

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 30/07/2021.



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

Vinicius Cardoso Nóbrega

**ANÁLISE MORFOLÓGICA E IMUNOISTOQUÍMICA DE
BIÓPSIAS DE MEDULA ÓSSEA PARA ESTADIAMENTO
DE LINFOMA DIFUSO DE GRANDES CÉLULAS B**

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

Orientador: Prof. Dr. Cristiano Claudino Oliveira

Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Maria Aparecida Custódio Domingues

Botucatu

2019

Vinicius Cardoso Nóbrega

ANÁLISE MORFOLÓGICA E IMUNOISTOQUÍMICA
DE BIÓPSIAS DE MEDULA ÓSSEA PARA
ESTADIAMENTO DE LINFOMA DIFUSO DE
GRANDES CÉLULAS B

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

Orientador: Prof. Dr. Cristiano Claudino Oliveira

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Aparecida Custódio Domingues

Botucatu
2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: LUCIANA PIZZANI-CRB 8/6772

Nobrega, Vinicius Cardoso.

Análise morfológica e imunoistoquímica de biópsias de medula óssea para estadiamento de linfoma difuso de grandes células B / Vinicius Cardoso Nobrega. - Botucatu, 2019

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Cristiano Claudino Oliveira

Coorientador: Maria Aparecida Custódio Domingues

Capes: 40105008

1. Linfoma. 2. Medula óssea - Doenças. 3. Imuno-histoquímica.

Palavras-chave: Imunoistoquímica; Linfoma; Linfoma difuso de grandes células B; Linfoma não Hodgkin; Medula óssea.

“O sábio não é o homem que fornece as verdadeiras respostas; é quem faz as verdadeiras perguntas.”

Claude Lévi-Strauss

*Aos meus pais, Silvana e Múcio, por me moldarem o
homem que sou e à minha esposa, Ingrid, pelo amor a
mim dedicado.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a meus avós, pelo amor parental e pelas raízes nordestinas que me acompanham até hoje, responsáveis pelo amor eterno que tenho pela terra onde nasci.

Agradeço a meus irmãos Hayza, Júlia e Arthur. Mesmo na distância sinto que lhes sou referência.

Agradeço a meu orientador, Cristiano, pelas valiosas correções, pelos ensinamentos e por guiar-me nestes anos de muito trabalho.

Agradeço a Pedro Schaefer, querido amigo e professor, por ter sido meu primeiro preceptor em patologia, iniciar-me na ciência que eu abracei e por ter me levado em segurança até meu apartamento após uma grande bebedeira em comemoração de seu aniversário.

Agradeço a Flávio Lima, pelos ensinamentos em patologia, por ser um grande colega de sala, pelas agradáveis e longas conversas e pela valiosa experiência transmitida.

Agradeço a Marcelo Padovani, pelos ensinamentos em patologia, pelas incontáveis xícaras de café acompanhadas de muitas histórias na lanchonete do hospital.

Agraço a Fernando Franchi e Francismarie de Faria, pelas reações imunoistoquímicas, à Dona Rita, pelo resgate dos blocos de parafina e Cícera, pelo resgate dos laudos.

Agradeço aos graduandos de medicina Bianca Latance, Alef Oliveira, Pedro Guilherme e Luiz Fernando, pelas pesquisas de prontuário.

Agradeço aos residentes de patologia, por me darem o constante desafio de ser um profissional atualizado e saciarem minha sede de transmitir conhecimento.

Agradeço às minhas companheiras de residência, Francisca Indrusiak e Paula Schlickman, pela parceria e aprendizado, além das muitas risadas na sala dos residentes do HCPA.

Agradeço a Rodrigo Zogheib, pela amizade e pelas noites nos bares botucudos.

Agradeço a Álvaro, por ter sido meu único amigo quando tão longe estive de casa e por ter me levado tantas vezes ao Estádio Olímpico, mesmo meu coração sendo colorado.

Agradeço a Carla, Joaquim e Reinaldo, pela parceria inseparável nos anos de graduação.

Agraço a Maira Cuciello, querida amiga, pela ajuda com o mundo acadêmico tão cheio de particularidades e tão diferente do meu habitat de trabalho, por sua amizade também com minha esposa e por encher nossa casa de alegria e risos.

Agradeço ao departamento de Patologia por acolher-me e dar-me um ambiente de trabalho saudável.

Agradeço ao programa de pós-graduação em Patologia.

Por último, não menos importante, agradeço aos meus amigos Rudá, Yasser, Diodoro, Rodolfo e Pereira, por todos os inesquecíveis momentos que vivemos e por continuarem companheiros fiéis mesmo na distância que hoje nos separa.

LISTA DE ABREVIACOES

ABC: *Activated B-cells* (célula B ativadas).

CG: Centro germinativo.

CHOP: Ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina e prednisona.

FISH: *Fluorescence in situ hybridization* (hibridização in situ por fluorescência).

HE: Coloração de hematoxilina-eosina.

IARC: *International Agency for Research on Cancer* (Agência internacional para pesquisa do câncer).

IHQ: Imunoistoquímica.

INCA: Instituto Nacional do Câncer.

IPI: ndice de Prognóstico Internacional.

LDGCB: Linfoma difuso de grandes células B.

LH: Linfoma Hodgkin.

LNH: linfoma não-Hodgkin.

MO: Medula ssea.

OMS: Organização Mundial da Saúde.

PET/CT: *Positron emission tomography/computed tomography* (tomografia computadorizada por emissão de positrons).

R-IPI: ndice de Prognóstico Internacional Revisado.

SUS: Sistema nico de saúde.

IARC: International Agency for Research on Cancer.

DLH: Desidrogenase ltica sérica.

GCB: Centro germinativo de células B.

SPARC: Proteína ácida secretada rica em cisteína.

R-CHOP: Ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina, prednisona e rituximabe.

LISTA DE TABELAS

Capítulo II

Tabela I. Avaliação morfológica da MO coletada para estadiamento de 101 pacientes portadores de LDGCB.....	47
Tabela II. Associação entre as variáveis morfológicas e presença de infiltração da MO, definida pela IHC.....	49
Tabela III. Avaliação do poder diagnóstico da análise morfológica isolada para a detecção de infiltração de medula óssea, em pacientes com LDGCB e tendo a imunoistoquímica como padrão ouro nessa detecção.....	50
Tabela IV. Avaliação do poder diagnóstico da análise morfológica isolada para a detecção de infiltração de medula óssea, em pacientes com LDGCB e tendo a imunoistoquímica como padrão ouro nessa detecção.....	56

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

Figura 1. Morfologia clássica de LDGCB.....	16
Figura 2. Padrão de infiltração da MO.....	20

Capítulo II

Figura I. Fotomicrografia do AcL padrão 1 do LDGCB.....	51
Figura II. Fotomicrografia do AcL padrão 2 do LDGCB.....	52
Figura III. Fotomicrografia do AcL padrão 3 do LDGCB.....	53
Figura IV. Fotomicrografia do AcL padrão 4 do LDGCB.....	54
Figura V. Fotomicrografia do AcL padrão 5 do LDGCB.....	55
Figura VI. Curva ROC de sensibilidade e especificidade dos parâmetros morfológicos avaliados.....	57

LISTA DE QUADROS

Capítulo I

Quadro 1. Outros linfomas de células B grandes.....	15
--	----

Capítulo II

Quadro I. Avaliação qualitativa do arcabouço reticulínico conforme a organização mundial da saúde.....	45
---	----

SUMÁRIO

Capítulo I: Revisão bibliográfica

Resumo.....	10
Abstract.....	11
1. Introdução.....	12
1.1 Linfoma Difuso de Grandes Células B: aspectos gerais.....	12
1.2 Acometimento da medula óssea pelo LDGCB.....	18
1.3 Técnicas anatomopatológicas para detecção de LDGCB.....	25
1.4 Contexto histórico–social da medicina brasileira.....	27
2. Referências.....	29
3. Justificativa.....	37
4. Objetivo.....	38
4.1 Objetivo Geral.....	38
4.2 Objetivo Específicos.....	38

Capítulo II: Artigo

Resumo.....	41
Abstract.....	42
Introdução.....	43
Material e Métodos.....	44
Resultados.....	47
Discussão.....	58
Referências.....	60
Conclusões finais.....	62

Capítulo I

RESUMO:

