uma população mista de linfócitos pequenos, número variável de imunoblastos, vascularização proeminente (vênulas endoteliais altas) e células dendríticas interdigitantes;
- (3) histiocitose sinusal: evidenciada por seios dilatados e preenchidos por grandes células de citoplasma eosinofílico e núcleos vesiculares, dispostas de forma compacta e cordonal;
- (4) histiocitose com extensão paracortical: determinada por histiocitose estendendo-se além dos seios e que ocupa a zona paracortical por histiócitos;
- (5) histiocitose com ocupação de toda amostra nodal: descrita quando os histiócitos ocupam toda a superfície da amostra linfonodal com desaparecimento das zonas cortical e paracortical;
- (6) linfonodo normal: quando presente uma proporcionalidade entre as zonas cortical, paracortical e cordões medulares, assim como dos seios subcapsulares e medulares.

Seleção de amostras para estudo imuno-histoquímico

Todas as amostras referentes à neoplasia primária no pulmão e às cadeias linfonodais disponíveis (linfonodos 2R, linfonodos 2L, linfonodos 4R, linfonodos 4L, linfonodos 7, linfonodos hilares direito, hilares esquerdo e de janela aorto-pulmonar, dentre outras, quando presentes) foram analisadas morfológicamente e foram selecionados os seguintes blocos de linfonodos por paciente: (1) um linfonodo com metástase nodal, se presente; (2) um linfonodo sem metástase nodal, se presente, além de positividade no exame de PET/CT com SUV máx

$\geq 2,5$; e, (3) linfonodo sem metástase nodal, se presente, além de negatividade no exame de PET/CT com SUV Máx $< 2,5$.

Técnica imuno-histoquímica

As expressões de GLUT1, Ki67 e AE1/AE3 foram avaliadas utilizando anticorpo policlonal de coelho anti-humano GLUT1, anticorpo monoclonal de camundongo anti-humano Ki67 (Clone MIB-1), e anticorpo monoclonal de camundongo anti-humano citoqueratina (Clone AE1/AE3), respectivamente. As lâminas de parafina foram desparafinizadas e colocadas numa solução pré-aquecida a 95° C de *Envision Target Retrieval Solution High*, pH 9.0, durante 20-30 minutos, seguidas de resfriamento até 20° e, posteriormente, acondicionadas no DAKO *Autostainer Link48*. As lâminas foram incubadas com os respectivos anticorpos durante 30 minutos. A detecção foi realizada utilizando um sistema altamente sensível da DAKO, ADVANCE. Foi utilizado o cromógeno DAB+ da DAKO. Todas as lâminas foram contrastadas com hematoxilina e cobertas com lamínulas para exame microscópico. As condições do anticorpo foram validadas usando: (1) placenta normal para GLUT1; (2) amígdala normal, para Ki-67; e, (3) intestino normal, para AE1/AE3.

Avaliação da expressão dos marcadores imuno-histoquímicos

A positividade e quantificação da expressão de GLUT1, Ki67 e AE1/AE3 foi realizada nas áreas com neoplasia; e, na ausência de neoplasia, foi realizada considerando o tipo celular predominante positivo e a percentagem de positividade na área total não neoplásica de linfonodos; portanto, foi realizada uma média por estimativa. O tipo celular foi extratificado em: (0) nenhuma marcação positiva; (1) células neoplásicas; (2) células não neoplásicas - linfócitos foliculares; (3) células não neoplásicas - linfócitos extrafoliculares; (4) células não neoplásicas – histiócitos; e, (5) células não neoplásicas – outras.

A expressão de GLUT1 foi considerada positiva em casos de coloração circunferencial da membrana (Figura 5). Coloração escassa citoplasmática e coloração em áreas de lesão térmica do tecido não foram consideradas positivas. A positividade obtida foi registrada topograficamente, descrevendo-se o tipo celular (neoplásico e/ou não neoplásico) com predomínio da expressão do marcador. A intensidade e a percentagem foram avaliadas estimando células positivas distribuídas na área total da neoplasia de amostras neoplásicas e na área total de tecido linfoide de amostras não neoplásicas.

A intensidade de expressão de GLUT1 foi avaliada através de um escore de imunorreatividade (EIR) obtido do nível de intensidade da coloração (0 pontos, sem

coloração; 1 ponto, coloração fraca; 2 pontos, coloração forte) multiplicado pela porcentagem de células positivas (0%, 0 pontos; <10%, 1 ponto; 11–50%, 2 pontos; 51–80%, 3 pontos; >80%, 4 pontos) e pontuados na seguinte escala: negativo (0 pontos), fraco (1– 2 pontos), moderada (3 a 4 pontos) e forte (6 a 8 pontos) (REIS, 2011).

A expressão de Ki67 foi considerada positiva em casos de coloração nuclear (Figura 5). A positividade foi avaliada topograficamente através do registro do tipo celular (neoplásico e/ou não neoplásico) com predomínio da expressão do marcador. O índice de proliferação celular Ki-67 foi determinado pela estimativa de porcentagem de núcleos positivos distribuídos na área total da neoplasia de amostras neoplásicas e na área total de tecido linfóide de amostras não neoplásicas. Áreas mostrando lesão térmica ou mecânica foram excluídas da análise.

A expressão de AE1/AE3 foi considerada positiva em casos de coloração citoplasmática (Figura 7). A positividade foi registrada topograficamente com descrição do tipo celular (neoplásico e/ou não neoplásico) com predomínio da expressão do marcador. A porcentagem foi avaliada estimando células positivas distribuídas na área total da neoplasia de amostras neoplásicas e na área total de tecido linfóide de amostras não neoplásicas.

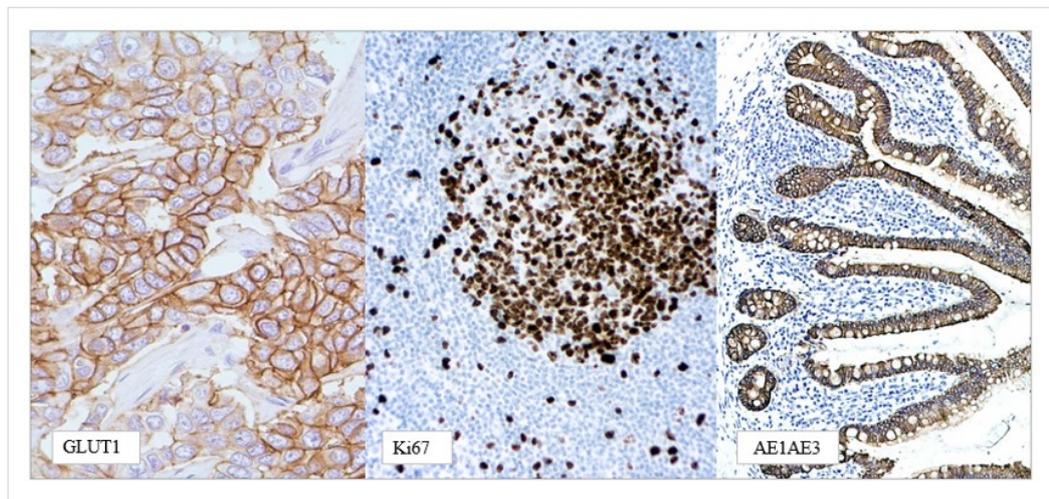


Figura 7: Expressão dos marcadores imuno-histoquímicos para GLUT1, Ki67 e AE1/AE3, com positividade membranar, nuclear e citoplasmática, respectivamente.

Foram utilizados roteiros e legendas para avaliação imuno-histoquímica, conforme APÊNDICE C e D). Outras variáveis estão descritas no APÊNDICE E.

Verificação de dados em prontuário

Os dados sobre evolução dos pacientes foram obtidos através de pesquisa em prontuários para as informações de (1) paciente sem evidência de recidiva; (2) paciente com recidiva/progressão, registrando-se descrição da topografia e do tempo (em meses) após o diagnóstico; e, (3) óbito, com notificação da data/tempo (em meses) após o diagnóstico, e se a causa do óbito relacionava-se à neoplasia de pulmão.

Considerações estatísticas

Os resultados obtidos foram compilados em um banco de dados organizado em planilhas do programa operacional *Microsoft Excel*, no qual as variáveis de estudo foram categorizadas para fins comparativos e descritivos. Variáveis categóricas foram descritas por meio de frequências absolutas e relativas, e comparadas utilizando o teste qui-quadrado de Pearson (e resíduos ajustados, quando necessário), utilizando o teste exato de Fisher (quando adequado). Variáveis quantitativas foram descritas através de média, mediana, mínimo e máximo; comparadas utilizando a análise da variância (ANOVA) com Tukey como *post hoc* e Teste do T de *Student*; e, correlacionadas utilizando r de Pearson e o ρ de Spearman, (variáveis não paramétricas). Os testes estatísticos foram especialmente aplicados a fim de se observar se há associação/correlação entre os diferentes padrões histológicos e expressão imuno-histoquímica de marcadores de metabolismo e proliferação celular com diferentes valores máximos de SUV captado na primeira e segunda hora durante o exame de PET/CT. Todas as análises foram realizadas utilizando o SAS *statistical software* (version 9.4; SAS Institute, Inc. Cary, NC) e o JASP 0.13.1.0.

6. ÉTICA

O protocolo de pesquisa deste trabalho foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisas (CEP) com Seres Humanos da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS) com aprovação, CAAE 00672818.2.0000.5336, Parecer 2.978.239 em 24/10/2018.

7 RESULTADOS

RESULTADOS DESCRITIVOS

Generalidades

De uma amostra de 85 pacientes, submetidos aos critérios de inclusão/exclusão, resultou um total de 54 pacientes. Para primeira etapa de avaliação histológica e clínica, foram excluídos 31 pacientes devido à: (1) Ausência de lâminas histológicas para análise morfológica no arquivo (11 pacientes); (2) Ausência de descrição macroscópica com legenda para adequada identificação das lâminas histológicas/topografia nodal para análise morfológica no arquivo (02 pacientes); (3) Diagnóstico prévio ou atual de neoplasia em sítio extrapulmonar (08 pacientes); (4) Ausência de confirmação histológica de neoplasia pulmonar nas amostras por biópsia incisional e/ou excisional (06 pacientes); (5) Ausência de amostras histológicas de linfonodos mediastinais nas amostras por biópsia incisional e excisional (02 pacientes); (6) Diagnóstico de carcinoma de pequenas células de pulmão (02 pacientes). Para segunda etapa de avaliação imuno-histoquímica foram excluídos mais 11 pacientes por blocos indisponíveis no arquivo para realização dos marcadores imuno-histoquímicos, resultando numa amostra de 43 pacientes (Figura 8).

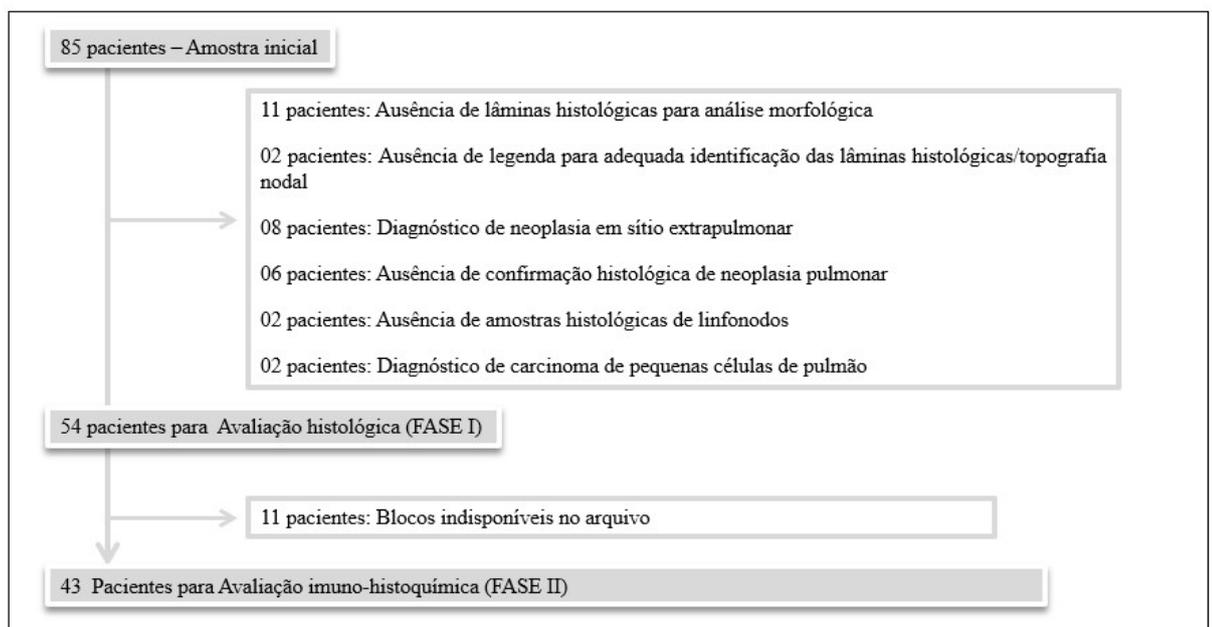


Figura 8: Fluxograma ilustrativo da obtenção de casos/pacientes para estudo, após aplicação dos critérios de exclusão e disponibilidade de material.

Cinquenta e quatro pacientes tiveram suas amostras submetidas à avaliação histológica (FASE I) para todos os linfonodos ressecados cirurgicamente durante o procedimento de

mediastinoscopia e/ou de cirurgia de ressecção e avaliação através do PET/CT, sistematicamente, para os linfonodos mediastinais 2R, 2L, 4R, 4L, 7, HD, HE e da janela aorto pulmonar, dentre outros eventualmente citados, que resultou numa amostra de 224 linfonodos/cadeia de linfonodos (Figura 9).

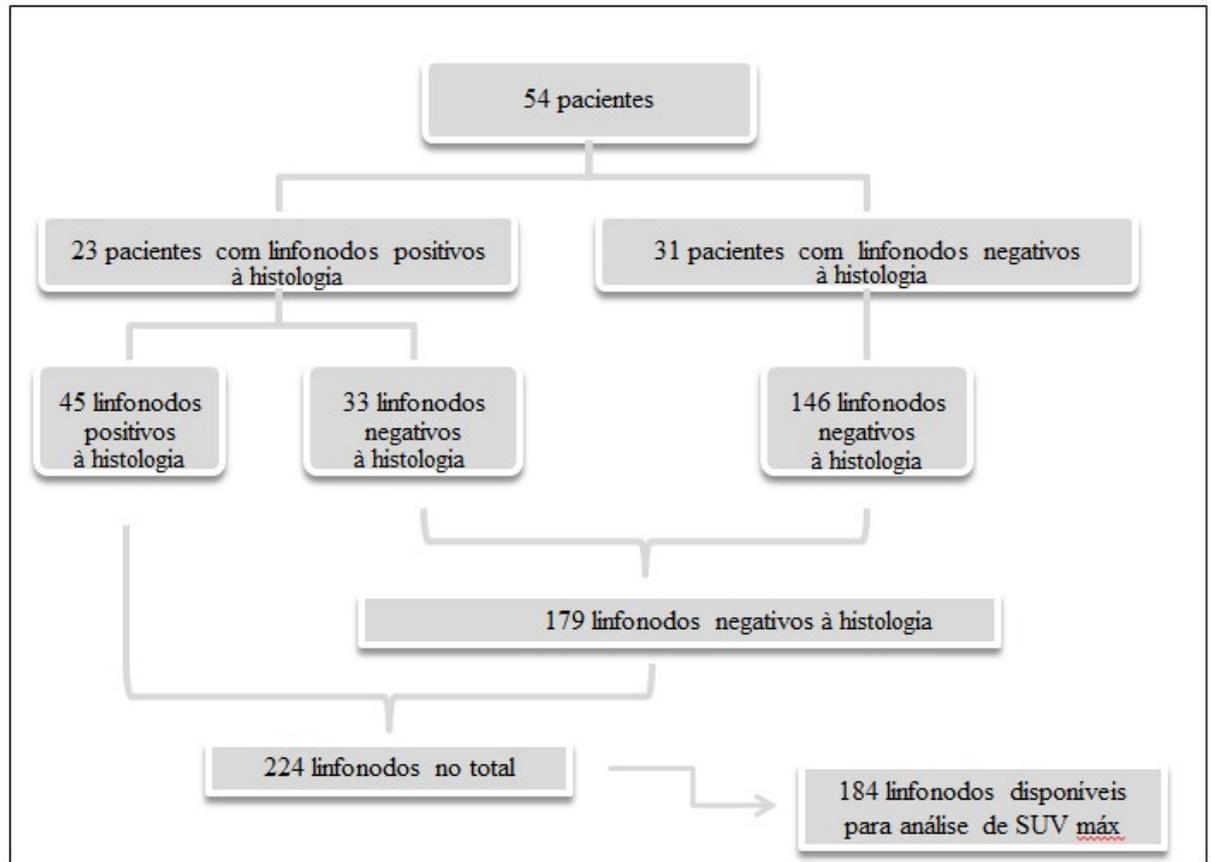


Figura 9: Fluxograma ilustrativo da obtenção de linfonodos e/ou cadeia linfonodal para avaliação histológica com distribuição dos linfonodos positivos e negativos à histologia. Foram excluídos nove linfonodos de peça cirúrgica de pacientes submetidos à quimioterapia foram considerados na análise. Para análise de SUV máximo, a amostra foi de 184 linfonodos.

A idade dos 54 pacientes variou de 46 a 80 anos com mediana de 64,5 anos. Quanto ao gênero, foram 30 homens (56%) e 24 mulheres (44%) (Tabela 3). A média de idade para homens e mulheres foi de 64 e 65 anos, respectivamente.

Quanto ao tabagismo, vinte e seis pacientes eram fumantes (48%), vinte e seis pacientes ex-fumantes (48%) e dois nunca fumaram (4%). Destes, todos os pacientes do sexo masculino eram fumantes (53%) ou ex-fumantes (47%), e as pacientes do sexo feminino estavam distribuídas em 42% fumantes, 50% ex-fumantes e 8% que nunca fumaram (Tabela 3).

Dos 52 pacientes fumantes e ex-fumantes, o número de cigarros por dia variou de 2 a 60 cigarros/dia, com média de 22 cigarros/dia. Quando distribuídos quanto ao gênero, foi obtida a média de 21 e 25 cigarros/dia para homens e mulheres, respectivamente (Tabela 3).

O tempo de tabagismo variou de 13 a 65 anos, com média de 42 anos. Quando distribuídos quanto ao gênero, a média de tempo de tabagismo foi de 44 anos e 39 anos para homens e mulheres, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3: Generalidades numa amostra de 54 pacientes com carcinoma de pulmão não pequenas células e distribuição dos pacientes, segundo metástases nodal à avaliação histológica.

