



## Abordagem prática para o diagnóstico histopatológico de carcinoma pulmonar na Era da Medicina Personalizada

[palestra ministrada pelo Dr. José Vassallo em 07/12/2016 aos Oncologistas de Campinas, SP, em reunião apoiada pela AstraZeneca Brasil]

### **Resumo**

Neste artigo são apresentados aspectos práticos que a equipe de Oncologia, em particular o Patologista, deve levar em consideração para maximizar o sucesso no processo que vai da obtenção da amostra para diagnóstico histopatológico até a sua caracterização molecular, com vistas à utilização das novas opções terapêuticas alvo-dirigidas.

Como proceder em um cenário em que cada vez mais informações são necessárias, com cada vez menos material obtido por biópsia? Esta é uma pergunta importante tanto para o Oncologista, como para o Patologista, em particular no tratamento do carcinoma pulmonar.

Além do diagnóstico histopatológico convencional adequado, existem opções terapêuticas dirigidas a alvos moleculares, que podem beneficiar pacientes com carcinoma pulmonar com alterações nos genes EGFR (*epithelial growth factor receptor*) e ALK (*anaplastic lymphoma kinase*).

**Portanto, os tecidos devem ser colhidos e processados não apenas para o diagnóstico convencional, mas para maximizar a quantidade de tecido disponível para estudos moleculares!**

Em relação à **escolha do local de coleta de biópsia**, deve-se considerar que tanto o tumor primário como a metástase são igualmente adequados; deve-se evitar massas necróticas ou metástases ósseas; quando houver múltiplos tumores primários sincrônicos, todos podem ser testados.

### **ASPECTOS TÉCNICOS QUANTO À OBTENÇÃO DA AMOSTRA**

#### **Tipos de biópsia**

Transbrônquica: provê cerca de 75-95% de sensibilidade com 3 fragmentos ou mais, geralmente 4 a 5; a pinça com diâmetro de abertura de 2 mm deve ser preferida; fixar imediatamente em formalina tamponada a 10%; se o tumor for periférico, pode ser abordado usando-se técnicas de imagem.

Transtorácica: tem sensibilidade de 80-95% em nódulos periféricos; pode haver 2 a 4% de falsos negativos.



### **Tipos de exame citológico**

Citologia esfoliativa: lavado brônquico ou broncoalveolar; escovado brônquico

Citologia aspirativa: convencional; dirigida por ultra-som; dirigida por ultra-som endoscópico.

O líquido particulado residual para exame citológico pode ser incluído em parafina (citoinclusão). Este material é igualmente adequado para estudos imunoistoquímicos.

**Na prática, para lesões centrais, recomenda-se a associação de técnicas: biópsia transbrônquica e escovado brônquico.**

### **Fixação dos tecidos**

Os tecidos devem ser fixados em formalina tamponada neutra a 10%, de boa procedência. O volume de formalina deve ser 5 a 10 x maior que o do fragmento. Para pequenas biopsias o menor tempo de fixação deve ser de 6 horas. Atenção: não utilizar eosina para corar os fragmentos no bloco de parafina (este procedimento prejudica o FISH, pois causa excessiva autofluorescência).

Para fragmentos retirados de peças cirúrgicas, o tempo deve ser superior a 12 horas.

O tempo máximo de fixação é de 24 horas (idealmente), não devendo jamais ultrapassar 48 horas.

Fixadores à base de álcool são inadequados para a técnica de FISH (hibridização *in situ* fluorescente).

Fixadores à base de ácido pícrico (Bouin) são inadequados para extração de ácidos nucleicos e para o FISH.