O linfoma difuso de grandes células B (LDGCB) integra o grupo das neoplasias malignas hematopoiéticas classificado como linfomas não-Hodgkin e representa o subtipo mais prevalente no Brasil e no mundo. Ao seu diagnóstico, segue-se um estadiamento clínico denominado Classificação de Ann-Arbor/Lugano, visando estimar o tratamento. Neste estadiamento, além de exames laboratoriais, parâmetros clínicos e imagens radiológicas, faz-se avaliação da medula óssea (MO) para pesquisa de infiltração neoplásica. O presente estudo comparou a análise unicamente morfológica da MO em relação à combinação da morfologia com imunoistoquímica (IHQ) na detecção de infiltração neoplásica medular em pacientes com LDGCB. Para isso, realizou-se levantamento retrospectivo de 113 pacientes diagnosticados com LDGCB submetidos a biópsia/aspirado de MO para estadiamento. Informações clínicas foram levantadas nos prontuários médicos e as lâminas histológicas de biópsias e coágulos de MO foram revisadas quanto a seus aspectos morfológicos. Procedeu-se estudo IHQ com os marcadores CD20 e CD3, sendo este o padrão ouro. A sensibilidade da análise morfológica isolada foi de 42,9%, considerada baixa se considerarmos que esta serviria como um exame de triagem. A quantidade de acúmulos linfoides (AcL) na MO e o aumento de trama reticulínica no acúmulo linfoide mostraram *p*-valor respectivamente de 0,02, para uma mediana de 2 acúmulos, e 0,01 para uma mediana de trama reticulínica de II, mostrando assim existir uma relação destes dois parâmetros morfológicos com infiltração da MO. Disso, podemos concluir que não se recomenda a análise morfológica isolada, devendo estar sempre associada à IHQ, muito embora sempre que as circunstâncias exigirem o médico patologista pode apoiar-se nesses dois parâmetros para uma tomada de decisão necessária.

Palavras-chave: Linfoma, linfoma difuso de grandes células B, linfoma não Hodgkin, medula óssea, imunoistoquímica.

ABSTRACT:

Diffuse Large B Cell Lymphoma (DLBCL) belongs to a group of hematopoietic malignancies called Non-Hodgkin's Lymphomas, being the most prevalent in Brazil. After the diagnosis is followed a staging, called Ann-Arbor/Lugano classification, aiming to estimate the treatment. This staging, in addition to laboratory exams, clinical parameters and radiological images, includes the histological evaluation of bone marrow (BM) for the investigation of neoplastic infiltration. The present study compared BM morphological analysis only and morphology combined with immunohistochemistry (IHC) to detect BM infiltration in patients with DLBCL. For this, a retrospective survey was performed on 113 patients diagnosed with LDGCB submitted to biopsy / aspiration for BM staging. Clinical information was reviewed from medical records and histological biopsy and clots were reviewed for morphological aspects. The IHQ study was performed with CD20 and CD3 markers. The sensitivity of the isolated morphological analysis was 42.9%, considered low if we remember that this evaluation would serve as a screening test. The amount of lymphoid aggregates in BM and the increase in reticulin stain into the lymphoid aggregates showed p-value respectively of 0.02 and a median of 2 aggregates and 0.01 for a grade II reticulin, thus showing a relation of these two morphological parameters with BM infiltration. After this, we can conclude that the isolated morphological analysis is not recommended, and should always be associated with the IHC analysis, although whenever circumstances require the pathologist can rely on these two parameters for a necessary decision-making.

Keywords: Lymphoma, diffuse large B-cell lymphoma, non-Hodgkin lymphoma, bone marrow, immunohistochemistry.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Linfoma Difuso de Grandes Células B: aspectos gerais

Linfomas são neoplasias malignas hematopoiéticas da linhagem linfoide caracterizados pela proliferação clonal de linfócitos T/NK ou B, maduros ou imaturos, em diversas fases de diferenciação¹. A Organização Mundial da Saúde (OMS) classifica os linfomas de acordo com parâmetros clínicos, morfológicos e moleculares, em linfomas de Hodgkin (LH) e linfomas não-Hodgkin (LNH)¹⁻⁴, os quais apresentam características clínicas, prognósticos e tratamentos quimioterápicos específicos⁵.

Estimativas do projeto Globocan, realizado pela *International Agency for Research on Cancer* (IARC), revelam que, em 2018, a incidência mundial de LNH foi de 509.590 casos. No Brasil, a mortalidade por LNH, em 2018, foi de 5.256 pacientes, sendo 2.979 homens e 2.277 mulheres. Dados mais recentes divulgados pelo Instituto Nacional do Câncer (INCA), em 2018, mostraram uma estimativa de 10.180 novos casos no Brasil, sendo 5.370 em homens e 4.810 em mulheres⁶.

O linfoma, quando sintomático, manifesta-se com sintomatologia clássica cujo conjunto é denominado de sintomas B: febre inexplicável, sudorese noturna e perda inexplicável de peso (>10%) nos seis meses precedentes ao diagnóstico. Um terço dos pacientes apresenta sintomas B e alguns pacientes apresentam sintomas relacionados a órgãos específicos envolvidos pela doença^{7,8}.

Clinicamente, a maioria dos pacientes apresenta crescimento rápido de linfonodos, podendo ou não existir acometimento de sítios extranodais. Diferentemente das neoplasias sólidas, o estadiamento dos linfomas reúne numerosas informações clínicas, as quais estão protocoladas num sistema chamado Classificação de Ann-Arbor/Lugano, proposto em 2011, que é uma atualização do difundido estadiamento Ann Arbor, proposto em 1977^{9,10}. A classificação define os seguintes estádios:

I, envolvimento de um linfonodo/grupo regional ou de apenas um sítio extranodal sem envolvimento nodal;

II, envolvimento de dois ou mais linfonodos/grupos regionais do mesmo lado do diafragma ou de um sítio extranodal e seu correspondente grupo de linfonodo de drenagem;

II maciço, idem ao estágio II porém em grande quantidade de cadeia linfonodais.

III, envolvimento de linfonodos em ambos os lados do diafragma ou apenas em linfonodos acima do diafragma e com acometimento esplênico.

IV, envolvimento extralinfático não contíguo (disseminação da doença, avançando a um ou mais órgãos extranodais tais como fígado e medula óssea (MO), com ou sem envolvimento nodal.

A adição das letras “A” e “B” sufixadas aos estádios foi restrita apenas aos linfomas Hodgkin, portanto não mais utilizada em LNH, conforme Cheson et al (2014)¹⁰.

Para complementar o prognóstico de pacientes portadores de linfomas não-Hodgkin agressivos, tais como LDGCB, linfoma Burkitt e linfoma linfoblástico, além do estadiamento já oferecido pela classificação de Ann-Arbor/Lugano, Shipp et al (1993) propuseram uma classificação de risco chamada Índice de Prognóstico Internacional (IPI). Essa classificação leva em conta a presença de fatores de mau prognóstico: idade superior à 60 anos, estágio de Ann-Arbor/Lugano III ou IV, desidrogenase láctica sérica (DHL) maior que 1,2 vezes o limite da normalidade, mais de um sítio de acometimento extranodal e o grau de morbidade do paciente (*ECOG performance status*) maior ou igual a 2. A partir destas variáveis faz-se uma pontuação e os pacientes são estratificados em quatro grupos prognósticos: (1) risco baixo, (2) risco baixo/intermediário, (3) risco intermediário/alto e (4) risco alto. Enquanto pacientes do grupo IPI 1(risco baixo) atingem

sobrevida em 5 anos de 76%, aqueles IPI 4(risco alto) possuem sobrevida de 26%. Vale salientar que Sehn et al (2007) propôs uma revisão bastante pertinente, com consequente simplificação do IPI devido ao advento dos imunoterápicos, principalmente o rituximab, e nova estratificação, ao que se chama hoje de IPI revisada (R-IPI) ¹¹⁻¹³.

O linfoma difuso de grandes células B (LDGCB) é o subtipo mais comum de LNH, podendo ser nodal ou extranodal, quando acomete por exemplo osso, pele, fígado, sistema nervoso central, tireoide, trato gastrointestinal ou pulmão ^{1,12}. LDGCB é o subtipo mais frequente de LNH, sendo a sexta malignidade mais comum em incidência e mortalidade na Europa e nos Estados Unidos ^{13,14}. A taxa de incidência é 6,3% com uma estimativa de 25.380 novos casos/100.000 hab nos EUA em 2016 ¹⁷. A incidência desse tumor aumentou em 150% na última década em todo o mundo, recebendo crescente atenção dos órgãos de saúde ¹⁸.