Características	N (%) ou média (mín- máx) (n = 54)	Pacientes com linfonodos positivos histologicamente	Pacientes com linfonodos negativos histologicamente
Idade (anos)	64,5 (46-80)	63 (46-78)	65 (48-80)
Gênero			
Masculino	30 (56%)	13 (43%)	17 (57%)
Feminino	24 (44%)	10 (42%)	14 (58%)
Tabagismo			
Fumante	26 (48%)	9 (35%)	17 (65%)
Ex-fumante	26 (48%)	13 (50%)	13 (50%)
Nunca fumou	2 (4%)	1(50%)	1(50%)
Exposição ao fumo (cigarros/dia)	22 (2-60)	18 (0-60)	25(0-60)
Tempo de tabagismo (ano)	42 (13-65)	36 (0-60)	43(0-65)

Quanto ao tipo histológico dos 54 pacientes, trinta e quatro apresentaram adenocarcinoma (63%), dezoito (33%) carcinoma epidermóide e dois (4%) restantes tiveram diagnóstico de carcinoma neuroendócrino de grandes células e carcinoma adenóide cístico.

Dos trinta pacientes do sexo masculino, dezenove apresentaram diagnóstico de adenocarcinoma (63,3%), dez de carcinoma epidermóide (33,3%) e um de carcinoma adenoide cístico (3,3%). Das vinte e quatro pacientes do sexo feminino, quinze apresentaram diagnóstico de adenocarcinoma (63%), oito de carcinoma epidermóide (33%) e uma de carcinoma neuroendócrino de grandes células (4%).

Padrões histológicos não neoplásicos em 179 linfonodos mediastinais de 54 pacientes com carcinoma de pulmão não pequenas células.

Foram obtidos 179 linfonodos não neoplásicos que apresentaram como padrão histológico predominante histiocitose com extensão paracortical. Na avaliação histológica destes linfonodos, observou-se a presença de granulomas em apenas cinco linfonodos/cadeia

de linfonodos analisados em três pacientes. Outros achados morfológicos avaliados foram antracose e fibrose, conforme Tabela 4.

Tabela 4: Distribuição de padrões histológicos predominante (HP), padrão histológico secundário (HS), granulomas, percentagem de antracose e percentagem de fibrose em 179 linfonodos mediastinais não neoplásicos.

Achado histológico	Total (179)
Padrão Histológico Predominante (HP)	
Hiperplasia folicular	28 (15.6)
Hiperplasia paracortical	3 (1.7)
Histiocitose sinusal	45 (25.1)
Histiocitose com extensão paracortical	101 (56.4)
Histiocitose com ocupação de toda amostra nodal	2 (1.1)
Linfonodo normal	0
Padrão Histológico Secundário (HS)	
Hiperplasia folicular	36 (20.1)
Hiperplasia paracortical	12 (6.7)
Histiocitose sinusal	62 (34.6)
Histiocitose com extensão paracortical	69 (38.5)
Histiocitose com ocupação de toda amostra nodal	0
Linfonodo normal	0
Granulomas	
Sim	5 (2.8)
Não	174 (97.2)
% Antracose	
0% - 20%	111 (62.0)
21% - 40%	47 (26.3)
41% - 60%	15 (8.4)
61% - 80%	6 (3.4)
81% - 100%	0
% Fibrose	
0% - 20%	172 (96.1)
21% - 40%	7 (3.9)
41% - 60%	0
61% - 80%	0
81% - 100%	0

RESULTADOS ANALÍTICOS

Correlação de padrões histológicos não neoplásicos em 179 linfonodos mediastinais com tipo histológico da neoplasia primária, necrose tumoral, percentagem de necrose tumoral e dados clínicos

Para os testes de correlação foram analisados dados provenientes de 179 linfonodos/cadeia de linfonodos não neoplásicos e para cada teste de correlação, a amostra (n) variou. Na avaliação do padrão histológico, não foram considerados os padrões histológicos primários de hiperplasia paracortical, histiocitose com ocupação de toda amostra nodal, linfonodo normal e linfonodos/cadeia de linfonodos ocupados totalmente por neoplasia na análise estatística dos testes de correlação. Para as demais variáveis, não foram considerados tipo histológico designado como outros; e, pacientes não fumantes.

O padrão histológico predominante foi submetido a testes de correlação com as variáveis: tipo histológico, tamanho da neoplasia primária, necrose tumoral, percentagem de necrose tumoral, tabagismo, número de cigarros/dia, tempo de tabagismo e percentagem de antracose (Tabela 5).

Tabela 5: Correlação entre padrão histológico predominante na avaliação histológica de linfonodos mediastinais não neoplásicos e tipo histológico, tamanho da neoplasia primária, necrose tumoral, percentagem de necrose tumoral, tabagismo, número de cigarros/dia, al, tabagismo, número de cigarros/dia, tempo de tabagismo e percentagem de antracose.

	Hiperplasia folicular	Histiocitose sinusal	Histiocitose com extensão paracortical	p-valor
Tipo histológico				0.3672
Adenocarcinoma	12 (52.2)	30 (69.8)	61 (62.9)	
Carcinoma epidermóide	11 (47.8)	13 (30.2)	36 (37.1)	
Tamanho da neoplasia- Mean (Range)	4.9 (1.6 - 7.8)	4.5 (1.6 - 13.2)	4.7 (2 - 9.8)	0.5068
Necrose				0.8101
Sim	20 (80.0)	22 (73.3)	58 (78.4)	
Não	5 (20.0)	8 (26.7)	16 (21.6)	
% Necrose - Mean (Range)	19% (0 - 60%)	13% (0 - 60%)	13.2% (0 - 60%)	0.2596
Tabagismo				0.4993
Fumante	17 (60.7)	20 (46.5)	51 (53.1)	
Ex-fumante	11 (39.3)	23 (53.5)	45 (46.9)	
Número de cigarros/dia - Mean (Range)	31.0 (2 - 60)	23.9 (0 - 60)	18.7 (0 - 40)	0.0094
Tempo tabagismo - Mean (Range)	44.3 (30 - 60)	39.3 (0 - 65)	43.1 (0 - 65)	0.1347
% Antracose - Mean (Range)	16.3% (5% - 40%)	15.4% (0 - 50%)	30.1% (5% - 80%)	<0.0001

O número de cigarros/dia apresentou associação estatisticamente significativa com padrão histológico predominante. Ao comparar a diferença em média do número de cigarros/dia (entre os grupos Hiperplasia folicular, Histiocitose sinusal e Histiocitose com extensão paracortical), a análise de variância indicou que há uma diferença estatisticamente significativa entre as médias do número de cigarros/dia em pelo menos dois grupos ($p=0,0094$). Ao comparar as médias através do teste *post hoc*, observou-se que essa diferença de médias estatisticamente significativas ocorre entre os grupos Hiperplasia folicular e Histiocitose com extensão paracortical ($p\text{-valor} = 0,001$), com associação entre número de cigarros/dia e hiperplasia folicular.

Observou-se associação estatisticamente significante entre a percentagem de antracose e o padrão histológico predominante. Ao comparar a diferença em média da porcentagem de antracose (entre os grupos Hiperplasia folicular, Histiocitose sinusal e Histiocitose com extensão paracortical), a análise de variância indicou que há uma diferença estatisticamente significativa entre as médias de pelo menos dois grupos ($p<0,0001$). Ao comparar as médias através do teste *post hoc*, observou-se que essa diferença de médias estatisticamente significativas ocorreu entre os grupos: (1) Hiperplasia folicular e Histiocitose com extensão paracortical ($p\text{-valor} = 0,001$); e (2) Hiperplasia sinusal e Histiocitose com extensão paracortical ($p\text{-valor} = 0,001$), com associação entre antracose e hiperplasia sinusal com extensão paracortical.

Ademais, não houve associação entre o padrão histológico predominante apresentado em linfonodos/cadeias mediastinais e tipo histológico ($p=0,36$), tamanho da neoplasia primária ($p=0,50$), necrose tumoral ($p=0,81$), percentagem de necrose tumoral ($p=0,25$), tabagismo ($p=0,49$) e tempo de tabagismo ($p=0,13$).

Correlação entre alterações morfológicas e medidas de SUV no PET/CT de 184 linfonodos mediastinais/cadeias nodais de 54 pacientes

Dos 224 linfonodos da soma de 45 linfonodos positivos e 179 linfonodos negativos, foram obtidos para análise 184 linfonodos, devido a exclusão de 9 linfonodos de peça cirúrgica de pacientes submetidos à quimioterapia neoadjuvante e devido à ausência de relato de SUV no exame de PET/CT de 30 linfonodos que não faziam parte do protocolo inicial ou que não foram relatados porque não tinham alterações ao exame.

Para os testes de correlação foram analisados dados provenientes de 184 linfonodos/cadeia de linfonodos não neoplásicos e neoplásicos e para cada teste de correlação, a amostra (n) variou.

A presença ou ausência de granulomas apresenta associação com as medidas de SUV máximo ($p=0,007$ à 1h e às 2h), assim como a presença/ausência de metástase nodal (Tabelas 6).

Dentre 05 pacientes que apresentaram granulomas, apenas 01 apresentou granulomas do tipo imune em três linfonodos e outros 04 pacientes apresentaram granulomas do tipo corpo estranho em 05 linfonodos. O paciente com granulomas do tipo imune apresentava carcinoma epidermoide primário sem metástases linfonodais, captação de SUVmáx maior que 5,0 e pesquisa de bacilos álcool ácido resistentes (BAAR) negativa; a hipótese de tuberculose não foi descartada e foi a provável causa de óbito precoce. Os demais pacientes apresentavam granulomas do tipo corpo estranho em linfonodos de mediastinoscopia e/ou de ressecção cirúrgica, com tipos histológicos tanto de carcinoma epidermoide quanto de adenocarcinoma, um deles com linfonodo regional positivo para neoplasia.

Tabela 6: Associação das medidas de SUV no PET/CT com metástase nodal e granulomas (Student's t-test).

	Variáveis	SUV 1h p-valor	SUV 2h p-valor
Metástase linfonodal	Positivo	<0,01	<0,01
	Negativo		
Granulomas	Sim	0.007	0.007
	Não		

Na avaliação de metástases nodais também foi feita estratificação dos linfonodos em (1) linfonodos positivos para metástases, (2) linfonodos negativos de pacientes apenas com linfonodos negativos e (3) linfonodos negativos de pacientes com outros linfonodos positivos (Figura 10).

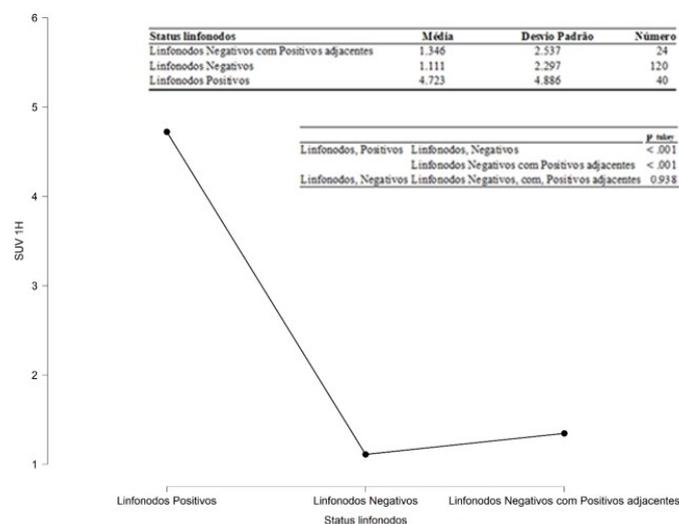


Figura 10: Correlação das medidas de SUV 1h no PET/CT com (1) linfonodos positivos para metástases, (2) linfonodos negativos de pacientes apenas com linfonodos negativos e (3) linfonodos negativos de pacientes com outros linfonodos positivos com gráfico descritivo das diferenças e teste post hoc (t Tukey).

Embora a média de SUV 1h nos linfonodos negativos com positivos adjacentes obtida tenha sido discretamente maior, não houve diferença estatisticamente significativa entre os subtipos de linfonodos negativos. Houve diferença significativa entre o grupo dos linfonodos positivos e ambos os grupos de linfonodos negativos ($p < 0,001$). Não houve diferença significativa dos grupos negativos entre si.

O padrão histológico predominante e padrão histológico secundário foram submetidos a testes de associação com captação/não captação no PET à 1h ($p=0,668$ e $p=0,346$, respectivamente) e 2h ($p=0,648$ e $p=0,386$, respectivamente), onde não se detectou diferença estatisticamente significativa entre as variáveis (Tabela 7). Houve correlação entre as medidas de SUV no PET/CT com percentagem de neoplasia, tamanho da metástase nodal, tamanho do linfonodo à tomografia computadorizada (TC) e percentagem de antracose (tabela 8).

Tabela 7: Associação das medidas de SUV no PET/CT com padrão histológico predominante e secundário (ANOVA)

		SUV 1h p-valor	SUV 2h p-valor
	Variáveis		
Padrão histológico predominante	Hiperplasia folicular	0.668	0.648
	Histiocitose sinusal		
	Histiocitose com extensão paracortical		
Padrão histológico secundário	Hiperplasia folicular	0.346	0.386
	Hiperplasia paracortical		
	Histiocitose sinusal		
	Histiocitose com extensão paracortical		

Tabela 8: Correlação das medidas de SUV no PET/CT com percentagem de neoplasia, tamanho da metástase nodal, tamanho do linfonodo à tomografia computadorizada (TC) e percentagem de antracose (Rô de Spearman).

	SUV 1h p-valor	SUV 2h p-valor
% Neoplasia	<0.001	<0.001
T Neo Meta	<0.001	<0.001
Tamanho TC LN	<0.001	<0.001
Tamanho TC LN menor eixo	<0.001	<0.001
% Antracose	0,472	0,599

A captação na área da neoplasia primária em pulmão ocorreu em todos os casos, com variação de SUVmax de 2,0 a 35,0, sendo que apenas três casos apresentaram valor de SUVmax menor que 2,5 na neoplasia primária em pulmão. Destes três pacientes, apenas um

apresentava metastases nodais nos quatro linfonodos amostrados, todos com SUVmax acima de 2,5 e variando de 3,5 a 11,6. Os outros dois pacientes, não apresentavam metastases nodais e apenas um linfonodo de um deles apresentava SUVmax de 1h e 2h captante e com valor de 3,1 e 4,5, respectivamente.

Avaliação de metabolismo celular e proliferação celular em linfonodos mediastinais de 43 pacientes através de estudo imuno-histoquímico (GLUT1 e Ki67, respectivamente)

Quarenta e três pacientes tiveram suas amostras submetidas à avaliação imuno-histoquímica (FASE II), conforme critérios de seleção previamente citados. Foram avaliados 66 linfonodos de 43 pacientes.

A positividade de GLUT1 foi avaliada segundo nível de intensidade da coloração (GLUTi), porcentagem de células positivas (GLUTp) e escore de imunorreatividade (EIR); e, registrada topograficamente, descrevendo-se o tipo celular (neoplásico e/ou não neoplásico) com predomínio da expressão do marcador. Em todos os casos com neoplasia, a positividade predominou nas células neoplásicas. Nos casos, sem neoplasia, observou-se marcação em células dendríticas foliculares (Tabela 9 e 12).

Tabela 9: Distribuição da expressão de GLUT1 segundo nível de intensidade da coloração (GLUTi), porcentagem de células positivas (GLUTp) e escore de imunorreatividade (EIR).

Avaliação da expressão de GLUT1	N (%) N=43	Pacientes com linfonodos positivos histologicamente	Pacientes com linfonodos negativos histologicamente
Nível de intensidade da coloração (GLUTi)			
0 pontos, sem coloração	10 (23%)	3 (30%)	7 (70%)
1 ponto, coloração fraca	16 (37%)	4 (25%)	12 (75%)
2 pontos, coloração forte	17 (40%)	8 (47%)	9 (53%)
Porcentagem de células positivas (GLUTp)			
0%, 0 pontos	11 (25%)	4 (36%)	7 (64%)
<10%, 1 ponto	24 (56%)	4 (17%)	20 (83%)
11–50%, 2 pontos	2 (5%)	1 (50%)	1 (50%)
51–80%, 3 pontos	2 (5%)	2 (100%)	0 (0%)
> 80%, 4 pontos	4 (9%)	4 (100%)	0 (0%)
Escore de imunorreatividade (EIR)			
negativo (0 pontos)	11 (25%)	4 (36%)	7 (64%)
fraco (1– 2 pontos)	24 (56%)	4 (17%)	20 (83%)
moderada (3 a 4 pontos)	2 (5%)	1 (50%)	1 (50%)
forte (6 a 8 pontos)	6 (14%)	6 (100%)	0 (0%)

A positividade de Ki67 e AE1/AE3 foi avaliada e registrada topograficamente (Tabela 10, 11 e 12).

Tabela 10: Distribuição da expressão de Ki67, segundo porcentagem de células positivas (Ki67p).

Avaliação da expressão de Ki67	N (%) N=43	Pacientes com linfonodos positivos histologicamente	Pacientes com linfonodos negativos histologicamente
Porcentagem de células positivas (Ki67p)			
0%	1 (2%)	0 (0%)	1 (100%)
1%	9 (21%)	4 (44%)	5 (56%)
5%	18 (42%)	3 (17%)	15 (83%)
10%	7 (16%)	3 (43%)	4 (57%)
15%	2 (5%)	1 (50%)	1 (50%)
20%	4 (9%)	2 (50%)	2 (50%)
30%	2 (5%)	2 (100%)	0 (0%)

Tabela 11: Distribuição da expressão de AE1AE3 segundo porcentagem de células positivas (AE1AE3p).

Avaliação da expressão de AE1AE3	N (%) N=43	Pacientes com linfonodos positivos histologicamente	Pacientes com linfonodos negativos histologicamente
Porcentagem de células positivas (AE1AE3)			
0%	6 (14%)	0 (0%)	6 (100%)
1%	13 (30%)	0 (0%)	13 (100%)
5%	7 (16%)	0 (0%)	7 (100%)
10%	2 (5%)	0 (0%)	2 (100%)
80%	1 (2%)	1 (100%)	0 (0%)
90%	1 (2%)	1 (100%)	0 (0%)
95%	1 (2%)	1 (100%)	0 (0%)
100%	12 (28%)	12 (100%)	0 (0%)

Tabela 12: Distribuição da expressão de GLUT1, Ki67 e AE1AE3, segundo topografia (tipo celular) com positividade predominante no linfonodo.