## **BOAS PRÁTICAS PARA O LAUDO PATOLÓGICO DE CARCINOMA PULMONAR**

### **Como o patologista pode aprimorar seu laudo**

- classificar a neoplasia de acordo com a nomenclatura IASLC/ATS/ERS
- relatar se há estudo imunoistoquímico e de mucinas e em que medida estes achados modularam o diagnóstico morfológico convencional
- se houver outros laudos (por exemplo, citologia), rever todo material em conjunto e fazer um laudo consolidado
- se apropriado, comentar diagnósticos diferenciais
- se algum material for enviado para teste molecular, comentar e especificar qual lâmina ou bloco é mais apropriado para o teste
- não usar os termos “adenocarcinoma *in situ*” ou “microinvasivo” (termos que devem ser utilizados apenas na peça); se não houver representação de tumor francamente invasivo, utilizar o termo “com padrão de crescimento lepidico”
- não usar o termo “carcinoma de grandes células” (apenas na peça)
- não usar o termo “carcinoma não escamoso” (termo de uso mais clínico)



- se houver indícios de padrão sarcomatóide, comentar isto em “nota” e não no diagnóstico principal.

### **Como utilizar um painel imunoistoquímico racional para evitar desgaste excessivo do material**

- veja nos dois painéis seguintes, como utilizar um número limitado de marcadores em casos de carcinoma pouco diferenciado do pulmão, primeiro quando a morfologia for “não-pequenas-células” e outro para quando a morfologia sugerir “pequenas células”

#### **PAINEL ECONÔMICO PARA O DIAGNÓSTICO DE CARCINOMA NÃO PEQUENAS CÉLULAS DO PULMÃO: TTF1, proteína p63**

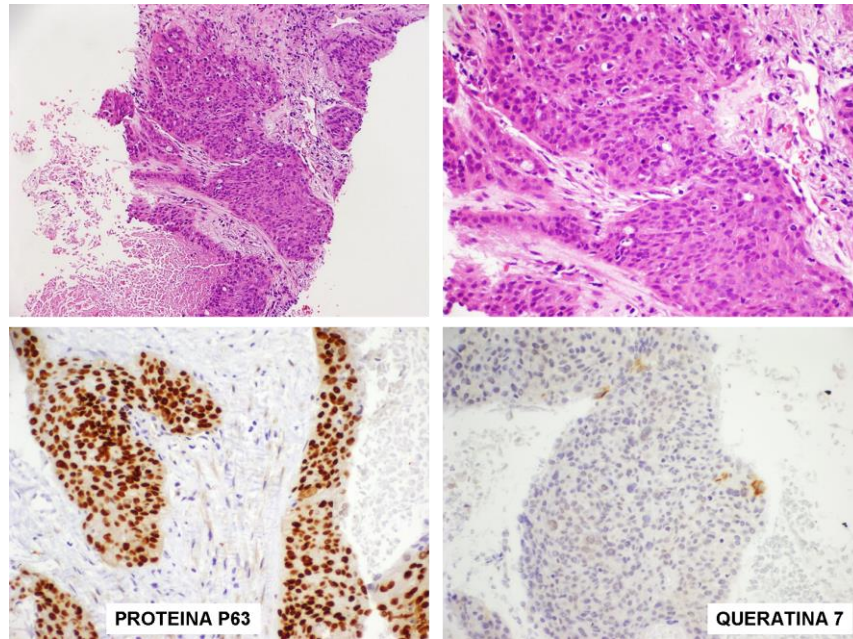
TTF1+, p63-	Adenocarcinoma
TTF1-, p63+	Carcinoma epidermóide
TTF1+, p63+	Carcinoma pouco diferenciado, sem outra especificação
TTF1-, p63-	Carcinoma pouco diferenciado, sem outra especificação