LDGCB é mais prevalente em pacientes com idade avançada, próximo aos 70 anos, embora tenha ocorrência em jovens adultos e raramente em crianças, além de maior frequência no sexo masculino. Trata-se de uma neoplasia clinicamente agressiva, porém, quando diagnosticado precocemente, é potencialmente curável com o arsenal terapêutico atual ^{5,19}. A Organização Mundial da Saúde (OMS), no seu mais recente consenso de hematopatologia¹, graças aos avanços principalmente em citogenética molecular, desmembrou do LDGCB treze entidades clinico-genético-patológicas distintas como mostrado na tabela 1 ^{1,20,21}. Ainda assim, o que hoje se chama LDGCB sem outras especificações (LDGCB, SOE) possui dois subtipos moleculares (LDGCB centro-germinal e LDGCB de células B ativadas) e variantes morfológicas diversas, três mais frequentes (centroblástica, imunoblástica, anaplásica) e outras consideradas raras (fusocelular, mixoide, “anel-de-sinete” e em padrão rosetoide)¹.

Quadro 1. Outros linfomas de células B grandes¹

Linfoma B de grandes células rico em células-T e histiócitos
Linfoma difuso de grandes células B primário do sistema nervoso central
Linfoma difuso de grandes células B primário da pele, “tipo perna”
Linfoma difuso de grandes células B EBV positivo, sem outras especificações
Linfoma difuso de grandes células B associado a inflamação crônica
Granulomatose linfomatosa
Linfoma B de grandes células com rearranjo do IRF4
Linfoma B de grandes células primário do mediastino
Linfoma B de grandes células intravascular
Linfoma B de grandes células ALK positivo
Linfoma plasmablástico
Linfoma difuso de grandes células B HHV-8 positivo
Linfoma primário das efusões

O LDGCB tem origem nos linfócitos B em transformação no centro germinativo ou naqueles pós centro germinativo do tecido linfoide periférico, sendo que aqueles oriundos do centro germinativo apresentam melhor prognóstico ^{1,22-24}. Morfologicamente, essa neoplasia é caracterizada por células intermediárias e grandes com nucléolos evidentes dispostos em padrão difuso de crescimento e escasso citoplasma (Figura 1) ^{1,4,25}. Uma referência morfológica útil é que o tamanho destas células neoplásicas são duas vezes maiores que histiócitos benignos, na mesma sessão tecidual ¹. Tais células neoplásicas são capazes de infiltrar, totalmente ou parcialmente, linfonodos normais e o espaço extranodal ²⁶. Processo fibrótico pode compartimentalizar grupos de

células tumorais ou ainda estar relacionada com esclerose nodal ou áreas de necrose. Além disso há altas taxas mitóticas e de apoptose.

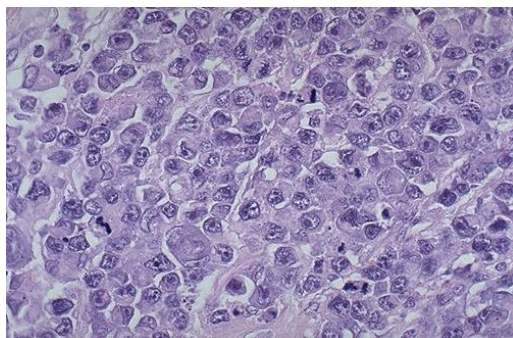


Figura 1. Morfologia clássica do LDGCB nodal. Foto de caso de arquivo do Departamento de Patologia, FMB UNESP. Coloração Hematoxilina-Eosina. Aumento 400x.

O LDGCB é de imunofenótipo B, exibindo positividade para imunomarcadores como CD20, CD79a e PAX-5, com imunoposição variável de CD10, Bcl-6 e Bcl-2. O índice de proliferação celular é elevado, em geral superior a 80% ¹.

Baseado nos padrões de expressão gênica, pode-se separar a origem das células neoplásicas do LDGCB em dois tipos, centro germinativo (CG) e não-CG, também conhecido como células B ativadas (ABC). O reconhecimento da origem da célula maligna permite, portanto, estabelecer os dois subtipos moleculares supracitados.

Apesar da distinção entre os dois subtipos ser molecular e ser obtida via expressão gênica, na rotina diária anatomopatológica há maneiras indiretas, menos onerosas e mais práticas, de estabelecer esta origem: por via imunohistoquímica (IHQ), onde, dentre os protocolos o mais amplamente utilizado é o algoritmo de Hans, que leva em consideração a imunoposição positiva (acima de 30% de marcação) ou negativa, dos marcadores CD10, Bcl-6 e MUM-1²⁷.

O microambiente das células do linfoma é representada por células do sistema imune do paciente, e possuem papel fundamental na patogênese. Lenz et al. (2008) classificaram a assinatura gênica em três grupos: célula B centro germinal, estroma-1 e

estroma-2²⁸. A assinatura do grupo estroma-1, possui um prognóstico favorável, com deposição de matriz extracelular e infiltrado histiocítico. Em contrapartida, o grupo estroma-2 apresenta maior densidade de vasos sanguíneos e assim, um prognóstico menos favorável. Pesquisadores usaram IHQ combinada com características associadas ao tumor e microambiente para classificar os casos de LDGCB. Perry et al (2012) usaram três métodos de avaliação: marcação negativa para GCB, expressão de SPARC (do inglês *Secreted Protein, Acidic, and Rich in Cysteine*) menor que 5% e densidade vascular para classificar os pacientes em grupos com prognósticos favoráveis e desfavoráveis^{29,24}.

Do ponto de vista genético, o LDGCB pode apresentar translocações cromossômicas envolvendo genes relacionados à ativação linfocítica, ciclo celular, apoptose, diferenciação e proliferação celular, sendo as três mais comuns: (1) 3q27 (*BCL6*), que é a mais comum, 30% dos casos; (2) t(14;18) (*BCL2*), 20-30% dos casos; (3) 8q24 (*MYC*), em até 14% dos casos^{1,30}. Tais mutações são detectadas por exame de citogenética molecular, a hibridização *in situ* por fluorescência (FISH). Um detalhe importante é que essas mutações podem acontecer concomitantemente em alguns casos. Sabe-se que, por exemplo, metade dos casos de LDGCB que apresentam o rearranjo *MYC* abrigam também mutações *BCL2* ou *BCL6* (chamados linfomas *double-hit*) ou ainda as três mutações (linfomas *triple-hit*)^{20,21}. Nestes casos de duplas ou triplas translocações, a classificação atual de linfomas da OMS realocou estas entidades num grupo diagnóstico chamado linfoma B de alto grau com translocações envolvendo os genes *MYC* e *BCL2* e/ou *BCL6*²¹. Na ausência das translocações, e com critérios morfo-imunofenotípicos adequados, esses casos são chamados linfomas B de alto grau, sem outras especificações. É importante destacar que o uso da terminologia “linfomas agressivos” é diferente da terminologia “linfoma B de alto grau”. Essa última representa uma entidade definida pela OMS, relacionada ou não às translocações. Linfomas de alto

grau representam uma denominação inespecífica que envolve neoplasias de imunofenótipo variado e que não representa entidade.

O tratamento padrão do LDGCB foi, por décadas, feito com a associação de ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina e prednisona (CHOP) ³¹. Porém, a atual terapêutica de primeira linha consiste da associação ainda do rituximabe (R-CHOP), levando a um incremento na sobrevida e no percentual de cura dos pacientes. O anticorpo anti-CD20 faz parte do grupo de imunoterápicos que teve sua primeira aprovação mundial para uso há 22 anos e há 6 anos no Brasil, sendo utilizada tanto na primeira quanto na segunda linha do tratamento. Outros imunoterápicos anti-CD20 foram desenvolvidos posteriormente (obinutuzumabe, ofatumumabe, veltuzumabe e ocrelizumabe), mas estão reservados para casos refratários ^{32,33}. Jardim (2019) discute as dificuldades atualmente enfrentadas pela oncologia em adicionar outras drogas que tenham impacto significativo no aumento do percentual daqueles com progressão livre de doença, prolongamento de remissões e diminuição da mortalidade, tal como a adição de bortezomibe, que exhibe resultados desapontadores, e argumenta que a atual separação entre LDGCB-GC e LDGCB-ABC pode não ser suficiente para nortear as escolhas terapêuticas ³¹.