Topografia (tipo celular) com positividade predominante no linfonodo	N (%) N=43
GLUT1	
0 Nenhuma marcação positiva	10 (23%)
1 Células neoplásicas	12 (28%)
2 Células não neoplásicas - Linfócitos foliculares	20 (47%)
3 Células não neoplásicas - Linfócitos extrafoliculares	0 (0%)
4 Células não neoplásicas – Histiócitos	1* (2%)
5 Células não neoplásicas - Outras	0 (0%)
Ki67t	
0 Nenhuma marcação positiva	1 (2%)
1 Células neoplásicas	15 (35%)
2 Células não neoplásicas - Linfócitos foliculares	24 (56%)
3 Células não neoplásicas - Linfócitos extrafoliculares	3 (7%)
4 Células não neoplásicas – Histiócitos	0 (0%)
5 Células não neoplásicas - Outras	0 (0%)
AE1AE3	
0 Nenhuma marcação positiva	6 (14%)
1 Células neoplásicas	15** (35%)
2 Células não neoplásicas - Linfócitos foliculares	0 (0%)

3 Células não neoplásicas - Linfócitos extrafoliculares	0 (0%)
4 Células não neoplásicas – Histiócitos	0 (0%)
5 Células não neoplásicas - Outras	22** (51%)

Em relação ao tipo celular, observou-se positividade em células epitelioides com formação de granulomas do tipo imune em um caso (*), que resultou positivo na marcação para GLUT1. Ademais, em 18 casos, além das células neoplásicas e linfócitos foliculares, observou-se a presença de positividade com marcador para Ki67 em imunoblastos. E na marcação para citoqueratinas, revelou-se positividade para todas os linfonodos com neoplasia metastática e também em células dendríticas foliculares.

Correlação dos resultados da marcação imuno-histoquímica de metabolismo celular e proliferação celular em linfonodos mediastinais de 43 pacientes com carcinoma de pulmão não pequenas células com medidas de SUV no PET/CT

Houve correlação estatisticamente significativa entre a positividade de marcadores de proliferação celular (Ki67) e de metabolismo celular (GLUT1) assim como de proliferação celular (Ki67) e SUV 1h e SUV 2h, conforme dados abaixo descritos na Tabela 13.

Tabela 13: Correlação dos resultados da marcação imuno-histoquímica de metabolismo celular (GLUT1), proliferação celular (Ki67) e de células epiteliais (AE1AE3) em linfonodos mediastinais de 43 pacientes com carcinoma de pulmão não pequenas células com medidas de SUV no PET/CT (Spearman's rho).

Variáveis		Ki67p(n)	AE1AE3p(n)	EIR (n)
1. Ki67p(n)	n	—		
	<u>Spearman's rho</u>	—		
	<u>p-value</u>	—		
	<u>Upper 95% CI</u>	—		
	<u>Lower 95% CI</u>	—		
2. AE1AE3p(n)	n	43	—	
	<u>Spearman's rho</u>	0.278	—	
	<u>p-value</u>	0.071	—	
	<u>Upper 95% CI</u>	0.534	—	
	<u>Lower 95% CI</u>	-0.024	—	
3. EIR (n)	n	43	43	—
	<u>Spearman's rho</u>	0.623 ***	0.280	—
	<u>p-value</u>	< .001	0.069	—
	<u>Upper 95% CI</u>	0.778	0.535	—
	<u>Lower 95% CI</u>	0.396	-0.022	—
4. SUV 1H	n	43	43	43
	<u>Spearman's rho</u>	0.376 *	0.188	0.146
	<u>p-value</u>	0.013	0.228	0.351
	<u>Upper 95% CI</u>	0.608	0.462	0.427
	<u>Lower 95% CI</u>	0.085	-0.119	-0.162
5. SUV 2H	n	43	43	43
	<u>Spearman's rho</u>	0.353 *	0.177	0.138
	<u>p-value</u>	0.020	0.257	0.378
	<u>Upper 95% CI</u>	0.591	0.453	0.421
	<u>Lower 95% CI</u>	0.059	-0.131	-0.170

Na avaliação imuno-histoquímica de Ki67 e GLUT1 para os grupos de pacientes com e sem metástase nodal, ao comparar as médias através do teste T de Student ($p < 0,05$), observou-se diferença de médias estatisticamente significativas entre os grupos com metástase nodal e sem metástase nodal tanto para Ki67 ($p = 0,048$) quanto para GLUT1 ($p = 0,001$).

O teste de correlação entre medida de SUV e AE1AE3 não apresentaram significância estatística.

Avaliação de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia

Diferentes valores para sensibilidade (S), especificidade (E), valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN), acurácia (A), falso-positivos (FP) e falso-negativos (FN) foram obtidos para linfonodos mediastinais com e sem metástases utilizando diferentes parâmetros de avaliação em 43 pacientes com CPNPC: (1) Impressão médica; (2) Medidas de linfonodos à tomografia computadorizada (TC) considerando menor eixo maior ou igual a 1,0cm; (3) Medida de SUV máximo à 1h ao PET maior ou igual a 2,5; (4) Medida de SUV máximo às 2h ao PET maior ou igual a 2,5; (5) Medidas de linfonodos à TC associada à captação de SUV de 1h ao PET (PET/CT) (Tabela 14). Os valores de falso-positivos (FP) e falso-negativos (FN) variaram de acordo com o parâmetro de avaliação.

Tabela 14: Sensibilidade (S), especificidade (E), valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN), acurácia (A), falso-positivos (FP) e falso-negativos (FN) para linfonodos mediastinais com e sem metástases utilizando diferentes parâmetros em 43 pacientes com CPNPC: (1) Impressão médica; (2) Medidas de linfonodos à tomografia computadorizada (TC); (3) Medida de SUV máximo à 1h ao PET; (4) Medida de SUV máximo às 2h ao PET; (5) Medidas de linfonodos à TC associada a captação de SUV de 1h ao PET (PET/CT). As medidas de SUV foram consideradas positivas quando maior ou igual a 2,5.

	Impressão médica	TC	SUV1h	SUV2h	TC e SUV1h
S	79%	53%	67%	67%	48%
E	44%	54%	57%	57%	71%
VPP	42%	38%	45%	43%	47%
VPN	80%	68%	76%	75%	71%
A	56%	53%	60%	58%	63%
FP	37%	30%	28%	30%	19%
FN	7%	12%	12%	12%	19%

A avaliação do valor de SUV de 1h e 2h dos linfonodos mediastinais foi realizada também segundo três critérios na avaliação de 184 linfonodos em 54 pacientes com CPNPC: (1) captação/não captação; (2) captação maior que do fígado; e, (3) captação maior ou igual a 2,5 (Tabela 15), obtendo-se maior sensibilidade com SUV_Máx>0 e SUV_Máx>2,5 e maior especificidade com SUV_Máx>fígado.

Tabela 15: Sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia do PET/CT usando diferentes pontos de corte do SUV na avaliação de 184 linfonodos mediastinais positivos ou negativos histologicamente em 54 pacientes.

Ponto de corte	Medida	Resultados (%) 1h e 2h	
SUV_Máx > 0	Sensibilidade	63	63
	Especificidade	75	74
	Valor Preditivo Positivo	41	40
	Valor Preditivo Negativo	88	88
	Acurácia	72	72
SUV_Máx > 2.5	Sensibilidade	60	63
	Especificidade	78	78
	Valor Preditivo Positivo	43	44
	Valor Preditivo Negativo	88	88
	Acurácia	74	74
SUV_Máx > SUV Fígado	Sensibilidade	55	50
	Especificidade	83	80
	Valor Preditivo Positivo	47	41
	Valor Preditivo Negativo	87	85
	Acurácia	77	73

A documentação fotográfica das imagens escaneadas das lâminas estão registradas no Apêndice F.

8 DISCUSSÃO

A distinção entre o envolvimento benigno e maligno no linfonodo mediastinal requer modalidades invasivas, como biópsia guiada por imagem (TC, ultrassom endoscópico), biópsia de linfonodo transbrônquico ou biópsia toracoscópica ou mediastinoscópica, não isentas de complicações. PET/CT, uma modalidade de imagem não invasiva, foi incluída no estadiamento e demonstrou ter maior sensibilidade que a TC isoladamente. No entanto, o FDG PET/CT não é específico para detectar doenças malignas, pois as células inflamatórias também mostram avidéz por FDG.

O acurado estadiamento de pacientes com CPNPC é muito importante para determinação da terapia apropriada e o principal objetivo do estadiamento é selecionar pacientes que podem se beneficiar da cirurgia. O *status* do linfonodo N2 e N3 é o fator chave.

O exame de PET/CT é indicado no diagnóstico de CPNPC, no estadiamento e reestadiamento, avaliação de resposta, esclarecimento de achados inconclusivos, direcionamento de biópsias, detecção de tumor primário oculto, suspeita de recorrência baseada em TC após radioterapia ablativa estereotáxica. No entanto, é imprescindível a investigação de fatores que interferem na sensibilidade e especificidade do exame, motivo do presente estudo em busca de padrões histológicos e perfil imuno-histoquímico que esclareçam falso-positivos e falso-negativos.

Há descrições na literatura de que o padrão de reatividade linfonodal pode estar relacionado à resposta imune celular ou humoral, de acordo com a presença ou não de estímulo imunológico (MANFRO, 2010). Na presente amostra, houve predomínio de histiocitose com extensão paracortical (56,4%), e este padrão histológico mostrou correlação, estatisticamente, significativa com antracose ($p=0,0001$); enquanto o padrão histológico de hiperplasia folicular associou-se com o número de cigarros/dia ($p= 0,001$).

Dentre os dados clínicos de tabagismo e tempo de tabagismo e das características anatomopatológicas da neoplasia primária no pulmão como tipo histológico, tamanho, necrose tumoral e percentagem de necrose, nenhuma destas variáveis analisadas apresentou correlação estatisticamente significativa com os padrões histológicos analisados.

No presente estudo, apenas cinco de cinquenta e quatro pacientes (9,3%) apresentaram granulomas, destes um apresentou granulomas do tipo imune em três linfonodos e outros quatro pacientes apresentaram granulomas do tipo corpo estranho em cinco linfonodos. Estes achados contradizem a explicação mais usual que no PET há aumento das taxas de falso-

positivo em linfonodos mediastinais devido ao aumento da atividade metabólica secundárias à doença granulomatosa endêmica, como sarcoidose, infecção por HIV, tuberculose e doença fúngica, como a histoplasmose (TERAN, 2014).

A presença de granulomas apresenta associação estatisticamente significativa com as medidas de SUV máximo ($p=0,007$ à 1h e às 2h) nos dados estudados em conformidade com a literatura vigente. O paciente com granulomas do tipo imune apresentava carcinoma epidermoide sem metástases linfonodais, captação de SUV_{máx} maior que 5,0 e pesquisa de bacilos álcool ácido resistentes (BAAR) negativa; a hipótese de tuberculose não foi descartada e foi a provável causa de óbito precoce. Os outros quatro pacientes apresentavam granulomas do tipo corpo estranho em linfonodos tanto provenientes de mediastinoscopia como de ressecção cirúrgica, com tipos histológicos tanto de carcinoma epidermoide quanto de adenocarcinoma; dois deles com linfonodo regional positivo para neoplasia. Dos três pacientes sem metástase linfonodal, apenas um apresentou captação no PET, representando um falso-positivo (1,8%).

Alguns autores sugerem a possibilidade de reação imunológica mediada por células T aos antígenos solúveis liberados pelo tumor, o que leva a uma resposta granulomatosa, enquanto outros atribuem à persistência de um produto não degradável (KOBAYASHI, 2001). Alguns outros mecanismos, como reação de corpo estranho a material necrótico no tumor ou secundário a procedimentos prévios realizados também foram sugeridos como as prováveis causas (COYNE, 2002). Não há relatos na literatura de granulomas relacionados exclusivamente ao tabagismo.

Também foram avaliados os linfonodos negativos de pacientes com outros linfonodos positivos para metástases nodais, sem diferença estatisticamente significativa de linfonodos negativos de pacientes sem metástases nodais.

No estadiamento de linfonodos mediastinais de pacientes com CPNPC através de PET/CT, as taxas de linfonodos falso-positivos (FP) variaram de 28% a 55% (LV, 2011). Alguns autores, apresentam taxas maiores, como Castro (2017) que refere taxa de falso-positivo de 61,1%, atribuindo ao tamanho do linfonodo > 1 cm o fator associado aos falso-positivos ($p < 0,001$) e Lin (2012), cujas taxas de falso-positivos em linfonodos N1 e N2 foram de 70% e 79%, respectivamente, que atribuiu a antracose como causa mais comum de falso-positivos (LIN, 2012).

Em nossos achados, as taxas de falso-positivos foram, predominantemente, menores e variaram de 19-37%, utilizando diferentes parâmetros de avaliação: (1) Impressão médica; (2) Medidas de linfonodos à tomografia computadorizada (TC), considerando menor eixo maior

ou igual a 1,0cm; (3) Medida de SUV máximo à 1h ao PET maior ou igual a 2,5; (4) Medida de SUV máximo às 2h ao PET maior ou igual a 2,5; (5) Medidas de linfonodos à TC associada a captação de SUV de 1h ao PET (PET/CT).

As causas comuns de linfonodos falso-positivos descritas foram antracose, hiperplasia reativa, granuloma hialinizado e inflamação granulomatosa necrotizante (LIN, 2012; LIAO, 2012). Em nossos dados, a reação granulomatosa foi incomum acometendo 4/54 pacientes com resultado falso-positivo correspondente em apenas 1/54 (1,8%), e não houve associação ou correlação, estatisticamente, significativa entre hiperplasia reativa e antracose com os valores de SUV estudados. Autores como Nakajo (2016), buscam intervenções para redução de falso-positivos, como a utilização de dexametasona oral para reduzir a captação de FDG nos linfonodos pulmonares e mediastinais.

PET/CT também pode mostrar falsa negatividade para detectar comprometimentos de linfonodos mediastinais, cuja taxa é de 5–14,8% para estadiamento mediastinal em NSCLC, de acordo com publicações anteriores (GPS, 2009; KANZAKI, 2011; GÓMEZ-CARO, 2012; BUSTOS, 2017; TAIRA, 2018). Em concordância com nossos achados, que utilizou diferentes parâmetros de avaliação, as taxas de falso-negativos variaram de 7-19%.

No presente estudo, nenhum dos padrões histológicos estudados (hiperplasia folicular, hiperplasia sinusal e hiperplasia com extensão paracortical) apresentou associação com as medidas de SUV máximo no PET/CT, de forma que a avaliação histológica não discriminou o fundamento de todos os falso-positivos no PET, aumentando a necessidade de estudos adicionais, como imuno-histoquímica para avaliação de metabolismo e proliferação celular. Um resultado falso-positivo na investigação diagnóstica tem potencial de excluir o paciente de uma operação possivelmente curável (FISCHER, 2001), devendo-se, antes de excluir pacientes do tratamento cirúrgico, submetê-los a procedimento invasivo pré-operatório com confirmação histológica.

Nos testes de correlação entre metástases nodal em linfonodos mediastinais e medidas de SUV1h e SUV2h no PET, houve associação, estatisticamente, significativa ($p < 0,01$). Na literatura vigente, os valores de SUV máximo $\geq 2,5$ são considerados indicativos de processos malignos, enquanto neoplasias com SUV máximo $< 2,5$ apresentam maior probabilidade de serem benignos (HOCHHEGGER, 2015). Ademais, a captação de FDG depende de muitos fatores, como idade, peso e nível de glicose no sangue. Algumas dessas variáveis parecem ter um impacto oposto no SUV máximo do tumor. Estes resultados desafiam a utilidade do fígado como referência (GROHEUX, 2013).

Observamos correlação entre a captação de glicose no PET e a avaliação de proliferação celular através de Ki67, com valores de $p=0,013$ e $p=0,020$ em SUV máximo de 1h e de 2h, respectivamente; em concordância com a literatura que quanto maior a proliferação celular, maior a captação de glicose e maiores as medidas de SUV (VESSELLE, 2008). Citado também correlação significativa entre o FDG SUV e o índice Ki-67 ($r = 0,81$; $p < 0,0001$) por Yamamoto, *et al* (2007).

Como os histiócitos ativados podem mostrar captação aumentada de FDG e superexpressão de GLUT1, é natural presumir que a infiltração de histiócitos em linfonodos benignos também pode causar captação de FDG falso-positiva (MALIDE, 1998; FUKUZUMI, 1996). No entanto, na avaliação de metabolismo celular com GLUT1 (EIR), não houve associação, estatisticamente, significativa com valores de $p=0,351$ e $p=0,378$ em SUV máximo de 1h e de 2h, respectivamente; tornando evidente que a captação de glicose por outros transportadores de glicose deve ser considerada.

É conhecido que a captação de glicose pode ocorrer em linfócitos, principalmente, através de receptores de GLUT1 e GLUT3, o que pode explicar os falso-positivos em exames de PET/CT (WU, 2008; MOCHIZUKI, 2001). Segundo Younes (1997), cerca de 27% de carcinomas do pulmão não pequenas células foram positivos para GLUT3; isto pode explicar a captação ao exame PET/CT dos casos negativos para GLUT1 no presente estudo.

Segundo Kwon (2011), na expressão de GLUT1 por coloração imuno-histoquímica, os escores de GLUT1 de folículos linfoides ou histiócitos foram maiores no grupo 1 do que no grupo 2, respectivamente (folículos linfoides: $1,9 \pm 1,6$ vs. $1,2 \pm 0,4$, $p = 0,035$; histiócitos: $2,2 \pm 1,9$ vs $1,4 \pm 1,1$, $p = 0,005$). Linfonodos foram classificados em dois grupos de acordo com valor máximo de captação padronizada (SUV_{máx}): grupo 1 (SUV_{max} $\geq 3,0$) e grupo 2 (SUV_{max} $< 3,0$). No entanto, não houve correlação significativa entre SUV_{max} e os parâmetros (proporções ocupadas, escores de GLUT1) medidos em folículos linfoides ou histiócitos (KWON, 2011)

Embora em Consenso entre a Sociedade Brasileira de Cancerologia e a Sociedade Brasileira de Biologia, Medicina Nuclear e Imagem Molecular, a FDG-F¹⁸ PET foi considerada o método de imagem mais acurado para o estadiamento nodal e extranodal no CPNPC, com sensibilidade e especificidade elevadas em torno de 90% (SOARES, 2010), os resultados no presente estudo são variáveis de acordo com os diferentes parâmetros analisados. A sensibilidade apresentou valores de 63%, 63% e 55% para SUV_{max} > 0 , SUV_{max} $\geq 2,5$ e SUV_{max} $>$ fígado, respectivamente; enquanto a especificidade mostrou

valores de 75%, 78% e 83%, respectivamente, com valores preditivos positivos menores que 50%, valores preditivos negativos em torno de 88% e acurácia entre 72% e 77%.

