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: Profª. Drª. 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: Profª. Drª. 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 Cucielo, 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 ABREVIAÇÕES

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: Índice de Prognóstico Internacional.

LDGCB: Linfoma difuso de grandes células B.

LH: Linfoma Hodgkin.

LNH: linfoma não-Hodgkin.

MO: Medula óssea.

OMS: Organização Mundial da Saúde.

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

R-IPI: Índice de Prognóstico Internacional Revisado.

SUS: Sistema único de saúde.

IARC: International Agency for Research on Cancer.

DLH: Desidrogenase lática 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 parâmentros 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
1.3Técnicasanatomopatológicas 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 estar 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 agreggates in BM and the increase in reticulin stain into the lymphoid agreggates showed p-value respectively of 0.02 and a median of 2 agreggates 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 diferenciação [1]. 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 específicos [5].

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 mulheres [6].

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 estádio 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 lática 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 hematopatologia[1], 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 grandes[1]

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.

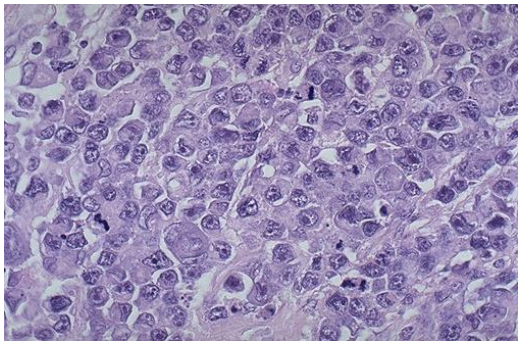

Figura 1. Morfologia clássica do LDGCB nodal. Foto de caso de arquivo do Departamento de Patologia, FMB UNESP. Coloração Hematoxilina-Eosina. Aumento 400x.

O LDGCB é de imunofenótipo B, exibindo positividade para imunomarcadores como CD20, CD79a e PAX-5, com imunoexpressão 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 algoritimo de Hans, que leva em consideração a imunoexpressão positiva (acima de 30% de marcação) ou negativa, dos marcadores CD10, Bcl-6 e MUM-1[27].

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-2 [28]. 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 associados 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 S*ecreted Protein, Acidic, and Rich in Cysteine*) menor que 5% e densidade vascular para classificar os pacientes em grupos com prognósticos favoráveis e desfavoráveis [2924].

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 (*BCL*6), 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]. Jardin (2019) discute as dificuldades atualmente enfrentadas pela oncologia em adicionar outras drogas que tenham impacto significante no aumento do percentual daqueles com progressão livre de doença, prolongamento de remissões e diminuição da mortalidade, tal como a adição de bortezomibe, que exibe 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].

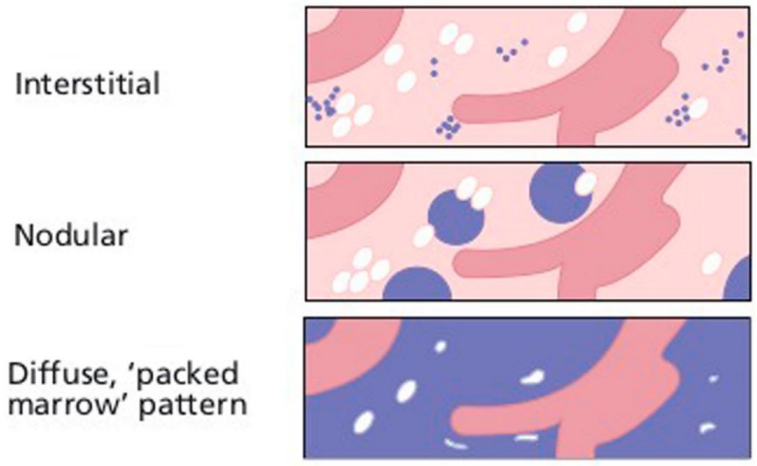

Figura 2. Padrões de infiltração da MO. Modificado de *Bone Marrow Pathology*, 4th, BAIN and WILKINS, 2010.

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 B [30].

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 grau [45–48]. Nessa última configuração, presume-se que o LDGCB pode ter se desenvolvido através da transformação de linfoma B de baixo grau [49]. 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 àquelas 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 inicias 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 LDGCB [68]. 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 neoplásicas [69].

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 al [70] 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 B[71]. Na década de 70, classificações de linfomas baseadas na funcionalidade do sistema imune forem 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 conhecimento adquirido 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, consequentemente, 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.

Taulalikar et al (2008) estudaram 156 pacientes com diagnóstico de LDGCB, onde 11% foram diagnosticados com infiltração neoplásica da MO apenas pelo estudo IHQ [80]. 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 inicial [81].

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 estadiamento [82]. 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 convencionais [70]. 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 ideias 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 deficit 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 patologistas [90].

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 imunoistoquímica. Assim, a avaliação de critérios morfológicos em relação ao seu poder de detecção da infiltração neoplásica, tendo como padrão ouro para o diagnóstico a imunoistoquímica 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. European Medical Journal. 2018. p. 99–107.

21. Oliveira CC, Maciel-Guerra H, Kucko L, Hirama 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-Salzmann 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-HLPF. 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, Toubeau 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 Hematopoeitic System. Atlas of Tumor Parhology. 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.

3. JUSTIFICATIVA

A biópsia de medula óssea é histologicamente avaliada nas colorações de hematoxilina-eosina e reticulina e, convencionalmente, as informações resultantes dessas avaliações produzem interpretações quanto à infiltração ou não por neoplasias hematológicas, dado que proporciona estadiamento dos pacientes e implica no tratamento e prognóstico.