1.2. Acometimento da medula óssea pelo LDGCB

O acometimento da MO por LDGCB tem ocorrência estimada em 12% até 35% dos casos ^{2,3,34}, determinando estágio IV no Ann-Arbor/Lugano, com implicações prognósticas relevantes, sendo a sobrevida destes pacientes menor que 40% em 5 anos ^{35,36}. Tradicionalmente, as biópsias de MO para estadiamento são analisadas por métodos histológicos parafinizados e com corados em hematoxilina-eosina (HE) e reticulina. À coloração de HE, tanto em coágulos, que são subprodutos dos aspirados, como em biópsias, avalia-se a parte celular da MO, isto é o tecido hematopoético e suas relações com o microambiente medular. São critérios: celularidade global esperada para a idade

do paciente, a celularidade relativa e absoluta de cada série hemopoiética (granulocítica, eritrocítica, megacariocítica e linfoplasmocitária), o grau de maturação destas linhagens (incluindo presença de elementos displásicos), presença de AcL. Outra análise que se faz é quanto ao estroma medular, representado pela deposição de fibras colágenas, feito pela coloração chamada reticulina, e graduada por um sistema proposto pela OMS em quatro categorias: (a) grau 0, filamentos frouxos e delicados, sem intercruzamento de fibras, corresponde a MO normal; (b) grau 1, filamentos frouxos, com intercruzamento; (c) grau 2, trama de filamentos espessos, densos, difusos e intercruzantes; (d) grau 3, deposição de colágeno tipo I, caracterizando mielofibrose. Vale ressaltar que a avaliação do arcabouço reticulínico pode e deve ser feito também no interior de AcL, uma vez que podem guiar detecção de acúmulos malignos. Colorações outras podem avaliar o estoque de ferro na MO para eritropoiese. Particularmente em biópsias de MO, pode-se ainda avaliar o arcabouço ósseo da medula ^{1,37}.

As doenças linfoproliferativas podem infiltrar a MO em três padrões principais: difuso, intersticial ou nodular (Figura 2)²⁸. O LDGCB pode infiltrar a MO difusamente e com aspectos morfológicos similares àqueles observados no seu acometimento principal. Essa mesma doença, contudo, pode exibir infiltração da medula por linfomas indolentes, interpretado no contexto do fenômeno da transformação, que consiste no desenvolvimento de LDGCB a partir de linfomas B de baixo grau, como linfoma folicular, linfoma da zona marginal, entre outros. Nessa situação, a morfologia é caracterizada por AcL, compostos por células neoplásicas menores. O principal diagnóstico diferencial desses AcL é com quadros reacionais da MO, com destaque para as doenças autoimunes (artrite reumatoide, lúpus, tireoidite de Hashimoto, doença de Castleman), doenças virais (hepatite B, hepatite C, mielopatia do HIV/AIDS, citomegalovírus), exposições ocupacionais crônicas (benzeno) e anemias ³⁸⁻⁴¹.

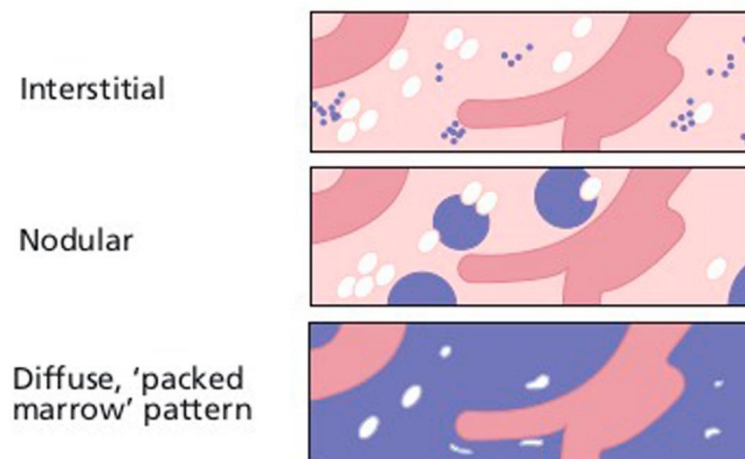


Figura 2. Padrões de infiltração da MO. Modificado de *Bone Marrow Pathology*, 4th, BAIN and WILKINS, 2010.

Os parâmetros morfológicos preditores de infiltração neoplásica da medula (AcL paratrabeculares, com células grandes e bordas irregulares), incluindo expansão fibrosa do arcabouço reticulínico (grau II e III da OMS), podem não ser suficientes, ou não estarem claramente presentes, para essa diferenciação, sendo necessária a avaliação imunoistoquímica com anticorpos anti-CD20 para determinação de população linfocitária B, e anti-CD3 para determinação de população linfocitária T. Na MO reacional, os AcL observados são predominantemente compostos por linfócitos T, o que permite a diferenciação com as infiltrações por doenças linfoproliferativas clonais B³⁰.

Aproximadamente 10 a 35% dos pacientes com LDGCB exibem envolvimento da MO no momento do diagnóstico^{43,44}. Destes, cerca de 70% têm envolvimento histológico dito concordante, com presença de células B grandes similares àquelas observadas nas massas nodais ou extranodais, já em cerca de 30% dos casos pode ocorrer envolvimento discordante da MO, com infiltrados linfoides característicos de linfomas B de baixo grau⁴⁵⁻⁴⁸. Nessa última configuração, presume-se que o LDGCB pode ter se desenvolvido através da transformação de linfoma B de baixo grau⁴⁹. Envolvimento concordante da MO está geralmente associado com mau prognóstico, sendo a resposta terapêutica pior e a sobrevida na ordem de 25% menor, conforme expõem Yao et al (2018), entretanto o

impacto do envolvimento discordante não é claro, porém alguns estudos apontam para um comportamento similar aos casos sem envolvimento da MO ^{45,48-50}. Essa diferença entre o comportamento de LDGCB com envolvimento concordante e discordante da MO tem sido muito estudada, entretanto os dados encontrados são de difícil interpretação devido à falta de controle de variáveis como a extensão do envolvimento da MO, comprimento da biópsia examinada, ou outros fatores como o IPI ^{16,51,52}.

A presença de infiltração da MO foi um preditor relevante no resultado das análises do IPI ^{25,26}, porém a caracterização histológica não foi avaliada. O significado clínico do envolvimento da MO não vem sendo examinado seguindo a linha dos recentes estudos clínicos, uma vez que a maioria dos estudos que enfocam o impacto do envolvimento da MO no prognóstico têm incluído pequenas coortes de pacientes com múltiplos subtipos histológicos e, além disso, foram feitos antes da introdução do IPI como preditor prognóstico e antes do uso do rituximabe na rotina terapêutica, que mudou significativamente o paradigma destes pacientes ^{38,39}.

Dentre os pacientes com LDGCB e infiltração na MO, fatores que influenciam o prognóstico incluem o padrão e extensão da neoplasia na MO ^{47,50,55}, além da discordância histológica entre o sítio primário e a MO ^{45-47,50,56}. Foi observado que a discordância nesses casos de LDGCB com envolvimento da MO é caracterizado por infiltrado focal e/ou para trabecular envolvendo uma pequena área da medula ^{45-47,50}.

O envolvimento da MO foi associado com piores resultados clínicos em pacientes com LDGCB em diversos estudos ^{43-47,50}.

Estudo com 795 pacientes portadores de LDGCB tratados com rituximabe mostrou incidência de envolvimento da MO em torno de 16% dos casos ^{43,44,50}. No geral, 46% desses pacientes tem discordância histológica na MO, o que é consistente com a presença de LNH de células B e de baixo grau. Os resultados clínicos de pacientes com

MO concordante foram inferiores às aquelas que não tiveram envolvimento da MO. O envolvimento concordante foi associado com um aumento na probabilidade de desfechos clínicos desfavoráveis. A sobrevida em 3 anos naqueles com envolvimento discordante foi semelhante aos pacientes sem envolvimento, enquanto aqueles com envolvimento concordante apresentaram 30% menos de sobrevida ⁵⁸.

Campbell et al (2006) analisaram 172 pacientes com LDGCB tratados com R-CHOP onde cerca de 27% demonstraram envolvimento da medula. Desses pacientes, 34 mostraram envolvimento discordante da MO, definido no estudo por menos de 50% de células neoplásicas grandes. Envolvimento mínimo (<10% de células neoplásicas grandes) foi relatado em 28 pacientes, os quais apresentaram progressão e sobrevivência similar aos 113 pacientes sem envolvimento da medula. Sendo assim, a infiltração da MO precisa ser avaliada quanto a quantidade de células neoplásicas, o padrão de infiltração e as características qualitativas desses linfócitos (células pequenas, de padrão baixo grau, ou células grandes, de padrão alto grau). Portanto, o envolvimento da MO é um item importante na avaliação do estadiamento e estabelecimento prognóstico desses pacientes, extrapolando o resultado positivo ou negativo ⁴³.

Na avaliação de pacientes recentemente diagnosticado com linfoma, é recomendado que se faça avaliações da MO através de biópsia para investigar o estadiamento do tumor. No entanto, as chances de descobrir o envolvimento da MO variam consideravelmente entre os diferentes subtipos de linfomas: positividade, por exemplo, é encontrada em até 50% de pacientes com linfoma folicular e 70% no linfoma linfocítico/leucemia linfocítica crônica, mas em apenas 15% dos pacientes com LDGCB ⁵⁹.