Embora a avaliação dos linfonodos tenha problemas já discutidos de sensibilidade/especificidade, a captação na área da neoplasia primária em pulmão ocorreu em todos os casos, com variação de SUVmax de 2,0 a 35,0, sendo que apenas três casos apresentaram valor de SUVmax menor que 2,5 na neoplasia primária em pulmão.

Diversamente da neoplasia primária, o único paciente com metastases nodais nos quatro linfonodos amostrados, dentre os três acima citados, apresentava todos os linfonodos com captação e SUVmax variando de 3,5 a 11,6. Ademais, um dos pacientes sem metastase nodal apresentou um linfonodo com captação e SUVmax de 1h e 2h de 3,1 e 4,5, respectivamente, representando um falso-positivo ao PET. Portanto, mostrando que a captação dos linfonodos verdadeiro-positivos e falso-positivos podem ser diferentes da neoplasia primária.

Os intervalos relatados para a sensibilidade e especificidade da TC para a detecção de nódulos metastáticos são 51%-64% e 74%-86%, respectivamente (GOULD, 2003; WALKER, 2012; GISBERG, 2007) em concordância com os achados do presente estudo de 53% e 54%. Foi demonstrado que para TC, um limite de 1 cm no menor eixo tem o melhor risco/benefício entre sensibilidade e especificidade (GLAZER, 1985). No entanto, os linfonodos malignos podem muito bem ser menor que 1 cm e isso explica a sensibilidade limitada de TC, estimado em 57% (TOLOZA, 2003).

Em comparação com a tomografia computadorizada, o PET mostrou ter sensibilidades e especificidades significativamente melhores, 77-85% e 86-90%, respectivamente, ao avaliar as metástases mediastinais (TERAN, 2014; GOULD, 2003); todavia, no presente estudo, os valores foram inferiores de 67% e 57%, respectivamente; e, unificando a tomografia computadorizada e o PET (PET/CT) obteve-se especificidade de 71%, com valor preditivo negativo de 71%.

Segundo Langen (2006), a prevalência de envolvimento metastático e desempenho de teste condicional de TC e FDG-PET foram calculados para linfonodos medindo 10–15 mm, 16–20 mm e maior que 20 mm. Encontraram uma probabilidade pós-teste para doença N2 de 5% para linfonodos medindo 10-15 mm na TC em pacientes com resultado negativo de FDG-PET, sugerindo que esses pacientes devem ser planejados para toracotomia porque o rendimento da mediastinoscopia será extremamente baixo. Para pacientes com linfonodos medindo 16 mm na TC e um resultado FDG-PET negativo, uma probabilidade pós-teste para N2 doença de 21% foi encontrada, sugerindo que esses pacientes devem ser planejados para

mediastinoscopia antes de uma possível toracotomia para prevenir muitas toracotomias desnecessárias neste subconjunto.

A precisão diagnóstica, incluindo especificidade e particularmente a confiabilidade de um estudo diagnóstico negativo (ou seja, verdadeiro-negativo) depende de adequada amostra de tecido para diagnóstico; na mediastinoscopia, é feita biópsia incisional do linfonodo, portanto uma amostragem que pode interferir na sensibilidade e especificidade. As modalidades são limitadas em capacidade de amostragem de todos os linfonodos das cadeias nodais e frequentemente são complementares (WALKER, 2012; ETTINGER, 2019).

O valor preditivo negativo (VPN) de 95,1% torna PET/CT uma ferramenta útil para evitar biópsia desnecessárias por mediastinoscopia em pacientes. O PET/CT é uma ferramenta útil para prever a negatividade do *status* de linfonodos mediastinais no pré-operatório nos estágios clinicamente iniciais do câncer de pulmão (estágios I e II), mas pode ser relativamente impreciso na previsão do *status* de linfonodos hilares e ser confundido por falso-positivos causados por processos inflamatórios (LIN 2012). Em nossa casuística, o VPN variou de 80%, 68%, 76%, 75% e 71% de acordo com a impressão médica, TC, PET SUV1h, PET SUV 2h e PET/CT, respectivamente.

Os avanços com a junção das técnicas de tomografia computadorizada e PET em PET/CT, atribuíram valores melhores de especificidade e de valor preditivo negativo para estadiamento de linfonodos mediastinais de pacientes com CPNPC que auxiliam o médico na seleção de pacientes candidatos à cirurgia.

As vantagens do exame de PET/CT em pacientes com CPNPC ultrapassa o diagnóstico de avaliação dos linfonodos mediastinais, com a possibilidade de identificação de metástases a distância, incluindo a avaliação das lesões adrenais (KUMAR, 2004; BLAKE, 2006); seleção de área viável do tumor para direcionar biópsia; diferencial de condições benignas de neoplasia (como atelectasia, consolidação e fibrose por radiação); avaliação de invasão de parede torácica e mediastino (LARDINOIS, 2003); distinção de derrame pleural benigno e maligno (SUN , 2016), evitando toracotomias desnecessárias.

Entretanto, o exame de PET/CT apresenta desvantagens devido à especificidade limitada na investigação de metástases em SNC em razão da alta taxa de captação de glicose em células normais; em situação pós radioterapia (áreas previamente tratadas com radiação podem permanecer ávidas por FDG por até dois anos); em processos inflamatórios; quando as lesões são pequenas, microscópicas; em alguns tumores benignos; em neoplasias de baixo grau e também em neoplasias mucinosas; além de não ser seguro na vigilância e seguimento de rotina.

Limitações do estudo

O estudo apresentou limitações quanto à população alvo devido a: o paciente não ter feito análise patológica no Serviço de Patologia do HSL; lâminas e blocos não arquivados no Serviço de Patologia do HSL; e, informações sobre a evolução não disponíveis no prontuário, principalmente, devido ao óbito ou encaminhamento para outro serviço de saúde.

A avaliação histológica dos linfonodos foi prejudicada em alguns casos devido à fragmentação inerente ao procedimento de mediastinoscopia, dificultando a análise quantitativa das variáveis histológicas em estudo ou devido a artefatos físicos térmicos e de esmagamento. A representação parcial de linfonodo e/ou cadeia linfonodal na mediastinoscopia também foi um fator limitante, embora corrigido parcialmente em alguns casos pela complementação da amostra para estudo com espécimes correspondentes proveniente do procedimento cirúrgico acompanhado de linfadenectomia.

A avaliação histológica das variáveis relativas à neoplasia pulmonar foi impossibilitada pela ausência de espécimes do carcinoma primário devido à inexistência de indicação cirúrgica de ressecção do tumor e/ou ausência de neoplasia na biópsia de sítio primário, assim como em casos de pacientes que optaram por não realizar o procedimento cirúrgico. Ressalta-se que alguns pacientes obtiveram diagnósticos através de biópsia de sítio metastático, principalmente, por mediastinoscopia e foram assim conduzidos clinicamente na dependência do estadiamento clínico durante o projeto original.

Ainda existem limitações em nosso estudo, que decorrem, principalmente, de sua natureza retrospectiva e da avaliação por um observador.

9 CONCLUSÕES

Há associação entre medidas de SUV e metástases nodais, percentagem e tamanho de neoplasia metastática, tamanho do linfonodo à TC e granulomas.

Doenças granulomatosas são descritas como principal causa de falso-positivos no PET; no entanto, apesar do alto índice de falso-positivos no presente estudo, a reação granulomatosa foi incomum na amostra de linfonodos estudados. Predominaram achados reacionais inespecíficos.

Houve correlação estatisticamente significativa entre a positividade de marcadores de proliferação celular (Ki67) e de metabolismo celular (GLUT1) assim como de proliferação celular (Ki67) e SUV 1h e SUV 2h. No entanto, o teste de correlação para avaliação de metabolismo celular (EIR) e marcação epitelial com AE1/AE3 não apresentaram significância estatística.

Os linfonodos falso-positivos captam FDG, possivelmente, através de outro transportador de glicose, que não GLUT1. Houve marcação de células dendríticas reticulares para AE1/AE3 em linfonodos não neoplásicos.

A associação de técnicas imagem e metabolismo unindo tomografia computadorizada e PET, aumentam a especificidade do exame de 54% e 57%, respectivamente, para 71% e com valor preditivo negativo de 71%, permitindo ponderar a necessidade de mediastinoscopia pré-operatória.

REFERÊNCIAS

AMERICAN CANCER SOCIETY (ASC), **Tests for Non-Small Cell Lung Cancer**.

Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/non-small-cell-lung-cancer/detection-diagnosis-staging/how-diagnosed.html>. Acesso em: 07 ago. 2018.

AMIN, M. B. *et al.* **AJCC Cancer Staging Manual**. 8th ed. New York, NY: Springer, 2017.

BHATIA, A.; KUMAR, Y.; KATHPALIA, A.S. Granulomatous inflammation in lymph nodes draining cancer: A coincidence or a significant association! **Int. J. Med. Med. Sci.**, v. 1, n. 2, p. 13-16, 2009.

BRAY, F. *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA Cancer J. Clin.**, v. 68, n. 6, p. 394-424, 2018.; Erratum in: **CA Cancer J. Clin.**, v.70, n. 4, p. 313, 2020.

BRIERLEY, J. D. *et al.* **TNM Classification of Malignant Tumours**. 8th ed. Oxford, UK: Wiley, 2016.

BROWN, R.S. *et al.* Glucose transporters and FDG uptake in untreated primary human non-small cell lung cancer. **J. Nucl. Med.**, v. 40, p. 556–565, 1999.

CARVALHO, K.C. *et al.* GLUT1 expression in malignant tumors and its use as an immunodiagnostic marker. **Clinics**, v. 66, n. 6, p. 965-972, 2011.

CASTRO, A. B. G. D. *et al.* PET-CT in presurgical lymph node staging in non-small cell lung cancer: the importance of false-negative and false-positive findings. **Radiologia**, v. 59, n. 2, p. 147-158, 2017.

COYNE, J.D. Colonic carcinoma with granulomatous (sarcoid) reaction. **J. Clin. Pathol**, v. 55, n. 9, p. 708–709, 2002.

DE LANGEN, A. J. *et al.* The size mediastinal lymph nodes and its relation with metastatic involvement: a meta-analysis. **Eur. J. Cardiothorac. Surg.**, v. 29, n. 1, p. 26-29, 2006.

DILLEMANS, B. *et al.* Value of computed tomography and mediastinoscopy in preoperative evaluation of mediastinal nodes in non-small cell lung cancer. A study of 569 patients. **Eur. J. Cardiothorac. Surg.**, v. 8, n. 1, p. 37-42, 1994.

EDGE, S.B. *et al.* **AJCC Cancer Staging Manual**, 7th ed. New York: Spring, 2010.

ETTINGER, D. S. *et al.* NCCN Guidelines Insights: Non-Small Cell Lung Cancer, Version 1.2020. **J. Natl. Compr. Canc. Netw.**, v. 17, v. 12, p. 1464-1472, 2019.

FISCHER, B. M.; MORTENSEN, J.; HOJGAARD, L. Positron emission tomography in the diagnosis and staging of lung cancer: a systematic, quantitative review. **Lancet Oncol.**, v. 2, n. 11, p.659-666, 2001.

FUKUZUMI, M. *et al.* Endotoxin-induced enhancement of glucose influx into murine peritoneal macrophages via GLUT1. **Infect. Immun.**, v. 64, p. 108–112, 1996.

GEISINGER, K. *et al.* Lung cancer staging and grading. In: TRAVIS, W.D. *et al.* **WHO Classification of Tumours of Lung, Pleura, Thymus and Heart** (4th editions). IARC: Lyon, 2015.

GINSBERG, M. S.; GREWAL, R. K.; HEELAN, R.T. Lung cancer. **Radiol. Clin. North Am.**, v. 45, n. 1, p. 21-43, 2007.

GLAZER, G. M. *et al.* Normal mediastinal lymph nodes: number and size according to American Thoracic Society mapping. **Am. J. Roentgenol.**, v 144, p 261-265, 1985.

GOLDSTRAW, P. *et al.* The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the revision of the stage grouping in the forthcoming (8th) edition of the TNM classification of lung cancer. **J. Thorac. Oncol.**, v 11, p. 39-511, 2016.

GÓMEZ-CARO, A. *et al.* False-negative rate after positron emission tomography/ computer tomography scan for mediastinal staging in ci stage non-small-cell lung cancer, **Eur. J. Cardiothorac. Surg.**, v. 42, p. 93–100, 2012.

GOULD, M.K. *et al.* Test performance of positron emission tomography and computed tomography for mediastinal staging in patients with non-small-cell lung cancer: a meta-analysis. **Ann. Intern. Med.**, v. 139, n 11, p.879-892, 2003.

GPS, P. *et al.* A prediction model for pathologic N2 disease in lung cancer patients with a negative mediastinum by positron emission tomography, **J. Thorac. Oncol.**, p. 1170–1180, 2009.

GROHEUX, D. *et al.* Variation of liver SUV on (18) FDG-PET-TC studies in women with breast cancer. **Clin. Nucl. Med.**, v. 38, n. 6, p. 422-425, 2013.

HIGASHI, K. *et al.* Correlation of GLUT1 glucose transporter expression with (18F) FDG uptake in non-small cell cancer. **Eur. J. Nucl. Med.**, v. 27, p1778–1785, 2000.

HIS, E.D.; SCHNITZER, B. Reactive Lymphadenopathies. In: JAFFE, E.S. *et al.* **Hematopathology**. 2. ed. Elsevier: Philadelphia, 2017.

HOCHHEGGER, B. *et al.* PET-TC em câncer de pulmão: indicações e achados. **J. Bras. Pneumol.**, v. 41, n. 3, p. 264-274, 2015.

HOWLADER, N. *et al.* **SEER Cancer Statistics Review, 1975-2016, based on November 2018 SEER data submission, posted to the SEER web site, April. Bethesda, MD: National Cancer Institute, 2019.** Disponível em: https://seer.cancer.gov/csr/1975_2016/. Acesso em: 12 set. 2020.

INSTITUTO DO CANCER. INCA. **Pulmão tipos de câncer.** Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/pulmao>). Acesso em: 12 nov. 2018.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. **Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva.** Rio de Janeiro: INCA, 2019.

JAMES, M. L.; GAMBHIR, S. S. A molecular imaging primer: modalities, imaging agents, and applications. **Physiol. Ver.**, v. 92, n. 2: 897-965, 2012.

JEMAL, A. *et al.* Global cancer statistics. **CA. Cancer. J. Clin.**, v. 61, p. 69-90, 2011.

KANDATHIL, A. *et al.* Role of FDG PET/CT in the Eighth Edition of TNM Staging of Non-Small Cell Lung Cancer. **Radiographics**, v. 38, n. 7, p. 2134-2149, 2018.

KANZAKI, R. *et al.* Occult mediastinal lymph node metastasis in NSCLC patients diagnosed as clinical N0-1 by preoperative integrated FDG-PET/CT and CT: risk factors, pattern, and histopathological study, **Lung Cancer**, v. 71; p. 333–337, 2011.

KOBAYASHI, K.; KANEDA, K.; KASAMA, T. Immunopathogenesis of delayed-type hypersensitivity. **Microsc. Res. Tech.**, v. 53, n. 4, p. 241–245, 2001.

KWON, S.Y. *et al.* Impact of Lymphoid Follicles and Histiocytes on the False-Positive FDG Uptake of Lymph Nodes in Non-Small Cell Lung Cancer. **Nucl. Med. Mol. Imaging.**, v 45, n. 3, p. 185-191, 2011.

LANGEN, K.J. *et al.* The influence of plasma glucose levels on fluorine18-fluorodeoxyglucose uptake in bronchial carcinomas. **J. Nucl. Med.**, v. 34, p. 355–359, 1993.

LIAO, C. Y. *et al.* Meta-analysis study of lymph node staging by 18 F-FDG PET/CT scan in non-small cell lung cancer: comparison of TB and non-TB endemic regions. **Eur. J. Radiol.**, v. 81, n. 11, p. 3518-23, 2012.

LIN, W. Y. *et al.* Role of preoperative PET-CT in assessing mediastinal and hilar lymph node status in early stage lung cancer. **J. Chin. Med. Assoc.**, v. 75, n. 5, p. 203-208, 2012.

LV, Y. L. *et al.* Diagnostic performance of integrated positron emission tomography/computed tomography for mediastinal lymph node staging in non small cell lung cancer: a bivariate systematic review and meta-analysis. **J. Thorac. Oncol.**, v. 6, n. 8, p. 1350–1358, 2011.

MALIDE, D. *et al.* Distinct localization of GLUT-1, -3, and -5 in human monocyte-derived macrophages: effects of cell activation. **Am. J. Physiol.**, v. 274, p. 516–526, 1998.

MANFRO, G. *et al.* Can the lymph node reactivity pattern in the pN0 neck analysis provide any additional prognostic information in patients with laryngeal squamous cell carcinoma? **Einstein**, v. 8, n. 1Pt1, p. 68-74, 2010.

MILLER, P.W. *et al.* Synthesis of ¹¹C, ¹⁸F, ¹⁵O, and ¹³N radiolabels for positron emission tomography. **Angew. Chem. Int. Ed. Engl.**, v. 47, n. 47, p. 8998-9033, 2008.

MOCHIZUKI, T. *et al.* FDG uptake and glucose transporter subtype expressions in experimental tumor and inflammation models. **J. Nucl. Med.**, v. 42, n. 10, p.1551-1555, 2001.

NAKAJO, M. *et al.* Dexamethasone Suppression FDG PET/CT for differentiating between true- and false-positive pulmonary and mediastinal lymph node metastases in non-small cell lung cancer: a pilot study of FDG PET/CT after Oral Administration of Dexamethasone. **Radiology**, v. 279, n. 1, p. 246-253, 2016.

RAMI-PORTA, R.; ASAMURA, H.; GOLDSTRAW, P. Predicting the prognosis of lung cancer: the evolution of tumor, node and metastasis in the molecular age-challenges and opportunities. **Transl. Lung Cancer Res.**, v. 4, n. 4, p. 415-423, 2015.

RAMI-PORTA, R. *et al.* Lung cancer - major changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. **CA. Cancer J. Clin.**, v. 67, n. 2, p. 138-155, 2017.

REIS, H. *et al.* Expression of GLUT1 is associated with increasing grade of malignancy in non-invasive and invasive urothelial carcinomas of the bladder. **Oncol. Lett.**, v 2, p. 1149-1153, 2011.