#### **PAINEL ECONÔMICO PARA O DIAGNÓSTICO DE CARCINOMA DE PEQUENAS CÉLULAS DO PULMÃO:**

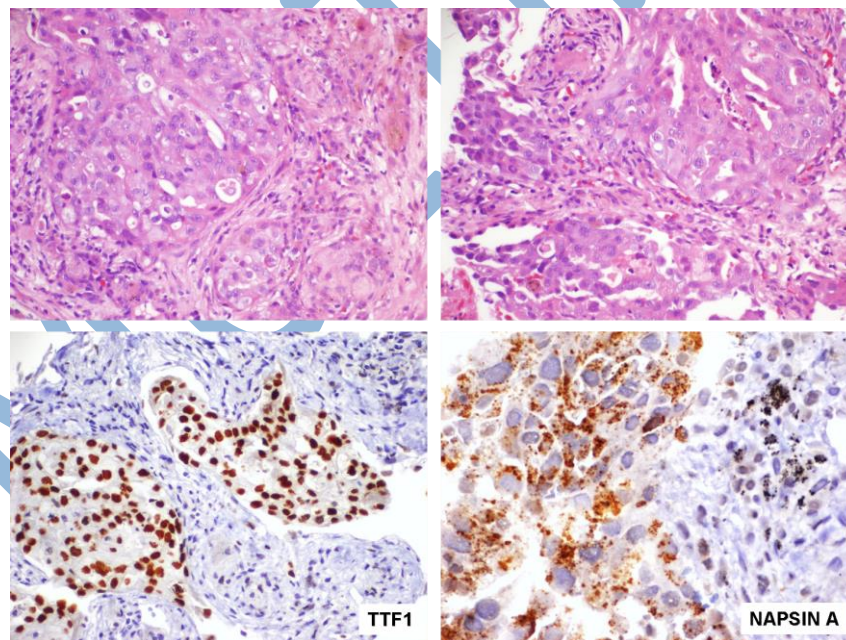
Positivos: TTF1, cromogranina, sinaptofisina, CD56

Panqueratina AE1/AE3, queratina de baixo peso molecular 8/18: positivo em padrão puntiforme paranuclear

- veja as imagens a seguir. O primeiro painel mostra um carcinoma epidermoide pouco diferenciado infiltrando o pulmão; verificar que a reação nuclear para proteína p63 é positiva e não há expressão de queratina 7.
- O segundo painel mostra um adenocarcinoma pouco diferenciado do pulmão, com positividade nuclear para TTF1 e granular no citoplasma das células neoplásicas.



**PAINEL 1: Carcinoma epidermóide pouco diferenciado infiltrando o pulmão.**



**PAINEL 2: Adenocarcinoma pouco diferenciado infiltrando o pulmão.**



- Para fragmentos maiores ou peças cirúrgicas, nos casos em que há necessidade de caracterização completa da neoplasia, nos casos em que o diagnóstico de carcinoma ainda não é seguro, ou que o diagnóstico de sítio primário pulmonar não é seguro, veja os painéis mais amplos:

#### PAINEL COMPLETO PARA O DIAGNÓSTICO DE CARCINOMA DO PULMÃO:

Adenocarcinoma	<p><i>Mais frequentemente positivos:</i> K7, TTF1, napsin A, 35BH11, 34BE12±</p> <p><i>Mais frequentemente negativos:</i> K20, 34BE12±</p>
Carcinoma epidermoide	<p><i>Mais frequentemente positivos:</i> 34BE12, p63, K5/6, K7±, 35BH11±</p> <p><i>Mais frequentemente negativos:</i> K20, TTF1, napsin A, K7±, 35BH11±</p>
Carcinoma pequenas células	<p><i>Mais frequentemente positivos:</i> TTF1, cromogranina, sinaptofisina, CD56, K7±, 35BH11± (padrão puntiforme paranuclear)</p> <p><i>Mais frequentemente negativos:</i> K20, napsin A, K5/6, p63</p>