Lim et al. (2004) estudaram 318 pacientes por meio de revisão de prontuário, tomografia computadorizada (TC) de tórax, abdome e pelve, além de exames

laboratoriais. Destes 318 indivíduos, 192 foram elencados em estádios 1 e 2, nos quais a incidência do envolvimento da MO foi de apenas 3,6%. Propuseram, então, que subgrupos de pacientes com estágios iniciais da doença poderiam prescindir de biópsia da MO a fim de oferecer maior conforto aos pacientes ⁶⁰.

O envolvimento da MO é diagnosticado por meio de biópsias em aproximadamente 20% dos pacientes com LDGCB e é de tal importância que responde isoladamente por um dos cinco pontos da classificação IPI ^{9,50,61}. A acurácia no estadiamento da MO é crucial para traçar estratégias terapêuticas, uma vez que os percentuais de sobrevida são cerca de três vezes menores em pacientes classificados como IPI de alto risco, em relação aos IPI de baixo risco ^{50,58}. A biópsia da MO permanece o padrão ouro para determinar o envolvimento da MO, porém pode ser um exame pouco sensível devido interferências relacionadas ao tamanho das amostras e infiltrações focais ^{62,63}. Além disso, o procedimento é invasivo, pode apresentar complicações como dor, hemorragia ou infecções ^{37,64}. Existem dois tipos de amostragem da MO, a biópsia e o coágulo, cada uma com particularidades, processamentos e utilidades diferentes. A biópsia de medula óssea é obtida segundo a rotina do serviço de hematologia do hospital, sendo performada na crista ilíaca posterior, com o paciente em decúbito lateral, usando-se uma agulha Jamshidi tamanho 11 gauge e onde se obtém um fragmento ósseo trabecular de 2,3 mm de diâmetro e 1,5 cm de comprimento. Com ela é possível, além da análise qualitativa e quantitativa dos elementos hemopoiéticos, estudo do arcabouço estrutural medular. O coágulo de MO é obtido no sítio escolhido via aspiração, onde se analisa qualitativa e quantitativamente a MO somente. Há controvérsia quanto à utilidade da coleta do coágulo, porém Cantadori et al (2019) mostram rotina positiva de uso dessa amostragem em serviço de hematologia de referência no Brasil, sendo inclusive colhida em todas as amostragens de MO ⁶⁵. Procedimentos de tomografia computadorizada por

emissão de positrons (PET/CT), capazes de analisar o corpo inteiro mostram-se promissores nos estadiamentos iniciais de pacientes com LDGCB, porém seu papel na detecção do comprometimento medular ainda não foi amplamente estudado ⁶⁶. Trata-se da administração intravenosa de um radiofármaco emissor de pósitrons que tem afinidade por células em proliferação e irá se ligar a elas, caso o paciente seja portador de alguma neoplasia. Daí então o paciente é submetido a uma tomografia que irá então identificar a impregnação do fármaco, principalmente em medula óssea. Ainda que de grande sensibilidade na detecção tumoral, é técnica cujas problemática maior está situada no alto custo, nem sempre disponível a todos os pacientes. No caso brasileiro, o sistema único de saúde (SUS) dispõe de poucos centros de referência que oferecem essa possibilidade de exame. Berthet et al. (2013), compararam a avaliação de infiltração da MO por LDGCB por biópsia e por PET/CT em 133 pacientes. Com resultados animadores, concluíram que o exame de imagem tem melhor performance diagnóstica, maior sensibilidade, maior valor preditivo negativo e maior acurácia que a biópsia ⁶⁷.

Técnicas especializadas como a citometria de fluxo e IHC têm sido usados para investigar o envolvimento histológico da MO não diagnosticado pelos métodos convencionais. Esses testes, porém, podem impor um custo elevado ao serem amplamente usados na rotina diagnóstica para pesquisa de envolvimento por neoplasia. Seu uso, principalmente em pacientes com LDGCB em estágios clínicos precoces, ainda é controverso. Tais testes poderiam ter melhor custo-benefício quando utilizados em pacientes com clínica de maior probabilidade de apresentar envolvimento da MO ⁶⁰. Isso seria uma forma de reduzir o impacto de custo da aplicação de tais exames complementares na rotina diagnóstica.

1.3. Técnicas anatomopatológicas para detecção de LDGCB

Em 1969, a classificação de linfomas através de achados morfológicos foi publicada na revista *Pathology* por Rappaport. A classificação de Rappaport foi amplamente usada no diagnóstico de LDGCB⁶⁸. As primeiras classificações foram baseadas em aparências microscópicas como tamanho celular, morfologia nuclear e padrões de crescimento. Não havia na época IHQ para identificar as células especificamente neoplásicas⁶⁹.

Entretanto, avanços na área imunológica mostraram que o sistema imune é altamente complexo com diversos subtipos celulares como linfócitos tipo -B, -T, e células *natural killer*. Alguns marcadores foram aplicados no estudo de linfócitos normais e linfomas. Usando tais marcadores, Smith et al⁷⁰ mostraram, por exemplo, que o então chamado Sarcoma de Sternberg (conhecido atualmente como linfoma linfoblástico T) é constituído pela linhagem de células T, e Jaffe et al (1974) mostrou que o linfoma folicular é formado por células linfoides do tipo B⁷¹. Na década de 70, classificações de linfomas baseadas na funcionalidade do sistema imune foram propostas. Karl Lennert, líder do European Lymphoma Club, propôs a classificação de Kiel, já Lukes and Collins propuseram sua própria classificação^{72,73}. Ambas classificações eram baseadas nos conhecimentos adquiridos do sistema imunológico e a classificação dos linfomas deixou de ser puramente morfológica.

Um componente crítico na classificação do LDGCB é avaliação histológica adequada, acrescida, atualmente, de testes adicionais, como IHQ e análises moleculares, que foram adicionadas para melhorar o diagnóstico/classificação da doença. Classificações mais apuradas impõem, conseqüentemente, tratamentos melhores. Avaliação completa da arquitetura do tecido biopsiado é fundamental para o diagnóstico e para orientação dos testes subsequentes. O perfil de expressão gênica permanece como padrão ouro na determinação dos subtipos celulares da origem do LDGCB^{23,74-77}. Como

já descrito, contudo, atualmente, no mínimo a imunoistoquímica e a citogenética molecular (FISH) deveriam ser incluídos na rotina diagnóstica dos casos de morfologia de grandes células e padrão difuso de crescimento. Desses dois exames complementares, a imunoistoquímica é o mais amplamente usado, contemplando o seguinte painel de avaliação: CD20, CD3, CD30, Ki-67, CD10, BCL6, BCL2, MYC, MUM1.

A análise puramente morfológica por vezes é capaz de distinguir entre infiltração neoplásica da MO e acometimentos inflamatórios^{78,79}. Porém, nem sempre essa distinção é clara e testes adicionais, como IHQ e citometria de fluxo, são necessários para discernir entre os diagnósticos diferenciais, tanto benignos como com outras neoplasias malignas, principalmente outros linfomas de células grandes agressivos (linfoma Burkitt, linfoma linfoblástico, linfoma anaplásico). Atualmente, na MO, o recurso mais usado é a IHQ, contemplando pelo menos CD20 e CD3 quando a amostra é resultante de estadiamento.

Taulalikal et al (2008) estudaram 156 pacientes com diagnóstico de LDGCB, onde 11% foram diagnosticados com infiltração neoplásica da MO apenas pelo estudo IHQ⁸⁰. O mesmo grupo em outra pesquisa, após avaliação imunoistoquímica, detectou infiltração neoplásica, até então oculta à morfologia, em 19,4% de pacientes, os quais, após o re-estadiamento, tiveram curvas de sobrevida estatisticamente piores em relação ao estadiamento inicial⁸¹.

Por outro lado, Bayee et al (2009) estudaram a aplicabilidade do marcador CD20 em 113 pacientes com diagnóstico de LDGCB e que tiveram a MO biopsiada para estadiamento⁸². Os resultados mostraram que o estudo IHQ não melhorou a determinação da população de células neoplásicas, já que os 12 pacientes com infiltração neoplásica identificada por IHQ também foram identificados por métodos convencionais⁷⁰. Desse modo, o valor diagnóstico da IHQ nas biópsias de MO para estadiamento de pacientes

com LDGCB seria, segundo ele, controverso. Não existem ainda, ao conhecimento desses autores, estudos nacionais que se proponham a essa análise.