RUSCH, V.W. *et al.* The IASLC lung cancer staging Project: a proposal for a new international lymph node map in the forthcoming seventh edition of the TNM classification for lung cancer. **J. Thorac. Oncol.**, v. 4, p. 568-577, 2009.

SCHIMMER, C.; NEUKAM, K.; ELERT, O. Staging of non-small cell lung cancer: clinical value of positron emission tomography and mediastinoscopy. **Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.**, v. 5, n. 4, p. 418-423, 2006.

SOARES JUNIOR, J. *et al.* Lista de Recomendações do Exame PET-TC com 18F-FDG em Oncologia. Consenso entre a Sociedade Brasileira de Cancerologia e a Sociedade Brasileira de Biologia, Medicina Nuclear e Imagem Molecular. **Radiol. Bras.**, v. 43, n. 4, p. 255–259, 2010.

TAIRA, N. *et al.* Comparison of GLUT-1, SGLT-1, and SGLT-2 expression in false-negative and true-positive lymph nodes during the ¹⁸F-FDG PET/CT mediastinal nodal staging of non-small cell lung cancer. **Lung Cancer**, v. 123, p. 30-35, 2018.

TERAN, M. D.; BROCK, M.V. Staging lymph node metastases from lung cancer in the mediastinum. **J. Thorac. Dis.**, v. 6, n. 3, p. 230-236, 2014.

TOLOZA, E. M.; HARPOLE, L.; MCCRORY, D. C. Noninvasive staging of non-small cell lung cancer: a review of the current evidence. **Chest**, v. 123, p. 137S-46S, 2003.

TRAVIS, W. D. *et al.* Adenocarcinoma. In: TRAVIS, W.D. *et al.* **WHO Classification of Tumours of Lung, Pleura, Thymus and Heart**. 4. ed. IARC: Lyon, 2015.

TRAVIS, W. D. *et al.* **Pathology and Genetics of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart**. Lyon: IARC Press, 2004.

VAN TINTEREN, H. *et al.* Effectiveness of positron emission tomography in the preoperative assessment of patients with suspected non-small-cell lung cancer: the PLUS multicentre randomized trial. **Lancet**, v. 359, p. 1388–1393, 2002.

VESSELLE, H. *et al.* Relationship between non-small cell lung cancer FDG uptake at PET, tumor histology, and Ki-67 proliferation index. **J. Thorac. Oncol.**, v. 3, n. 9, p. 971-978, 2008.

VESSELLE, H. *et al.* In vivo validation of 3'-deoxy-3'- [(18)F] fluorothymidine [(18)F] FLT as a proliferation imaging tracer in humans: correlation of [(18)F] FLT uptake by positron emission tomography with Ki-67 immunohistochemistry and flow cytometry in human lung tumors. **Clin. Cancer Res.**, v. 8, n. 11, p. 3315-3323, 2002.

WALKER, C. M. *et al.* Mediastinal lymph node staging: from noninvasive to surgical. **AJR Am. J. Roentgenol.**, v. 199, n. 1, p. W54-64, 2012.

WU, T. *et al.* Relationship between GLUT1, GLUT-3 expression and fluorodeoxyglucose uptake in NSCLC and benign pulmonary lesion. **Zhongguo Fei Ai Za Zhi**, v. 11, n. 4, p. 555-558, 2008.

YAMAMOTO, Y. *et al.* Correlation of 18F-FLT and 18F-FDG uptake on PET with Ki-67 immunohistochemistry in non-small cell lung cancer. **Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging**, v. 34, n. 10, p. 1610-1616, 2007.

YOUNES, *et al.* Immunohistochemical detection of Glut3 in human tumors and normal tissues. **Anticancer Res.**, v. 17, n. 4A, p. 2747-2750, 1997.

ZUGAZAGOITIA, J. *et al.* The new IASLC/ATS/ERS lung adenocarcinoma classification from a clinical perspective: current concepts and future prospects. **J. Thorac. Dis.**, v. 6, n. S5, p.S526-S536, 2014.

ANEXO I

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE
DO SUL - PUC/RS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Emprego do [18F]FDG em PET/CT no Sistema Único de Saúde como alternativa de método não-invasivo para diagnóstico e estadiamento do câncer de pulmão.

Pesquisador: Carlos Cezar Fritscher

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 30315114.5.0000.5336

Instituição Proponente: UNIAO BRASILEIRA DE EDUCACAO E ASSISTENCIA

Patrocinador Principal: MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 641.287

Data da Relatoria: 07/05/2014

Apresentação do Projeto:

O projeto visa demonstrar a utilidade do (18F)FDG em PET/CT para o estadiamento do câncer de pulmão não de pequenas células com a finalidade de sua utilização no SUS para menor risco na investigação dos pacientes. Retorno por pendências.

Objetivo da Pesquisa:

Validar o uso de (18F)FDG - PET/CT como método não invasivo de estadiamento do câncer de pulmão em pacientes do SUS (câncer de pulmão não de pequenas células)

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Critérios de inclusão e exclusão definidos e referidos os riscos do PET/CT de corpo inteiro.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Importante face a possibilidade do paciente não necessitar procedimento cirúrgico para o estadiamento da neoplasia.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados.

Recomendações:

Pendências resolvidas.

Endereço: Av. Ipiranga, 6690, prédio 60, sala 314
Bairro: Partenon **CEP:** 90.610-900
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3320-3345 **Fax:** (51)3320-3345 **E-mail:** cep@puors.br

APÊNDICE A – ROTEIRO PARA AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

I- Dados Gerais (todos os campos são de preenchimento obrigatório)

Iniciais do Paciente: _____ * Colocar as iniciais em letra maiúscula

Número do Prontuário: _____

Números dos exames anatomopatológicos: _____

Números dos exames imuno-histoquímicos: _____ *Se não realizado, considerar “NA”

II-Neoplasia Pulmonar

	Tipo Histológico	Tamanho da neoplasia	Necrose	Percentagem de necrose
Neoplasia Pulmonar				

III-Linfonodos Mediastinais

	Metástases	Percentagem Neoplasia	Tamanho da Neoplasia	Padrão Histológico Predominante	Padrão Histológico Secundário	Granulomas	Percentagem de antracose	Percentagem de Fibrose
2R								
2L								
4R								
4L								
7								
HD								
HE								
AP								
Outro								

IV-Evolução do Paciente

	Data do diagnóstico histológico	Sem evidência de recidiva	Recidiva/ Progressão	Óbito	Data do óbito
Paciente					

Nome do Responsável: _____ Assinatura: _____ Data: ___/___/___

APÊNDICE B - LEGENDA DE AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

Neoplasia Pulmonar

Tipo histológico:

- (1) Adenocarcinoma
- (2) Carcinoma epidermóide
- (3) Outros

Tamanho da neoplasia: medida em centímetros

Necrose: (1) Sim (2) Não

Percentagem de necrose: avaliação da extensão da neoplasia comprometida por necrose tumoral através da avaliação das áreas em todas as lâminas histológicas representativas da neoplasia primária.

Linfonodos Mediastinais

Metástases: (1) Sim (2) Não

Linfonodos Neoplásicos

Percentagem da neoplasia: avaliação da percentagem de ocupação do linfonodo ou fragmento de linfonodo por neoplasia (%).

Tamanho da neoplasia metastática nodal: medida no maior eixo em milímetros.

Linfonodos Não neoplásicos

Padrões histológicos (Predominante e Secundários)

- (0) não avaliável – linfonodo ocupado por neoplasia
- (1) hiperplasia folicular
- (2) hiperplasia paracortical
- (3) histiocitose sinusal
- (4) histiocitose com extensão paracortical
- (5) histiocitose com ocupação de todo amostra nodal
- (6) linfonodo normal

Granulomas: (1) Sim (2) Não

Porcentagem de antracose: avaliação da porcentagem de ocupação do linfonodo ou fragmento de linfonodo por pigmento (%). Sem antracose, considerar zero (0%).

Porcentagem de fibrose: avaliação da porcentagem de ocupação do linfonodo ou fragmento de linfonodo por fibrose (%). Sem fibrose, considerar zero (0%).

2R	Linfonodo paratraqueal alto direito
2L	Linfonodo paratraqueal alto esquerdo
4R	Linfonodo paratraqueal baixo direito
4L	Linfonodo paratraqueal baixo esquerdo
7	Linfonodo subcarinal
HD	Linfonodo hilar direito
HE	Linfonodo hilar esquerdo
AP	Linfonodo da janela aortopulmonar
Outro	

Evolução do paciente

Data do diagnóstico histológico de neoplasia: dia/mês/ano

(1) Sem evidência de recidiva (último registro: dia/mês/ano)

(2) Recidiva/Progressão (último registro: dia/mês/ano)

(3) Óbito/ Data do óbito: dia/mês/ano (verificar se estava relacionado ao diagnóstico)

(4) Evolução clínica desconhecida

APÊNDICE C – ROTEIRO PARA AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA

I- Dados Gerais (todos os campos são de preenchimento obrigatório)

Iniciais do Paciente: _____ * Colocar as iniciais em letra maiúscula Número do Prontuário: _____
 Números dos exames anatomopatológicos: _____

II-Linfonodos Mediastinais

	GLUTi	GLUTp	EIR	GLUTt	Ki67p	Ki67t	AE1AE3p	AE1AE3t
2R								
2L								
4R								
4L								
7								
HD								
HE								
AP								
Outro								

III- Evolução do Paciente (Reavaliação)

	Data do diagnóstico histológico	Sem evidência de recidiva	Recidiva/Progressão	Óbito	Data do óbito
Paciente					

Nome do Responsável: _____ Assinatura: _____ Data: ___/___/___

APÊNDICE D - LEGENDA DE AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA

- **Expressão de GLUT1**

Nível de intensidade da coloração (GLUTi):
--

- 0 pontos, sem coloração
- 1 ponto, coloração fraca
- 2 pontos, coloração forte

Porcentagem de células positivas (GLUTp):

- 0%, 0 pontos
- <10%, 1 ponto
- 11–50%, 2 pontos
- 51–80%, 3 pontos
- > 80%, 4 pontos

Score de imunorreatividade (EIR):

- negativo (0 pontos)
- fraco (1– 2 pontos)
- moderada (3 a 4 pontos)
- forte (6 a 8 pontos)

EIR = Nível de intensidade da coloração x Porcentagem de células positivas

Topografia (tipo celular) com positividade predominante no linfonodo (GLUTt)
--

- 0 Nenhuma marcação positiva
- 1 Células neoplásicas
- 2 Células não neoplásicas - Linfócitos foliculares
- 3 Células não neoplásicas - Linfócitos extrafoliculares
- 4 Células não neoplásicas – Histiócitos
- 5 Células não neoplásicas - Outras

- **Ki67**

Porcentagem de células positivas (Ki67p):

Geral: 0% - 100%

Topografia (tipo celular) com positividade predominante no linfonodo (Ki67t):

- 0 Nenhuma marcação positiva
1. Células neoplásicas
2. Células não neoplásicas - Linfócitos foliculares
3. Células não neoplásicas - Linfócitos extrafoliculares
4. Células não neoplásicas – Histiócitos
5. Células não neoplásicas - Outras

- **AE1AE3**

Porcentagem de células positivas (AE1AE3p):

Geral: 0% - 100%.

Topografia (tipo celular) com positividade predominante no linfonodo (AE1AE3t):

0. Nenhuma marcação positiva
1. Células neoplásicas
2. Células não neoplásicas - Linfócitos foliculares
3. Células não neoplásicas - Linfócitos extrafoliculares
4. Células não neoplásicas – Histiócitos
5. Células não neoplásicas – Outras

APÊNDICE E – GENERALIDADES

Caso: indivíduo

Idade: em anos

Sexo: (1) Masculino; (2) Feminino

Fumo: (1) Fumante; (2) Ex-fumante; (3) Nunca fumante

Número de cigarros/dia: unidades

Tempo de tabagismo: anos

PET/CT: Impressão diagnóstica quanto à linfonomegalia mediastinal

(1) Doença nodal em atividade

(2) Doença nodal sem atividade

(3) Comentário ou laudo indisponível

Maior captação do pulmão: em SUV (zero é igual a: sem captação)

Pulmão D e E: (1) Direito; (2) Esquerdo

Valor de SUV Pulmão direito: em SUV (zero é igual a: sem captação)

Valor de SUV Pulmão esquerdo: em SUV (zero é igual a: sem captação)

Metástases detectada durante investigação diagnóstica e/ou evolução diagnóstico:

(0) Ausente

(1) Hematogênica

(2) Linfonodal

(3) Extensão direta

(4) Extensão pleural

(5) Linfonodos extratorácicos

Estadiamento: TNM

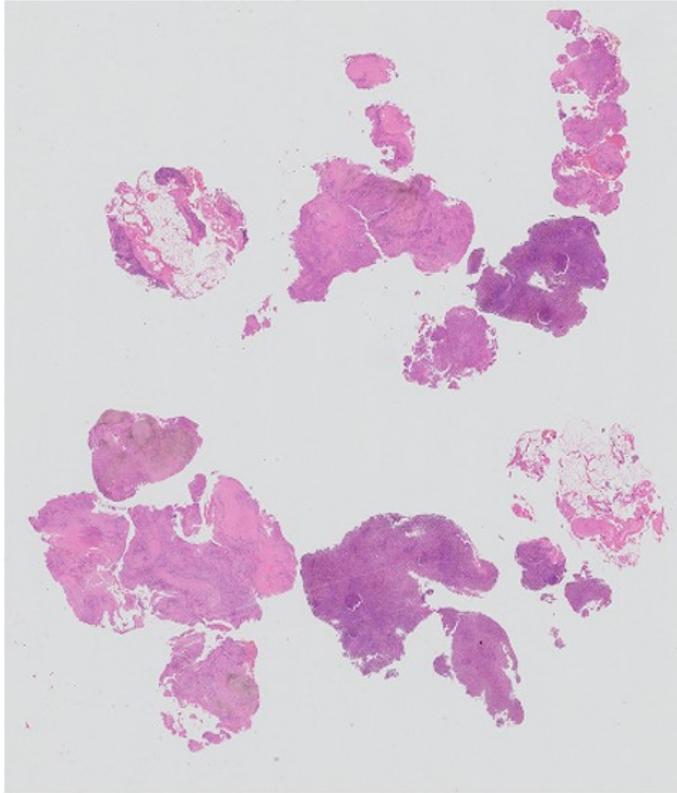
A avaliação do valor de SUV dos linfonodos mediastinais foi realizada segundo três critérios:

(1) captação/não captação: (1) Positivo; (2) Negativo

(2) captação maior que do fígado: 1) Sim; (2) Não

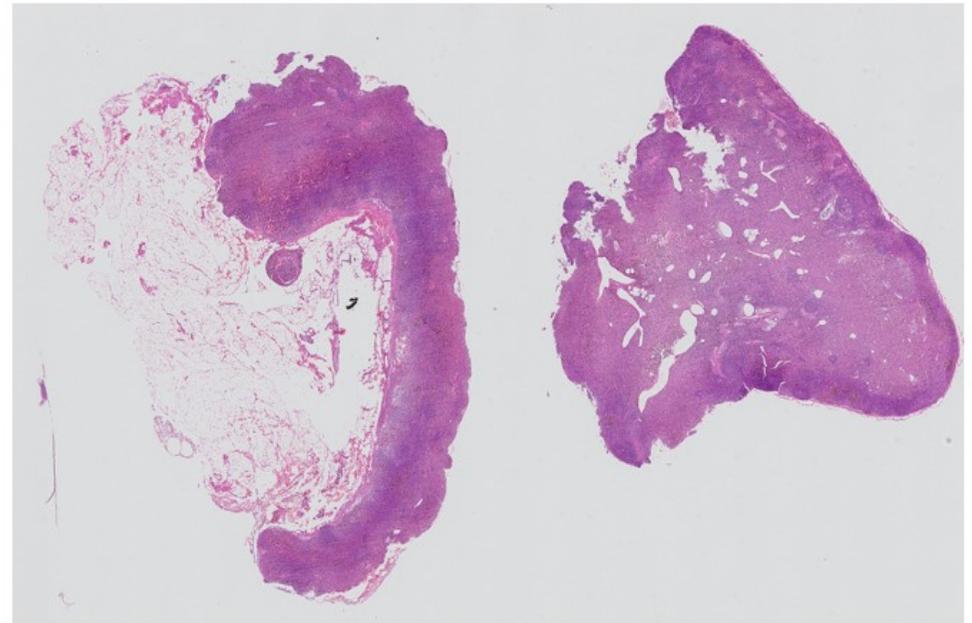
(3) captação maior ou igual a 2,5: 1) Sim; (2) Não