#### DIAGNÓSTICOS DIFERENCIAIS:

Neoplasia	Marcadores
Melanoma	Vimentina, proteína S100, HMB45, Melan-A/MART1 Deve ser negativo para: queratinas
Mesotelioma	K7, K5/6, proteína p63, vimentina, calretinina, WT1, D2-40, mesotelina Deve ser negativo para: CD15, CEA, Ca19-9, Ber-EP4, TTF1, Napsin A, K20
Carcinoma mamário	GATA3, mamoglobina, GCDFP15/BRST2, receptores hormonais, K7+/K20-
Carcinoma do ovário (seroso)	K7+/K20±, WT1, Pax8, Ca125, receptor estrogênico
Carcinoma do trato digestivo alto/ árvore biliar-pancreático	K7+/K20±, CEA, Ca19-9, CDX2
Carcinoma renal	K7±/K20-, vimentina, RCC, Pax8, CD10; CEA-!
Carcinoma prostático	K7-/K20-, PSA; CEA-!
Carcinoma urotelial	K7+/K20+, K5/6, proteína p63, GATA3, CEA

- Além do laudo completo com o tipo da neoplasia, o patologista pode ainda ser útil no diagnóstico molecular “enriquecendo” a amostra com células neoplásicas, através de microdissecção manual ou automatizada. Neste



processo, o patologista seleciona apenas áreas com células neoplásicas viáveis, eliminando áreas de necrose, fibrose ou sem tumor.

- Deve-se lembrar também que a classificação adequada da neoplasia pode dar pistas das alterações moleculares que serão encontradas. Por exemplo:
  - ✓ Adenocarcinomas de padrão histológico não mucinoso, tipo lepidico (bem a moderadamente diferenciados) têm correlação com mutações do gene EGFR
  - ✓ Carcinomas de padrão histológico pouco diferenciado (sólido), com componente mucinoso (células em anel de sinete) têm correlação com alterações no gene ALK
  - ✓ Carcinomas escamosos (epidermoides) não apresentam essas alterações genéticas que possam ter drogas dirigidas a alvos moleculares.
- Da mesma forma, existem dados clínicos (gênero, etnia, informação sobre hábito de fumar) que têm maior ou menor associação com alterações moleculares. Veja no quadro seguinte:

#### CORRELAÇÕES CLÍNICAS DE CARCINOMA PULMONAR COM ALTERAÇÕES MOLECULARES

ALTERAÇÃO MOLECULAR	FREQUENCIA	GÊNERO/ IDADE	TABAGISMO	ETNIA	TERAPÊUTICA
<b>EGFR</b>	10-40%	Feminino, mais jovens	Não	Asiática	Gefitinib, Erlotinib, Afatinib, Dacomitinib, Neratinib
<b>KRAS</b>	15-30%	- - -	Sim	Caucasiana	* Selumetinib (via inibição de MEK)
<b>ALK</b>	2-6%	Mais jovens	Não	- - -	Crizotinib, LDK378
<b>HER-2</b>	1-4%	Feminino	Não	Asiática	Trastuzumab, Pertuzumab, Lapatinib

#### ***Em conclusão:***

- pacientes com carcinoma pulmonar podem beneficiar-se com drogas dirigidas a alvos moleculares
- para que esses alvos possam ser detectados, a equipe médica deve ter atenção redobrada no processo de obtenção da amostra e diagnóstico patológico.

#### ***Referências***

- Kim L & Tsao MS. Tumour tissue sampling for lung cancer management in the era of personalized therapy: what is good enough for molecular testing? Eur Respir J. 2014; 44:1011-1022.
- Rossi G et al. A Reevaluation of the Clinical Significance of Histological Subtyping of Non-Small-Cell Lung Carcinoma: Diagnostic Algorithms in the Era of Personalized Treatments. Int J Surg Pathol. 2009; 17:206-218.



- Thunnissen E et al. The challenge of NSCLC diagnosis and predictive analysis on small samples. Practical approach of a working group. Lung Cancer. 2012; 76:1-18.
- Travis WD et al. Diagnosis of Lung Cancer in Small Biopsies and Cytology Implications of the 2011 International Association for the Study of Lung Cancer/ American Thoracic Society/European Respiratory Society Classification. Arch Pathol Lab Med. 2013; 137:668-684.

MULTIPAT