1.4. Contexto histórico – social da medicina brasileira

A desigualdade na nossa sociedade está intimamente relacionada com a distribuição da riqueza. Quando afeta o setor da saúde, a desigualdade traz a impossibilidade do cidadão usufruir de avanços científicos e tecnológicos na área, seja para acesso à prevenção/promoção de saúde, seja para o tratamento/reabilitação em contextos de doenças ^{83,84}.

Em 2011, durante a 1ª Conferência Mundial de Determinantes Sociais da Saúde, realizada pela OMS no Rio de Janeiro, foi redigida a Declaração Política do Rio sobre Determinantes Especiais da Saúde a fim de ressaltar os esforços em promover equidade social e na saúde através de políticas de bem-estar amplas e sem fronteiras ⁸⁵.

A criação do sistema único de saúde (SUS) trouxe diversos avanços para os brasileiros, porém está longe de fornecer condições ideais de saúde para a população ⁸⁶, que vão desde melhorias no saneamento básico até acesso às descobertas e tecnologias científicas mais atuais para intervenções terapêuticas ⁸⁶⁻⁸⁸. Um problema que acomete a saúde pública brasileira é a má distribuição de profissionais da saúde, sendo a proporção de médicos por habitante de 1:3000. Essa razão fica mais discrepante nos estados do Norte e Nordeste ⁸⁹. Diante desses fatos, políticas unificadoras entre o sistema de saúde e as instituições de ensino superior precisam ser estimuladas na tentativa de sanar esse déficit de profissionais qualificados nas diferentes regiões que compõem o Brasil ^{86,90}.

Dentre as especialidades médicas, a Patologia é especialidade responsável pelo diagnóstico de diferentes doenças, neoplásicas ou não, proporcionando embasamento para determinar o tratamento do paciente. Com apenas 1.450 especialistas, a má distribuição desses profissionais pelo território brasileiro fica evidenciada pelas

estatísticas que colocam o Sudeste como a região concentradora de médicos patologistas (55,5%). As demais regiões em ordem decrescente são: Nordeste (25,4%), Sul (8,1%), Centro-Oeste (7,4%) e Norte (3,7%), de acordo com a Demografia Médica no Brasil (2018). Outro agravante, a idade média dos profissionais atuantes nessa área é de 58 anos, mostrando que é preciso uma renovação e maior incentivo na formação de profissionais patologistas⁹⁰.

Dessa forma, fica evidente a problematização da distribuição geográfica dos patologistas com a inviabilização de práticas eficientes de diagnóstico condizentes com os problemas de saúde enfrentados pelos brasileiros. E ainda, podemos estabelecer uma relação desse déficit com os tumores LDGCB, que foram listados anteriormente pela alta taxa de incidência e mortalidade tornando-se alvo de estudo para melhorar à saúde pública.

No caso das avaliações de MO de pacientes com LDGCB, os cenários social e técnico-científico do campo da medicina diagnóstica brasileiro impõem desafios para um diagnóstico preciso. O contexto geral é de diagnósticos fundamentados exclusivamente na morfologia, principalmente pela falta de acesso aos recursos de imunohistoquímica. Assim, a avaliação de critérios morfológicos em relação ao seu poder de detecção da infiltração neoplásica, tendo como padrão ouro para o diagnóstico a imunohistoquímica é uma ferramenta fundamental, tanto para o entendimento anatomoclínico da doença quanto para colaborar para a prática patológica de maior qualidade, independente da disponibilidade tecnológica.

2. REFERÊNCIAS

1. Swerdlow SH, World Health Organization, International Agency for Research on Cancer. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 585 p.
2. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Isaacson PG. Classification of lymphoid neoplasms: the microscope as a tool for disease discovery. *Blood*. 2008;112(12):4384–99.
3. Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, Flandrin G, Muller-Hermelink HK, Vardiman J, et al. World Health Organization Classification of Neoplastic Diseases of the Hematopoietic and Lymphoid Tissues: Report of the Clinical Advisory Committee Meeting—Airlie House, Virginia, November 1997. *J Clin Oncol*. 1999;17(12):3835–49.
4. Carbone PP, Kaplan HS, Musshoff K, Smithers DW, Tubiana M. Report of the Committee on Hodgkin's Disease Staging Classification. *Cancer Res*. 1971;31(11):1860–1.
5. Mahadevan D, Fisher RI. Novel Therapeutics for Aggressive Non-Hodgkin's Lymphoma. *J Clin Oncol*. 2011;29(14):1876–84.
6. INCA - Instituto Nacional de Câncer - Estimativa 2018. 2018
7. Yao Z, Deng L, Xu-Monette ZY, Manyam GC, Jain P, Tzankov A, et al. Concordant bone marrow involvement of diffuse large B-cell lymphoma represents a distinct clinical and biological entity in the era of immunotherapy. *Leukemia*. 2018;32(2):353–63.
8. Brudno J, Tadmor T, Pittaluga S, Nicolae A, Polliack A, Dunleavy K. Discordant bone marrow involvement in non-Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2016;127(8):965–70.
9. Rosenberg SA. Validity of the Ann Arbor staging classification for the non-Hodgkin's lymphomas. *Cancer Treat Rep*. 1977;61(6):1023–7.
10. Cheson BD, Fisher RI, Barrington SF, Cavalli F, Schwartz LH, Zucca E, et al. Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification. *J Clin Oncol*. American Society of Clinical Oncology; 2014;32(27):3059–68.
11. Sehn LH, Berry B, Chhanabhai M, Fitzgerald C, Gill K, Hoskins P, et al. The revised International Prognostic Index (R-IPI) is a better predictor of outcome than the standard IPI for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Blood*. 2007;109(5):1857–61.
12. Ziepert M, Hasenclever D, Kuhnt E, Glass B, Schmitz N, Pfreundschuh M, et al. Standard International Prognostic Index Remains a Valid Predictor of Outcome for Patients With Aggressive CD20⁺ B-Cell Lymphoma in the Rituximab Era. *J Clin Oncol*. 2010;28(14):2373–80.

13. International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. A Predictive Model for Aggressive Non-Hodgkin's Lymphoma. *N Engl J Med.* 1993;329(14):987–94.
14. Sehn LH, Berry B, Chhanabhai M, Fitzgerald C, Gill K, Hoskins P, et al. The revised International Prognostic Index (R-IPI) is a better predictor of outcome than the standard IPI for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Blood.* 2007;109(5):1857–61.
15. Jaffe ES, Pittaluga S. Aggressive B-Cell Lymphomas: A Review of New and Old Entities in the WHO Classification. *Hematology.* 2011;2011(1):506–14.
16. Perry AM, Diebold J, Nathwani BN, MacLennan KA, Muller-Hermelink HK, Bast M, et al. Non-Hodgkin lymphoma in the developing world: review of 4539 cases from the International Non-Hodgkin Lymphoma Classification Project. *Haematologica.* 2016 O;101(10):1244–50.
17. Teras LR, DeSantis CE, Cerhan JR, Morton LM, Jemal A, Flowers CR. 2016 US lymphoid malignancy statistics by World Health Organization subtypes. *CA Cancer J Clin.* 2016;66(6):443–59.
18. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, et al. Cancer Statistics, 2008. *CA Cancer J Clin.* 2008;58(2):71–96.
19. Slack GW, Gascoyne RD. MYC and Aggressive B-cell Lymphomas. *Adv Anat Pathol.* 2011;18(3):219–28.
20. Oliveira CC. Epstein–Barr Virus: A Biological Overview and Clinicopathological Changes of Two Epstein–Barr Virus-Related Lymphoproliferative Disorders in a World Health Organization (WHO) 2017 Report - *European Medical Journal.* 2018. p. 99–107.
21. Oliveira CC, Maciel-Guerra H, Kucko L, Hiramama EJ, Brilhante AD, Quevedo FC, et al. Double-hit lymphomas: clinical, morphological, immunohistochemical and cytogenetic study in a series of Brazilian patients with high-grade non-Hodgkin lymphoma. *Diagn Pathol. BioMed Central;* 2017;12(1):3.
22. Bea S, Zettl A, Wright G, Salaverria I, Jehn P, Moreno V, et al. Diffuse large B-cell lymphoma subgroups have distinct genetic profiles that influence tumor biology and improve gene-expression-based survival prediction. *Blood.* 2005;106(9):3183–90.
23. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, Ma C, Lossos IS, Rosenwald A, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature.* 2000;403(6769):503–11.
24. Ndreas A, Osenwald R, Eorge G, Right W, Ing W, Han CC, et al. The New England Journal of Medicine THE USE OF MOLECULAR PROFILING TO PREDICT SURVIVAL AFTER CHEMOTHERAPY FOR DIFFUSE LARGE-B-CELL