APÊNDICE F – DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA



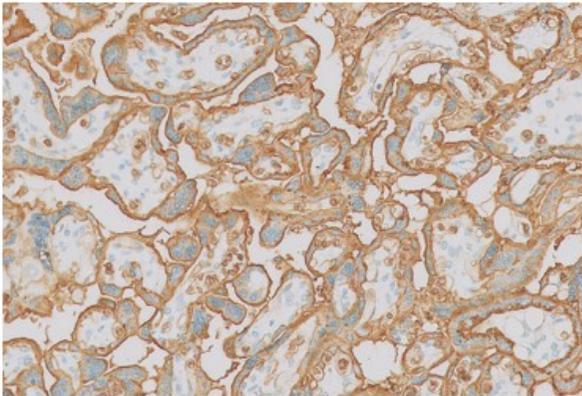
Amostra fragmentada

Tipos de amostras

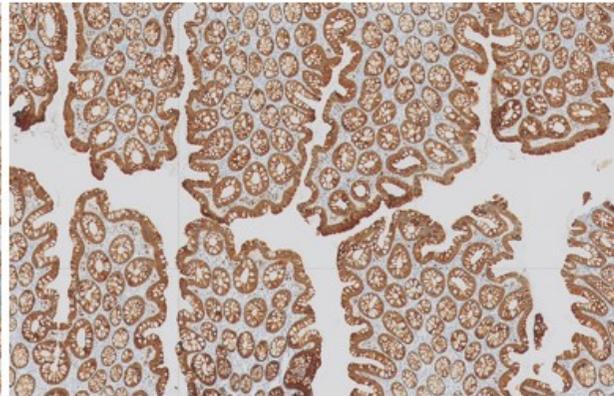


Amostra íntegra

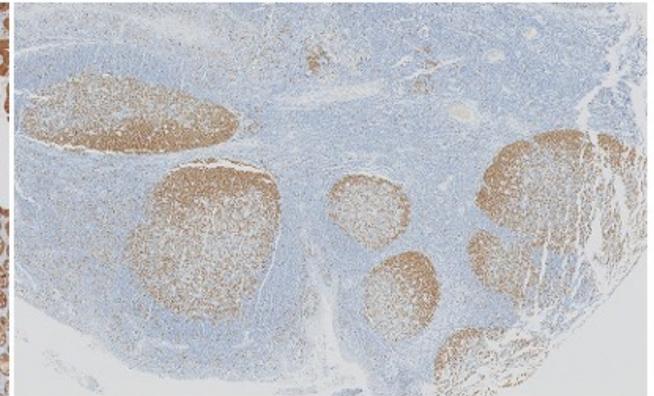
Controles Externos



Placenta – GLUT1

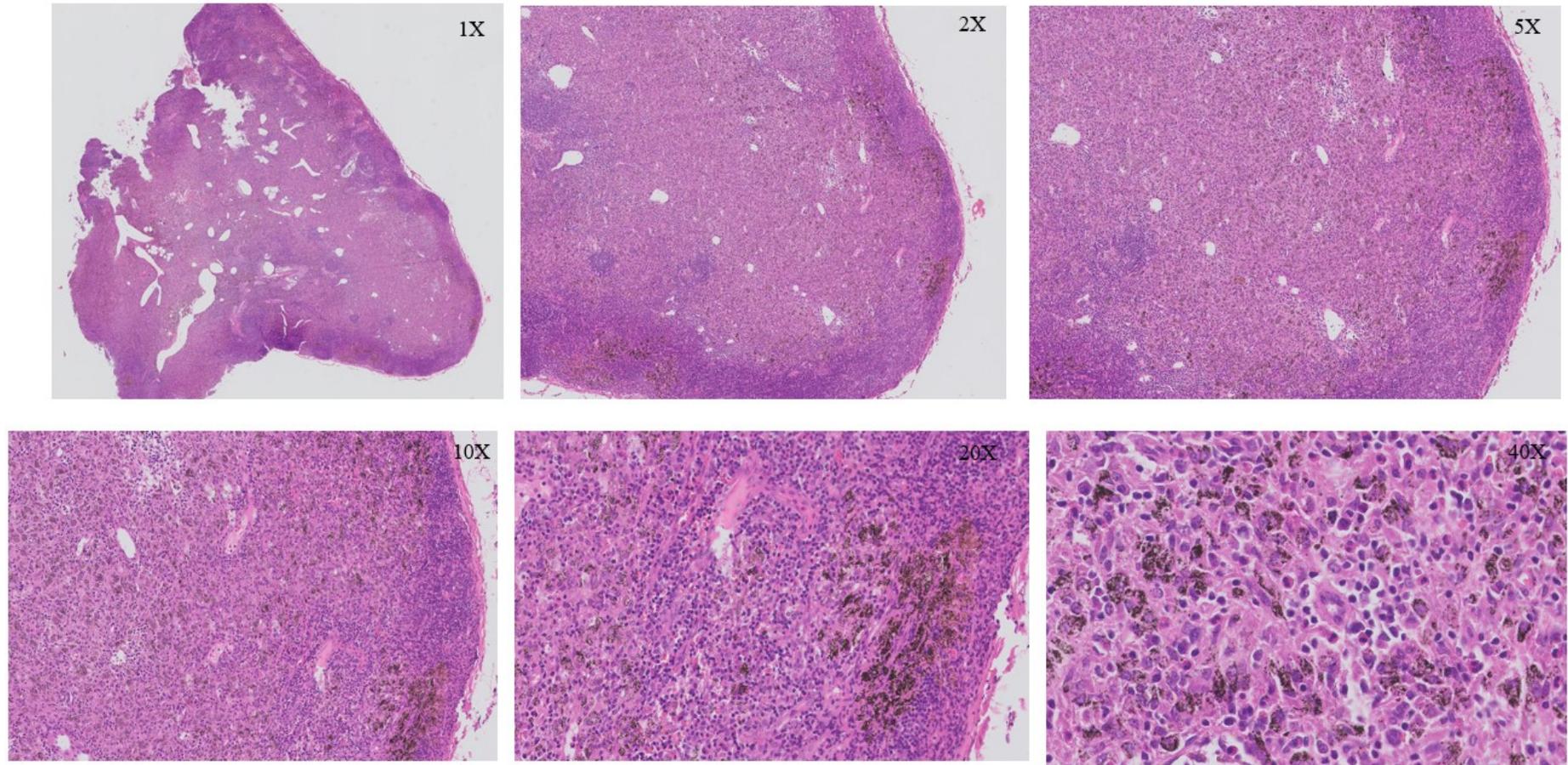


Intestino – AE1/AE3

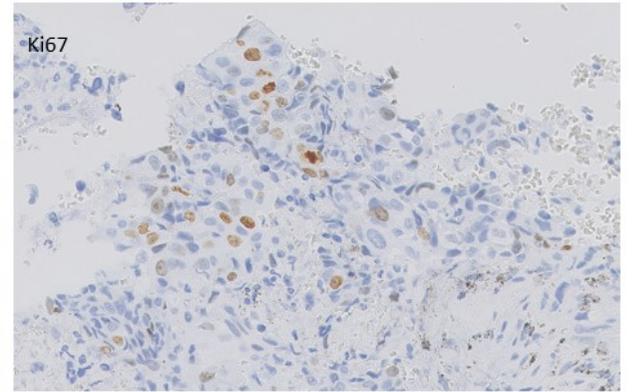
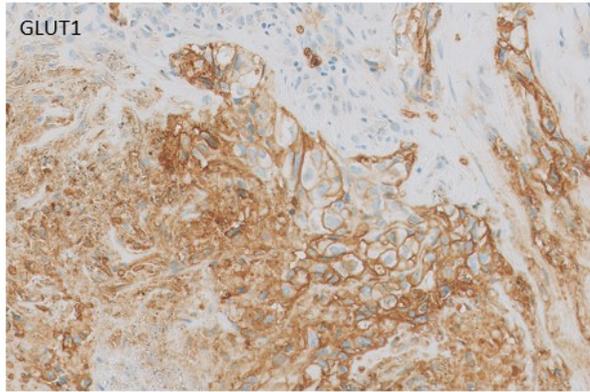
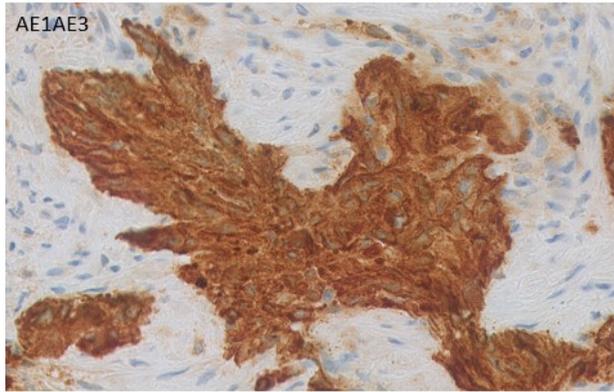
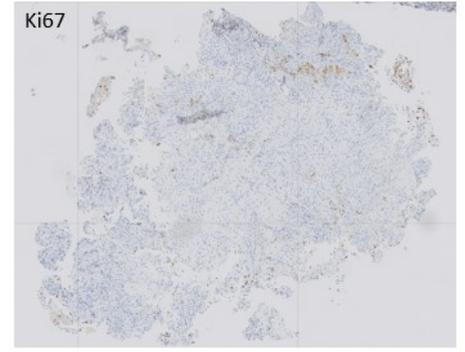
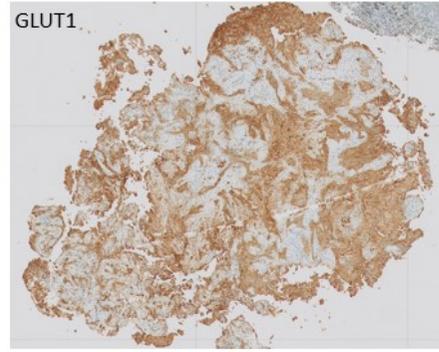
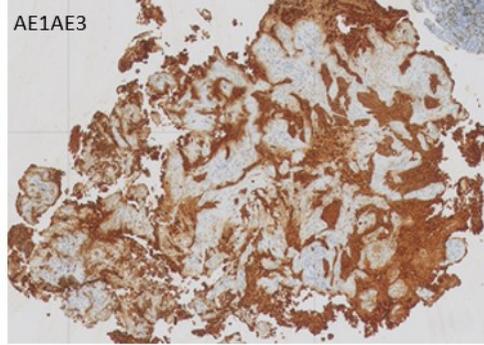
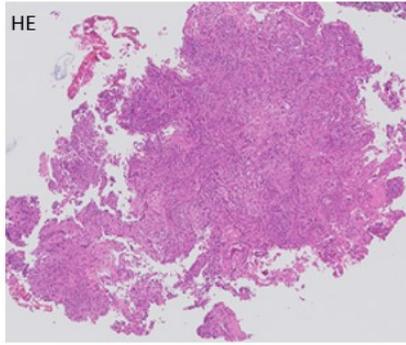


Amigdala – Ki67

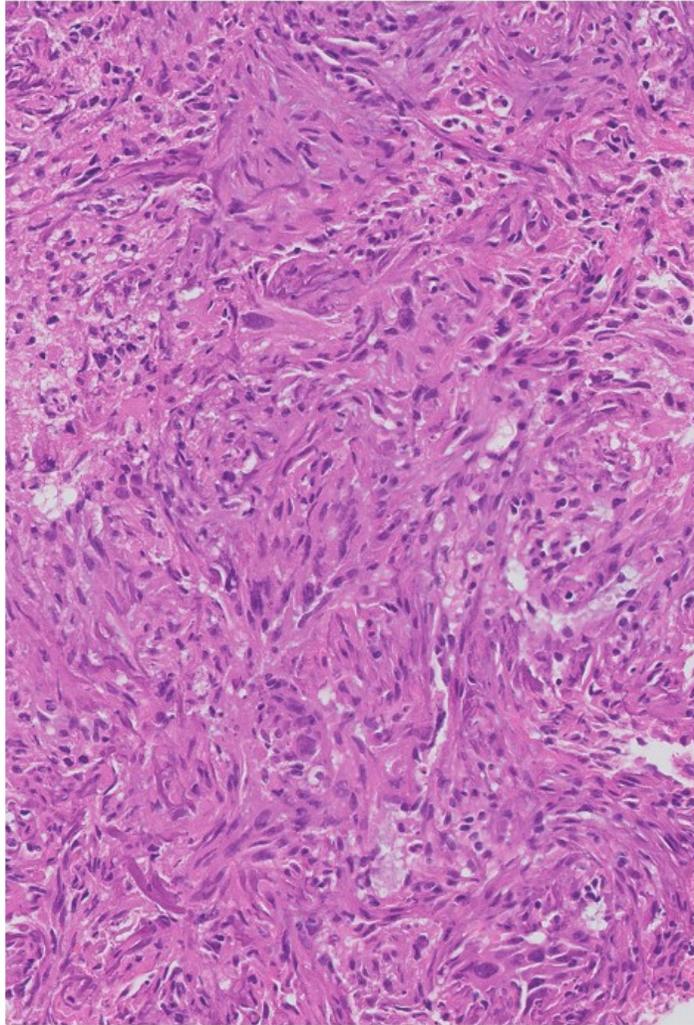
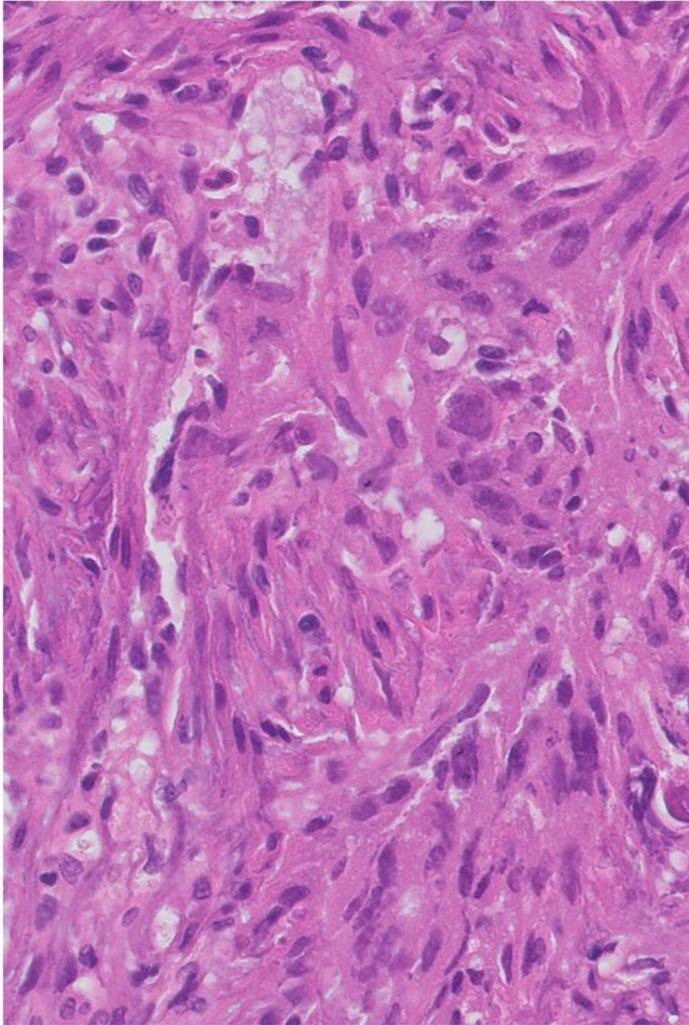
Histiocitose com extensão paracortical e antracose



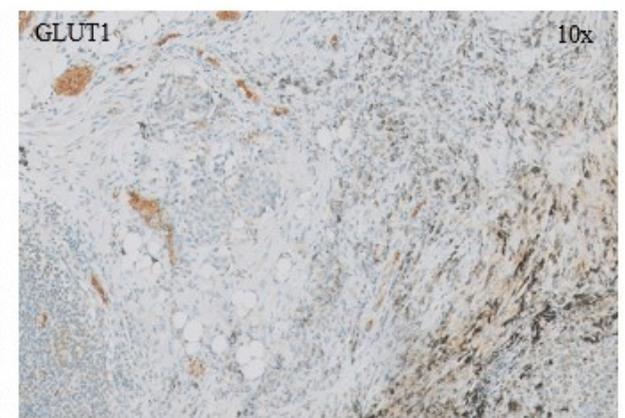
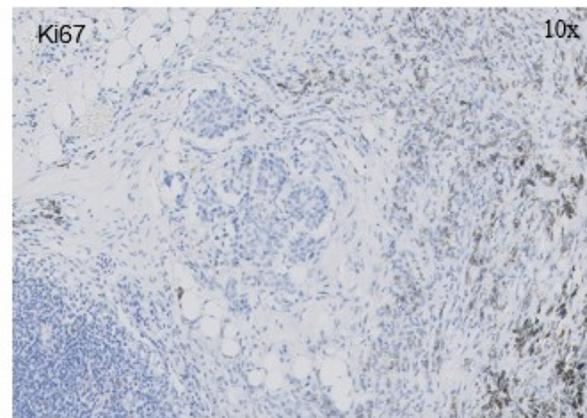
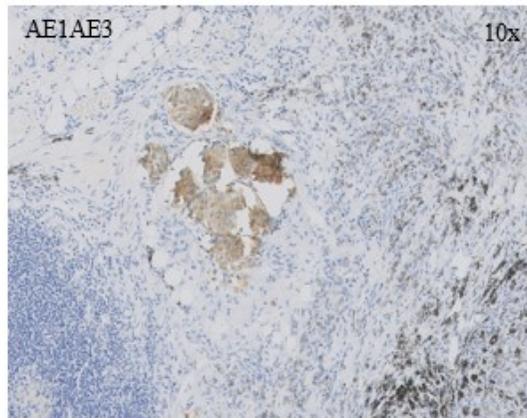
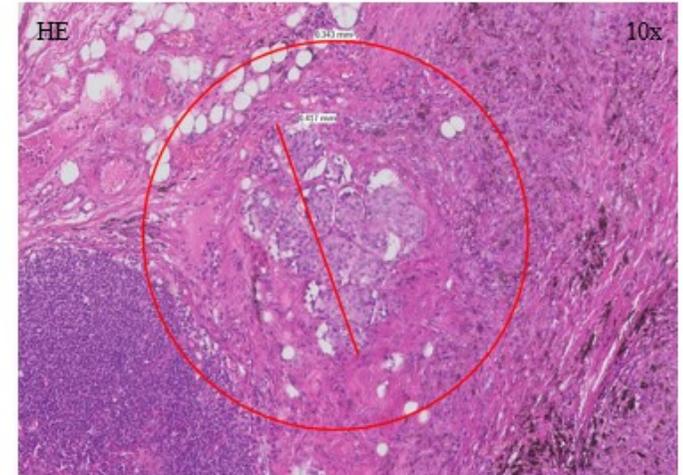
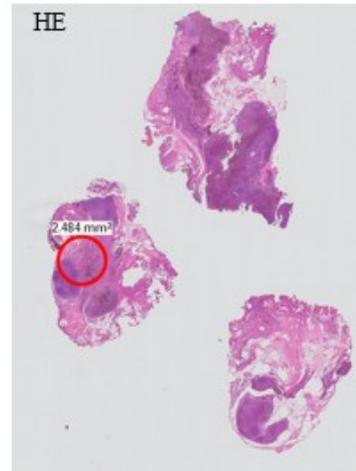
Verdadeiro Positivo (Caso 8): Metástase nodal por carcinoma com positividade para marcadores de epitélio (AE1AE3), metabolismo celular (GLUT1) e proliferação celular (Ki67). Observa-se marcação para citoqueratina com anticorpo para AE1AE3 corroborando com metástase nodal observada e ressalta-se metabolismo celular através das marcações para GLUT1 em detrimento de proliferação celular com marcação para Ki67. Linfonodo de cadeia 7 com SUV1h e SUV2h ao PET de 12,6 e 13,8, respectivamente; tamanho de linfonodo de 1,9cm à TC e marcação para anticorpos: GLUT1 (GLUTi2, GLUTp4 e EIR8), Ki67 (Ki67p30 e Ki67t1) e AE1AE3(AE1AE3p90 e AE1AE3t1).

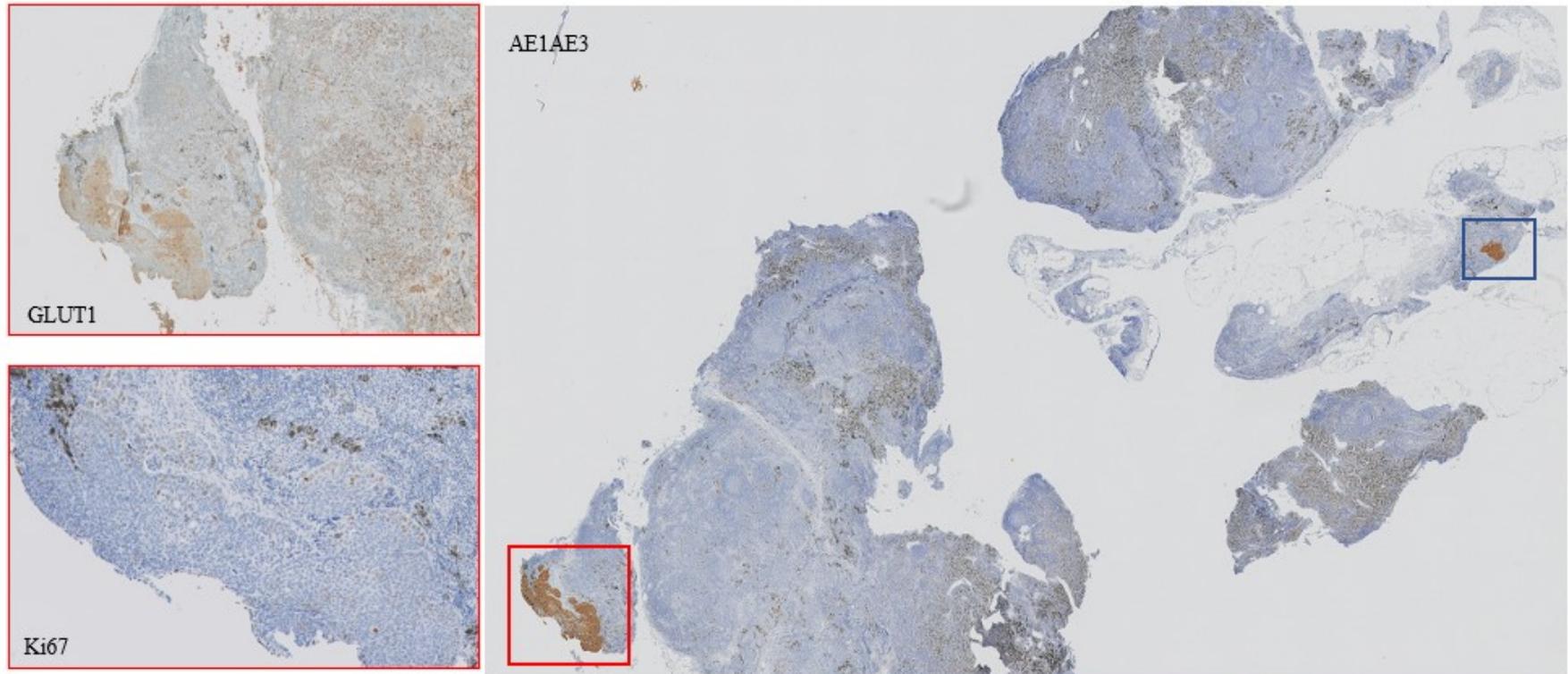


Verdadeiro Positivo (Caso 8): Metástase nodal por adenocarcinoma

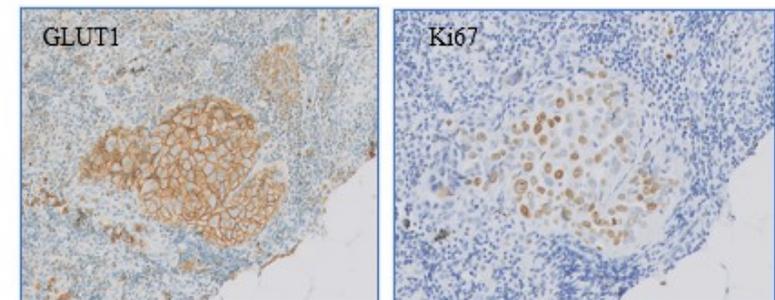


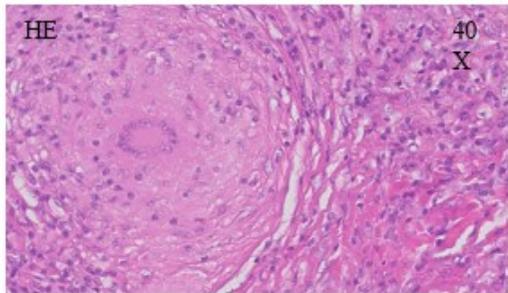
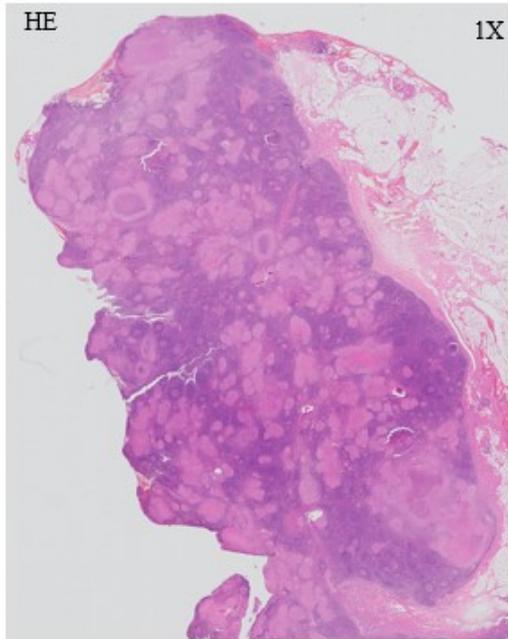
Falso negativo (Caso 14): Metástase nodal por carcinoma com positividade para marcador de epitélio (AE1AE3). Além do reduzido tamanho da neoplasia (0,417 mm no maior eixo), observa-se baixa proliferação celular e baixo metabolismo celular através das marcações para Ki67 e GLUT1. Linfonodo sem captação ao PET com resultados de GLUT1 (GLUTi0, GLUTp0 e EIR0), Ki67 (Ki67p1 e Ki67t1) e AE1AE3 (AE1AE3p95 e AE1AE3t1).



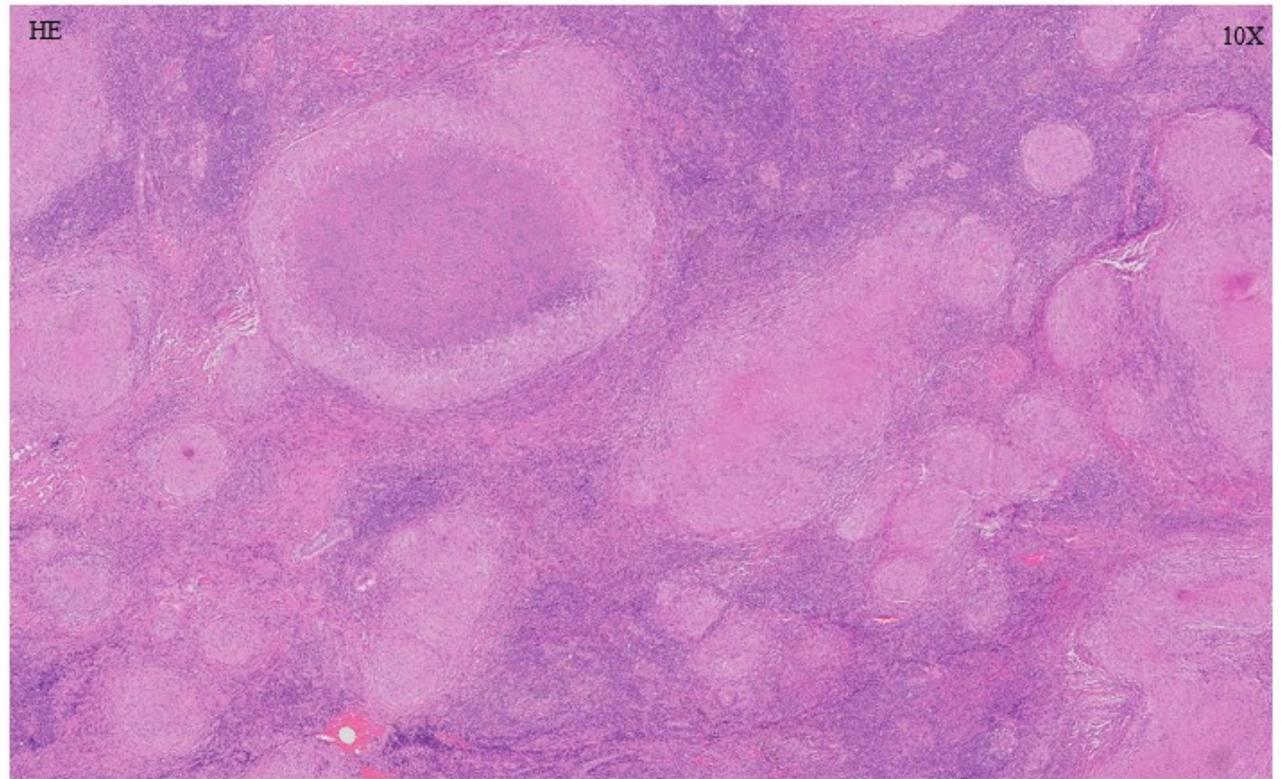


Falso negativo (Caso 40): continuação. Linfonodo sem captação ao PET com resultados de GLUT1 (GLUT1₂, GLUT1₄ e EIR8), Ki67 (Ki67_{p10} e Ki67_{t1}) e AE1/AE3 (AE1/AE3_{p100} e AE1/AE3_{t1}). Embora esteja evidente alto metabolismo celular demonstrado pela marcação máxima com GLUT, a neoplasia apresenta tamanho pequeno, provável causa da falsa negatividade. Foco maior e menor, em vermelho e em azul, respectivamente.

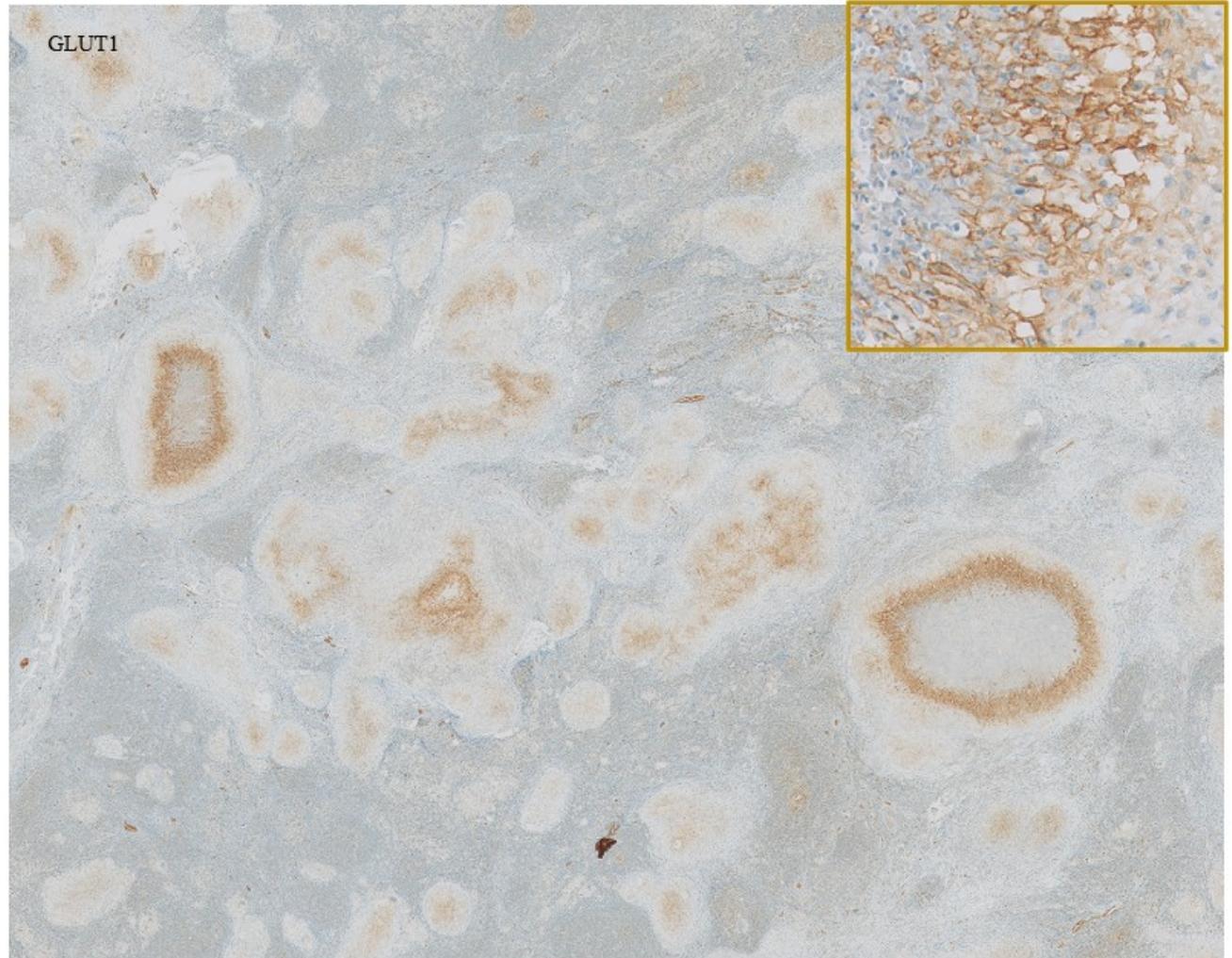
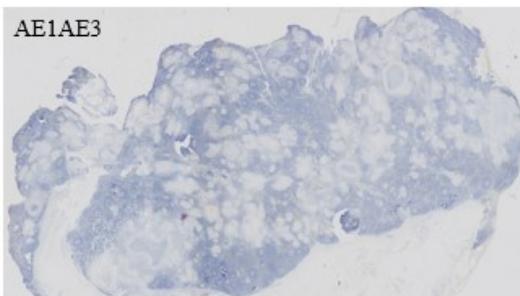
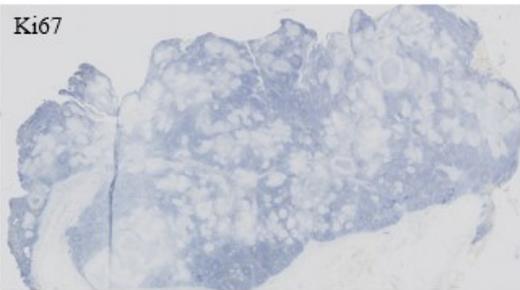
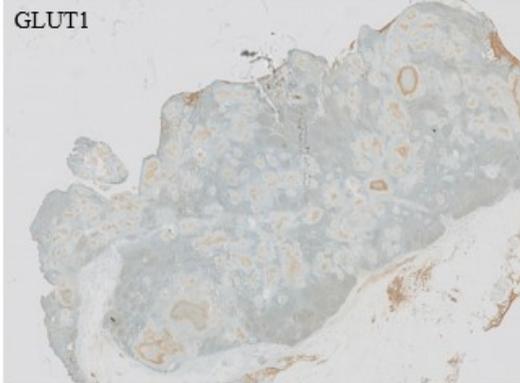


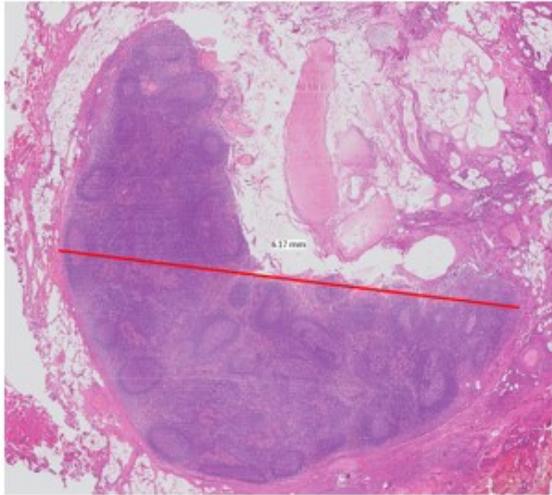


Falso Positivo (Caso 78): Granulomas do tipo imune, por vezes com necrose central. Linfonodo de cadeia 4R com SUV1h e SUV2h ao PET de 7,3 e 9,2, respectivamente; tamanho de linfonodo de 2,2 cm à TC e marcação para anticorpos: GLUT1 (GLUTi2, GLUTp2 e EIR4), Ki67 (Ki67p10 e Ki67t4) e AE1AE3 (AE1AE3p0 e AE1AE3t0).