LYMPHOMA A BSTRACT Background The survival of patients with diffuse.
NUMBER 25 N Engl J Med. 2002

25. Lister TA, Crowther D, Sutcliffe SB, Glatstein E, Canellos GP, Young RC, et al. Report of a committee convened to discuss the evaluation and staging of patients with Hodgkin's disease: Cotswolds meeting. *J Clin Oncol.* 1989;7(11):1630–6.
26. Korkolopoulou P, Vassilakopoulos T, Milionis V, Ioannou M. Recent Advances in Aggressive Large B-cell Lymphomas. *Adv Anat Pathol.* 2016;23(4):202–43.
27. Boltežar L, Prevodnik V, Perme M, Gašljević G, Novaković B. Comparison of the algorithms classifying the ABC and GCB subtypes in diffuse large B-cell lymphoma. *Oncol Lett.* 2018;15(5):6903–12.
28. Lenz G, Wright G, Dave SS, Xiao W, Powell J, Zhao H, et al. Stromal Gene Signatures in Large-B-Cell Lymphomas. *N Engl J Med.* 2008;359(22):2313–23.
29. Perry AM, Cardesa-Salzmänn TM, Meyer PN, Colomo L, Smith LM, Fu K, et al. A new biologic prognostic model based on immunohistochemistry predicts survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood. The American Society of Hematology;* 2012;120(11):2290–6.
30. Johnson NA, Slack GW, Savage KJ, Connors JM, Ben-Neriah S, Rogic S, et al. Concurrent expression of MYC and BCL2 in diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *J Clin Oncol. American Society of Clinical Oncology;* 2012;30(28):3452–9.
31. Jardin F. Improving R-CHOP in diffuse large B-cell lymphoma is still a challenge. *Lancet Oncol. Elsevier;* 2019.
32. Salles G, Barrett M, Foà R, Maurer J, O'Brien S, Valente N, et al. Rituximab in B-Cell Hematologic Malignancies: A Review of 20 Years of Clinical Experience. *Adv Ther.* 2017;34(10):2232–73.
33. Zhou X, Ma T, Zhang Y, Zhou N, Li J. Rituximab maintenance therapy for patients with diffuse large B-cell lymphoma: A meta-analysis. Pagano JS, editor. *PLoS One.* 2017;12(3):e0174648.
34. Shi Y-F, Li X-H, Song Y-Q, Song W-W, Lai Y-M. Involvement of bone marrow in lymphoma: pathological investigation in a single-center from northern China. *Int J Clin Exp Pathol. e-Century Publishing Corporation;* 2015;8(6):7102–11.
35. Project TIN-HLPP. A Predictive Model for Aggressive Non-Hodgkin's Lymphoma. *N Engl J Med. Massachusetts Medical Society ;* 1993;329(14):987–94.
36. Xin X, Liu Z, Meng F, Zeng W, Tian M, Miao N, et al. Analysis of prognostic factors in lymphoma patients with bone marrow involvement: a single center cohort study. *Int J Clin Exp Med. e-Century Publishing Corporation;*

2015;8(6):9676.

37. Bain BJ. Bone marrow biopsy morbidity and mortality. *Br J Haematol.* 2003;121(6):949–51.
38. Thiele J, Zirbes TK, Kvasnicka HM, Fischer R. Focal lymphoid aggregates (nodules) in bone marrow biopsies: differentiation between benign hyperplasia and malignant lymphoma--a practical guideline. *J Clin Pathol.* BMJ Publishing Group; 1999;52(4):294–300.
39. Ruiz MA, Augusto LGS, Vassallo J, Vigorito AC, Lorand-Metze I, Souza CA. Bone Marrow Morphology in Patients with Neutropenia Due to Chronic Exposure to Organic Solvents (Benzene): Early Lesions. *Pathol - Res Pract.* 1994;190(2):151–4.
40. Magalhães SMM, Duarte FB, Vassallo J, Costa SCB, Lorand-Metze I. Multiple lymphoid nodules in bone marrow biopsy in immunocompetent patient with cytomegalovirus infection: an immunohistochemical analysis. *Rev Soc Bras Med Trop. SBMT;* 2001;34(4):365–8.
41. Ibrahim HAH, Balachandran K, Bower M, Naresh KN. Bone marrow manifestations in multicentric Castleman disease. *Br J Haematol.* 2016;172(6):923–9.
42. Johnston A, Brynes RK, Naemi K, Reisian N, Bhansali D, Zhao X, et al. Differentiating Benign From Malignant Bone Marrow B-Cell Lymphoid Aggregates: A Statistical Analysis of Distinguishing Features. *Arch Pathol Lab Med.* 2015;139(2):233–40.
43. Campbell J, Seymour JF, Matthews J, Wolf M, Stone J, Juneja S. The prognostic impact of bone marrow involvement in patients with diffuse large cell lymphoma varies according to the degree of infiltration and presence of discordant marrow involvement. *Eur J Haematol.* 2006;76(6):473–80.
44. Chung R, Lai R, Wei P, Lee J, Hanson J, Belch AR, et al. Concordant but not discordant bone marrow involvement in diffuse large B-cell lymphoma predicts a poor clinical outcome independent of the International Prognostic Index. *Blood.* American Society of Hematology; 2007;110(4):1278–82.
45. Hodges GF, Lenhardt TM, Cotelingam JD. Bone marrow involvement in large-cell lymphoma. Prognostic implications of discordant disease. *Am J Clin Pathol.* 1994;101(3):305–11.
46. Robertson LE, Redman JR, Butler JJ, Osborne BM, Velasquez WS, McLaughlin P, et al. Discordant bone marrow involvement in diffuse large-cell lymphoma: a distinct clinical-pathologic entity associated with a continuous risk of relapse. *J Clin Oncol.* 1991;9(2):236–42.
47. Yan Y, Chan WC, Weisenburger DD, Anderson JR, Bast MA, Vose JM, et al. Clinical and prognostic significance of bone marrow involvement in patients with

- diffuse aggressive B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 1995 J;13(6):1336–42.
48. Yao Z, Deng L, Xu-Monette ZY, Manyam GC, Jain P, Tzankov A, et al. Concordant bone marrow involvement of diffuse large B-cell lymphoma represents a distinct clinical and biological entity in the era of immunotherapy. *Leukemia*. 2018;32(2):353–63.
 49. Kremer M, Spitzer M, Mandl-Weber S, Stecker K, Schmidt B, Höfler H, et al. Discordant bone marrow involvement in diffuse large B-cell lymphoma: comparative molecular analysis reveals a heterogeneous group of disorders. *Lab Invest*. 2003;83(1):107–14.
 50. Conlan MG, Bast M, Armitage JO, Weisenburger DD. Bone marrow involvement by non-Hodgkin's lymphoma: the clinical significance of morphologic discordance between the lymph node and bone marrow. Nebraska Lymphoma Study Group. *J Clin Oncol*. 1990;8(7):1163–72.
 51. Sovani V, Harvey C, Haynes AP, McMillan AK, Clark DM, O'Connor SR. Bone marrow trephine biopsy involvement by lymphoma: review of histopathological features in 511 specimens and correlation with diagnostic biopsy, aspirate and peripheral blood findings. *J Clin Pathol*. 2014;67(5):389–95.
 52. Brudno J, Tadmor T, Pittaluga S, Nicolae A, Polliack A, Dunleavy K. Discordant bone marrow involvement in non-Hodgkin lymphoma. *Blood*. American Society of Hematology; 2016;127(8):965–70.
 53. Coiffier B, Lepage E, Brière J, Herbrecht R, Tilly H, Bouabdallah R, et al. CHOP Chemotherapy plus Rituximab Compared with CHOP Alone in Elderly Patients with Diffuse Large-B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med*. Massachusetts Medical Society ; 2002 J;346(4):235–42.
 54. Sehn LH, Donaldson J, Chhanabhai M, Fitzgerald C, Gill K, Klasa R, et al. Introduction of Combined CHOP Plus Rituximab Therapy Dramatically Improved Outcome of Diffuse Large B-Cell Lymphoma in British Columbia. *J Clin Oncol*. 2005;23(22):5027–33.
 55. Morra E, Lazzarino M, Castello A, Inverardi D, Coci A, Pagnucco G, et al. Bone marrow and blood involvement by non-Hodgkin's lymphoma: a study of clinicopathologic correlations and prognostic significance in relationship to the Working Formulation. *Eur J Haematol*. 1989;42(5):445–53.
 56. Fisher DE, Jacobson JO, Ault KA, Harris NL. Diffuse large cell lymphoma with discordant bone marrow histology. Clinical features and biological implications. *Cancer*. 1989;64(9):1879–87.
 57. Gisselbrecht C, Glass B, Mounier N, Singh Gill D, Linch DC, Trneny M, et al. Salvage Regimens With Autologous Transplantation for Relapsed Large B-Cell Lymphoma in the Rituximab Era. *J Clin Oncol*. 2010;28(27):4184–90.
 58. Sehn LH, Scott DW, Chhanabhai M, Berry B, Ruskova A, Berkahn L, et al. Impact