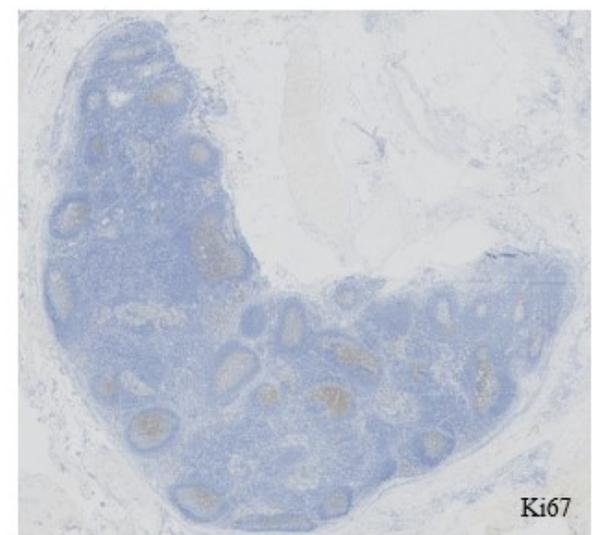
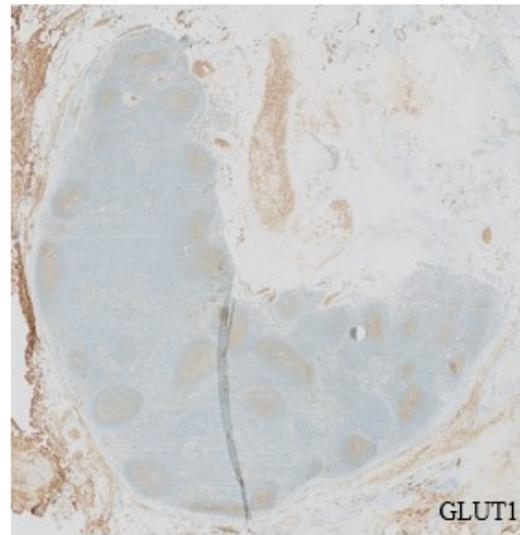
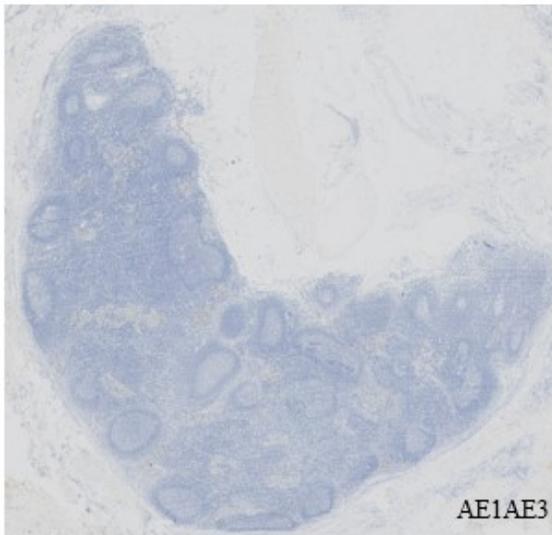
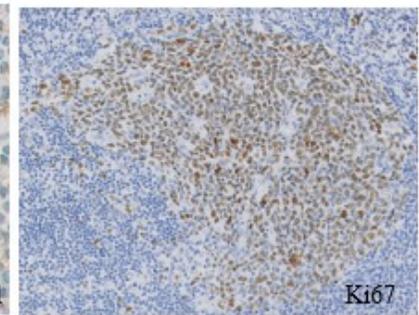
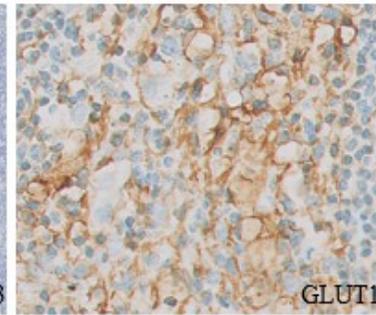
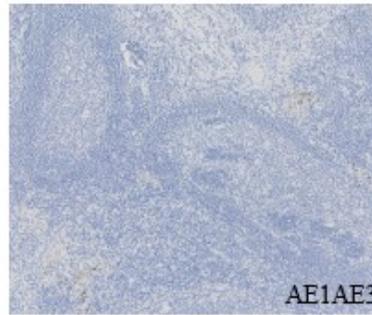


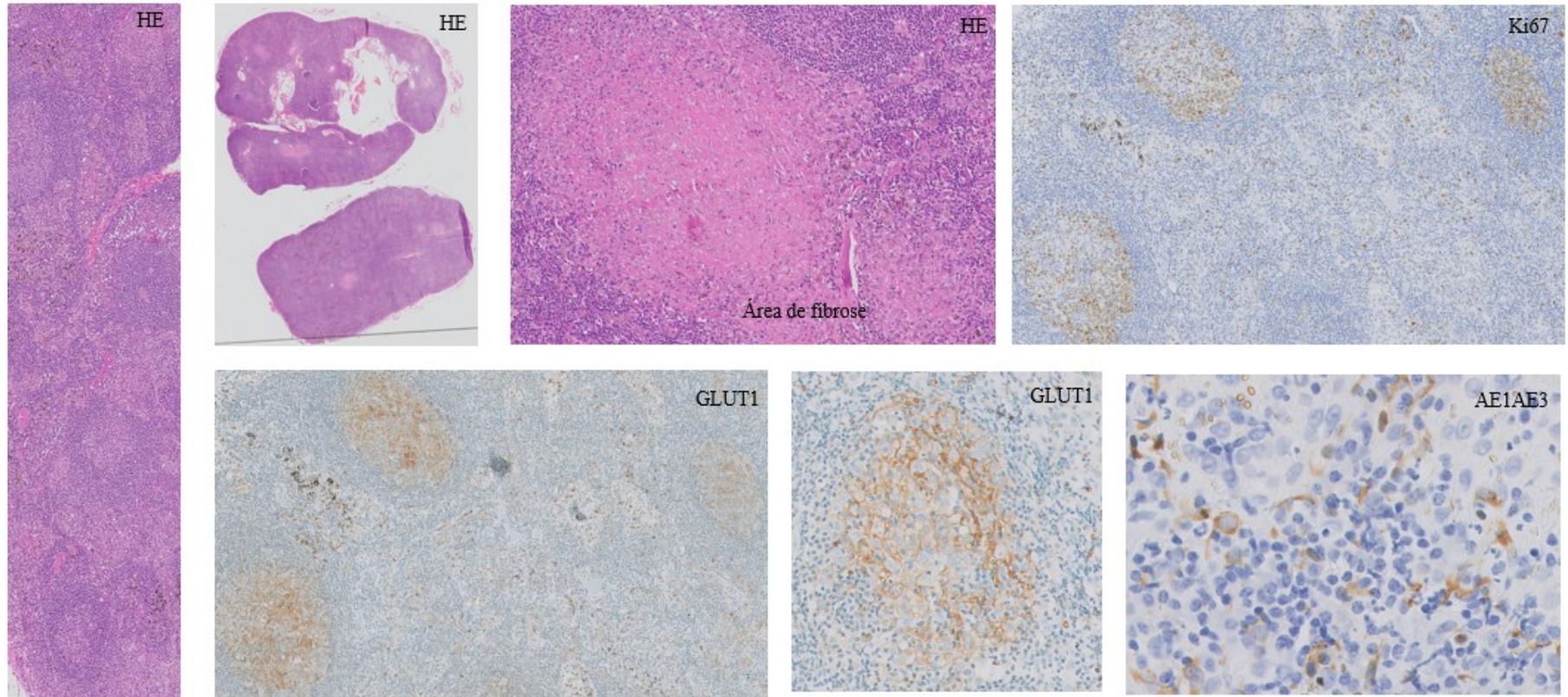
Falso Positivo (Caso 78): continuação.



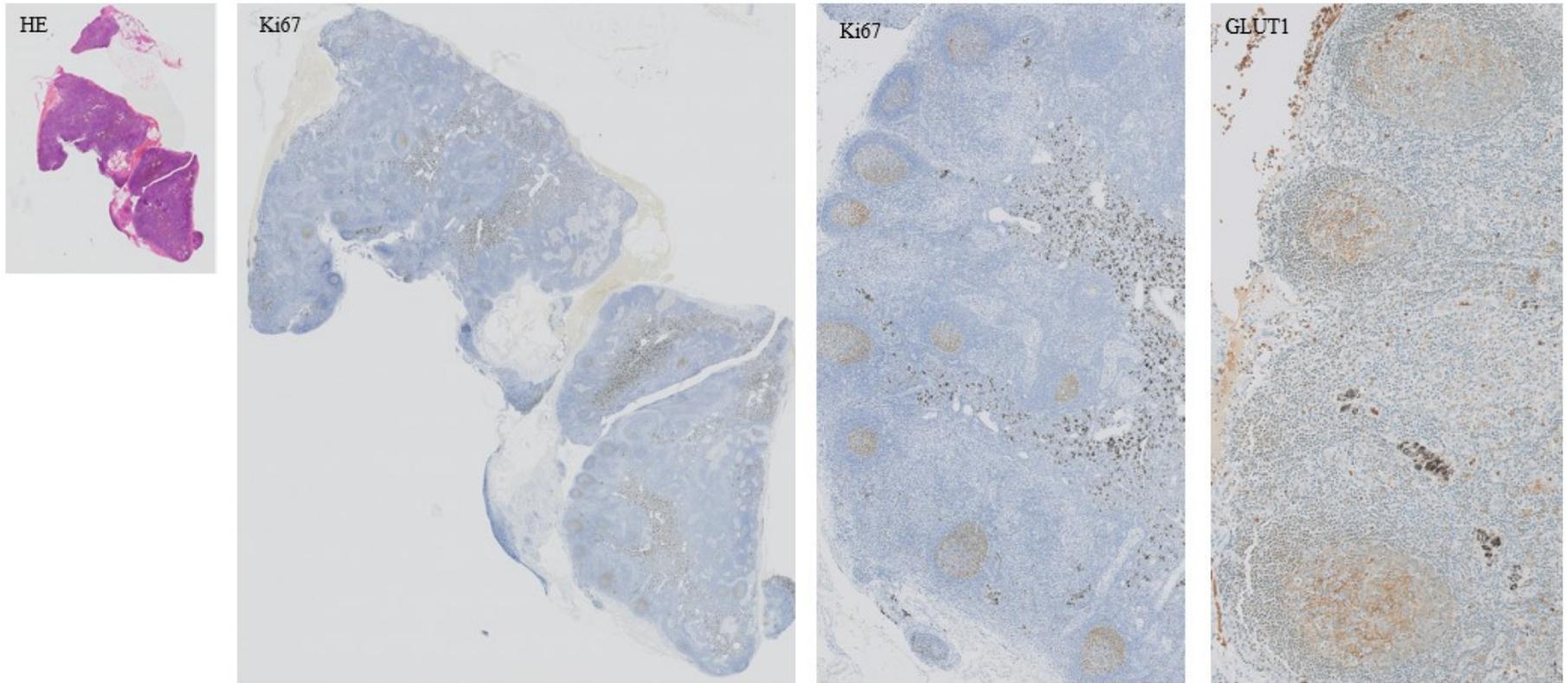


Falso Positivo (Caso 25): Hiperplasia linfoide folicular. Linfonodo de cadeia HD com SUV1h e SUV2h ao PET de 8,4 e 4,6, respectivamente; marcação para anticorpos: GLUT1 (GLUTi1 GLUTp2 e EIR2), Ki67 (Ki67p20 e Ki67t2) e AE1AE3 (AE1AE3p0 e AE1AE3t0).



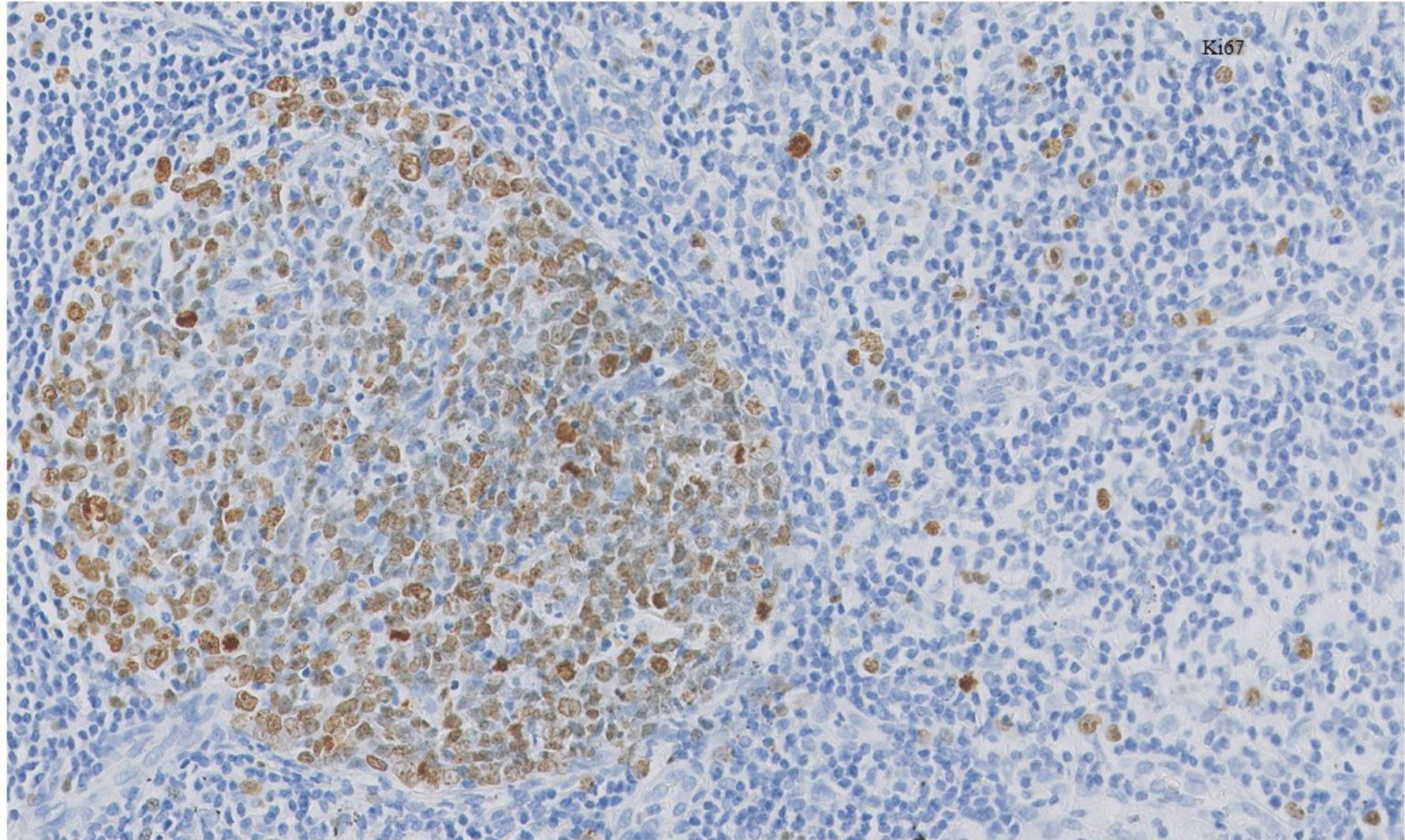


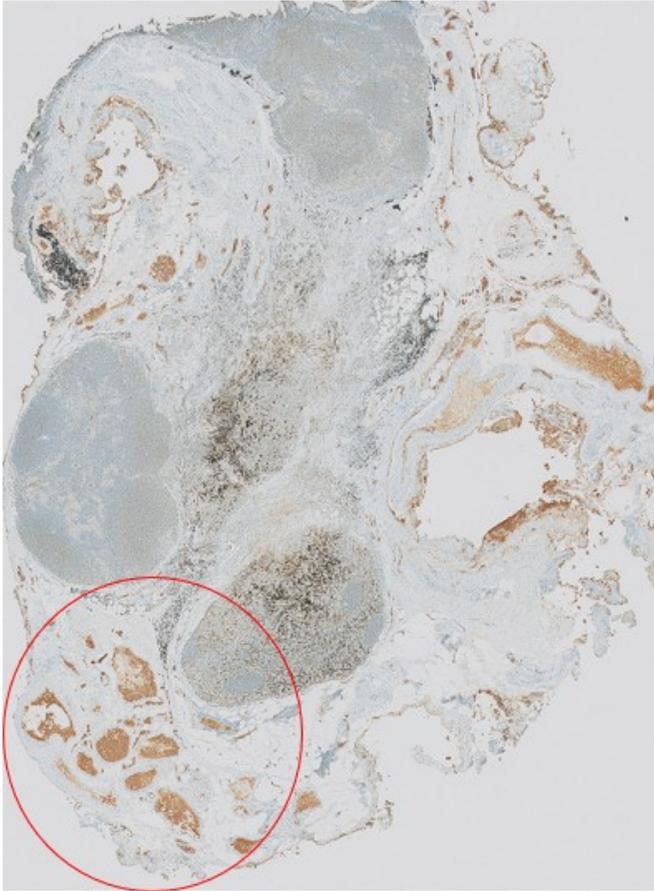
Verdadeiro Negativo (Caso 55): Linfonodo de cadeia 2L com SUV1h e SUV2h ao PET sem captação e com marcação para anticorpos: GLUT1 (GLUTi2, GLUTp1 e EIR2), Ki67 (Ki67p20 e Ki67t2) e AE1/AE3 (AE1/AE3p10 e AE1/AE3t5). Apesar da marcação para Ki67 e GLUT1 em folículos linfoides, não houve captação no PET; observou-se marcação em células dendríticas para citoqueratina AE1/AE3.



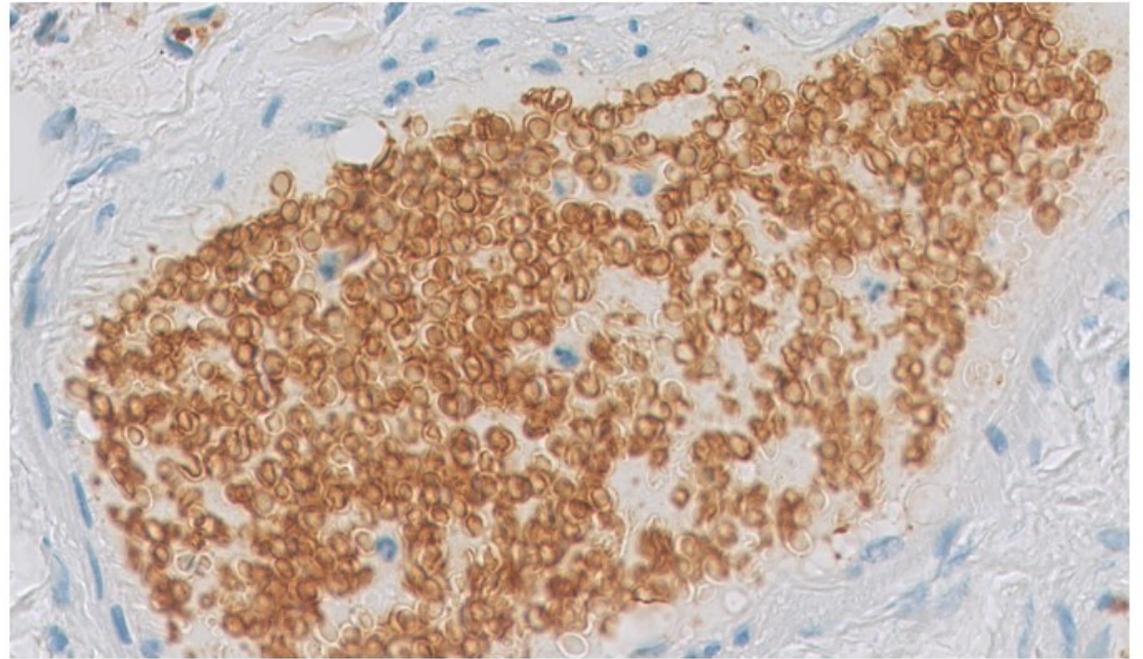
Verdadeiro Negativo (Caso 40): Linfonodo de cadeia 7 sem captação ao PET e medindo 1,6 cm à TC; marcação para anticorpos: GLUT1 (GLUTi2, GLUTp1 e EIR2), Ki67 (Ki67p10 e Ki67t2) e AE1AE3 (AE1AE3p1 e AE1AE3t1). Apesar da marcação para Ki67 e GLUT1 em folículos linfóides secundários, não houve captação no PET.

Verdadeiro Negativo (Caso 40): continuação. Positividade em folículo linfoide e em imunoblastos no tecido linfoide perifolicular.





Outros achados: Observa-se positividade em hemácias para transportadores de glicose (GLUT-1)



Outros achados: Observa-se positividade em perineuro para transportadores de glicose (GLUT-1)