- of Concordant and Discordant Bone Marrow Involvement on Outcome in Diffuse Large B-Cell Lymphoma Treated With R-CHOP. *J Clin Oncol.* 2011;29(11):1452–7.
59. A clinical evaluation of the International Lymphoma Study Group classification of non-Hodgkin's lymphoma. The Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *Blood.* 1997;89(11):3909–18.
 60. Lim ST, Tao M, Cheung YB, Rajan S, Mann B. Can patients with early-stage diffuse large B-cell lymphoma be treated without bone marrow biopsy? *Ann Oncol.* Oxford University Press; 2005 ;16(2):215–8.
 61. Haioun C, Itti E, Rahmouni A, Brice P, Rain J-D, Belhadj K, et al. [18F]fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography (FDG-PET) in aggressive lymphoma: an early prognostic tool for predicting patient outcome. *Blood.* American Society of Hematology; 2005;106(4):1376–81.
 62. Brunning RD, Bloomfield CD, Mckenna RW, Peterson L. Bilateral Trephine Bone Marrow Biopsies in Lymphoma and Other Neoplastic Diseases. *Ann Intern Med.* American College of Physicians; 1975;82(3):365.
 63. Menon NC, Buchanan JG. Bilateral trephine bone marrow biopsies in Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphoma. *Pathology.* 1979;11(1):53–7.
 64. Degen C, Christen S, Rovo A, Gratwohl A. Bone marrow examination: a prospective survey on factors associated with pain. *Ann Hematol.* 2010;89(6):619–24.
 65. Cantadori LO, Gaiolla RD, Niero-Melo L, Oliveira CC. Bone Marrow Aspirate Clot: A Useful Technique in Diagnosis and Follow-Up of Hematological Disorders. *Case Rep Hematol;* 2019; Hindawi Limited.
 66. Cheson BD, Pfistner B, Juweid ME, Gascoyne RD, Specht L, Horning SJ, et al. Revised response criteria for malignant lymphoma. *J Clin Oncol.* American Society of Clinical Oncology; 2007;25(5):579–86.
 67. Berthet L, Cochet A, Kanoun S, Berriolo-Riedinger A, Humbert O, Toubreau M, et al. In Newly Diagnosed Diffuse Large B-Cell Lymphoma, Determination of Bone Marrow Involvement with 18 F-FDG PET/CT Provides Better Diagnostic Performance and Prognostic Stratification Than Does Biopsy. *J Nucl Med.* 2013;54:1–7.
 68. Rappaport H. Tumors of the Hematopoietic System. *Atlas of Tumor Pathology.* *Ann Intern Med.* 1967;67(3_Part_1):686-687.
 69. Iqbal J, Naushad H, Bi C, Yu J, Bouska A, Rohr J, et al. Genomic signatures in B-cell lymphoma: How can these improve precision in diagnosis and inform prognosis? *Blood Rev.* 2016;30(2):73–88.
 70. Smith JL, Clein GP, Barker CR, Collins RD. Characterisation of malignant

- mediastinal lymphoid neoplasm (Sternberg sarcoma) as thymic in origin. *Lancet* (London, England). 1973;1(7794):74–7.
71. Lennert K, Stein H, Kaiserling E. Cytological and functional criteria for the classification of malignant lymphomata. *Br J Cancer Suppl.* 1975;2:29–43.
 72. Lukes RJ, Collins RD. Immunologic characterization of human malignant lymphomas. *Cancer.* 1974];34(4 Suppl):suppl:1488-503.
 73. Carbone A, Gloghini A, Kwong Y-L, Younes A. Diffuse large B cell lymphoma: using pathologic and molecular biomarkers to define subgroups for novel therapy. *Ann Hematol.* 2014;93(8):1263.
 74. Scott DW, Wright GW, Williams PM, Lih C-J, Walsh W, Jaffe ES, et al. Determining cell-of-origin subtypes of diffuse large B-cell lymphoma using gene expression in formalin-fixed paraffin-embedded tissue. *Blood.* 2014;123(8):1214–7.
 75. Collie AMB, Nölling J, Divakar KM, Lin JJ, Carver P, Durkin LM, et al. Molecular subtype classification of formalin-fixed, paraffin-embedded diffuse large B-cell lymphoma samples on the ICEPlex® system. *Br J Haematol.* NIH Public Access; 2014;167(2):281–5.
 76. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, Gascoyne RD, Delabie J, Ott G, et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood.* 2004;103(1):275–82.
 77. Moskowitz CH. Interim PET-CT in the management of diffuse large B-cell lymphoma. *Hematol Am Soc Hematol Educ Progr. American Society of Hematology;* 2012;2012(1):397–401.
 78. Armitage JO. My Treatment Approach to Patients With Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Mayo Clin Proc.* 2012;87(2):161–71.
 79. Talaulikar D, Dahlstrom JE, Shadbolt B, Broomfield A, McDonald A. Role of immunohistochemistry in staging diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). *J Histochem Cytochem. Histochemical Society;* 2008];56(10):893–900.
 80. Talaulikar D, Dahlstrom JE, Shadbolt B, McNiven M, Broomfield A, Pidcock M. Occult bone marrow involvement in patients with diffuse large B-cell lymphoma: results of a pilot study. *Pathology.* 2007;39(6):580–5.
 81. Baiyee D, Warnke R, Natkunam Y. Lack of Utility of CD20 Immunohistochemistry in Staging Bone Marrow Biopsies for Diffuse Large B-cell Lymphoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2009;17(2):93–5.
 82. Lucca-Silveira MP de, Lucca-Silveira MP de. The Health Gap: The Challenge Of An Unequal World. *Cad Saude Publica. Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz;* 2016;32(11).

83. Deaton A. The great escape : health, wealth, and the origins of inequality. TSEG/ Low Countries Journal of Social and Economic History. 2014;11(3), pp.198–200.
84. Rio Political Declaration on Social Determinants of Health. World Conference on Social Determinants of Health. World Health Organization (WHO), 2015. Disponível em: <https://www.who.int/sdhconference/declaration/en/>. [Acessado em 26 de Abril de 2019].
85. Saldiva PHN, Veras M. Gastos públicos com saúde: breve histórico, situação atual e perspectivas futuras. Estudos Avançados. Instituto de Estudos Avançados da Universidade de São Paulo; 2017; 32(92):47–61.
86. Victora CG, Aquino EM, do Carmo Leal M, Monteiro CA, Barros FC, Szwarcwald CL. Maternal and child health in Brazil: progress and challenges. Lancet. 2011;377(9780):1863–76.
87. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas (IBGE). Séries Estatísticas & Séries Históricas.. Disponível em <http://www.ibge.gov.br>. [Acesso em 26 de Abril de 2019]
88. R Dal Poz CM, Roberto Dal Poz M. The health workforce crisis A crise da força de trabalho em saúde La crisis del personal sanitario. 2013;29(10):1924–6.
89. Scheffer MC, Dal Poz MR. The privatization of medical education in Brazil: trends and challenges. Human Resources for Health. 2015; 13:96
90. Scheffer M, Cassenote A, Guilloux A G A, Biancarelli A, Miotto A, Mainardi G M, et al. Demografia Médica no Brasil. São Paulo, SP: FMUSP, CFM, Cremesp, 2018; 286 p.

Conclusões Finais

- O estudo vai ao encontro da literatura internacional ao concluir que o estudo morfológico da MO para detecção de infiltração por LFGCB deve ser acompanhado de avaliação IHQ.
- Os principais padrões de infiltração da MO caracterizados foram a infiltração intersticial, difusa e nodular, sendo esta última, por meio de AcL, que podem estar em topografia peritrabecular ou entre os espaços medulares (não peritrabecular).
- Os achados morfológicos que se correlacionam com infiltração detectada utilizando nosso método padrão ouro foram: presença de AcL em quantidade igual ou superior a dois AcL e expansão da trama reticulínica dentro dos AcL em grau 2 ou grau 3 da OMS.
- Apesar da boa especificidade (91,3%) e acurácia (81,2%), a análise morfológica isolada mostrou-se pouco sensível (42,9%) e com coeficiente de concordância kappa interpretado como razoável ($k=0,37$), sendo portanto pouco indicado para rastreio diagnóstico.