O presente estudo, em consonância com a literatura recente, questiona se o uso isolado do método morfológico é suficiente para o adequado estadiamento desses pacientes. A alternativa proposta para ampliar a capacidade de detecção dessas condições é a utilização da imunoistoquímica, com aplicação de, pelo menos, dois marcadores: CD20 e CD3.

Entretanto, a utilização dessa ferramenta na rotina diagnóstica pode ampliar os custos financeiros e restringir esse diagnóstico a centros de Patologia com disponibilidade de tal recurso. Diante da prevalência do LDGCB, o presente estudo é atual e de extrema relevância ao avaliar essas duas metodologias de análise da medula óssea, além de ser inédito no Brasil.

4. OBJETIVOS

4.1. Geral

- Avaliar a detecção de infiltração de LDGCB na medula óssea por meio de avaliação histológica convencional e por meio de estudo imunoistoquímico.

4.2. Específicos:

- Caracterizar os padrões histológicos de infiltração da medula óssea por LDGCB, enfatizando a análise de AcL nessa topografia.
- Associar os achados imunoistoquímicos das biópsias de medula óssea para estadiamento de LDGCB com os padrões morfológicos identificados nestas mesmas amostras.
- Determinar a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia do método histológico, tendo como padrão ouro o estudo imunoistoquímico.

Capítulo II

LINFOMA DIFUSO DE GRANDES CÉLULAS B: ESTUDO COMPARATIVO ENTRE ANÁLISE MORFOLÓGICA E IMUNOISTOQUÍMICA DA MEDULA ÓSSEA PARA ESTADIAMENTO

Vinicius Cardoso Nóbrega[1], Maria Aparecida Custódio Domingues[2], Lígia Niero-Melo[3], Cristiano Claudino Oliveira[4].

[1] Médico patologista assistente, Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB/UNESP).

[2] Médica patologista docente, Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB/UNESP).

[3] Médica hematologista docente, Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB/UNESP).

[4] Médico patologista assistente, Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB/UNESP) e Hospital São Luiz/D'Or.

Revista sugerida para publicação: Diagnostic Pathology, BioMed Central, fator de impacto de 2.39.

Resumo

Linfoma difuso de grandes células B (LDGCB) é o mais prevalente subtipo de linfomas não-Hodgkin. O LDGCB pode infiltrar a medula óssea (MO) do paciente, diminuindo sua sobrevida, representando, assim, um dos principais determinantes do estadiamento da LDGCB. O estudo comparou a análise unicamente morfológica da MO em relação a combinação de estudo morfológico acrescido de análise imunoistoquímica (IHQ). Para isso, pacientes com LDGCB submetidos a biópsia/aspirado de MO para estadiamento foram analisados a partir de aspectos morfológicos e dos imunomarcadores CD20 e CD3. As análises morfológicas isoladas mostraram uma sensibilidade baixa (42,9%), portanto sendo pouco recomendada para objetivo de triagem. A quantidade de acúmulos linfoides (AcL) na MO mostrou associação estatisticamente significativa com a detecção final de infiltração neoplásica (p=0,02 para mediana de 3 acúmulos). A trama reticulínica no AcL também foi maior nos pacientes com infiltração neoplásica medular (p=0,01, para grau 2). A análise morfológica deve preferencialmente ser acompanhada da IHC.

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

Abstract

Diffuse Large B Cell Lymphoma (DLBCL) is the most prevalent Non-Hodgkin's Lymphoma. DLBCL may infiltrates the bone marrow (BM), decreasing overall survival, so rolling an important play in DLBCL staging. The study compared morphological isolated analysis versus morphological analysis combined with immunohistochemistry. For this, patients with LDGCB submitted to BM biopsy/aspiration for staging were analyzed by morphological aspects and immunomarkers CD20 and CD3. The isolated morphological analyzes showed a low sensitivity, with 42.9%, being considered inadequate for a screening test. The amount of lymphoid aggregates in the BM showed a p-value of 0.02 with a median of 3 aggregates, whereas the reticulinic tissue into the lymphoid aggregate presented p-value of 0,01 with a median of grade 2. This shows a possible relation of this two morphological aspects with BM infiltration. Therefore, the morphological analysis must be accompanied by the immunohistochemical analysis.

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

Introdução

Linfoma difuso de grandes células B (LDGCB) é o subtipo mais comum de linfoma não-Hodgkin (LNH), podendo ser nodal ou extranodal, e em geral, clinicamente agressivo [1,2].

O acometimento da medula óssea (MO) nestes casos tem ocorrência estimada em 12% a 35% dos pacientes[3,4,5] determinando estágios mais avançados e implicações prognósticas relevantes [6].

As biópsias de medula óssea são o método clássico para estadiamento, e são analisadas basicamente sob critérios morfológicos, podendo ou não ser acrescida a avaliação imunofenotípica por imunoistoquímica (IHQ) com marcadores de linhagem B e linhagem T (CD20 e CD3, por exemplo, respectivamente) [7].

O LDGCB pode infiltrar a medula óssea difusamente, com morfologia similar àquela observada no seu acometimento principal. Essa mesma medula, contudo, pode exibir infiltração por linfoma de baixo grau, interpretado no contexto do fenômeno da transformação[7]. Para essas situações, tanto a detecção de AcL como a interpretação morfológica somada às colorações de reticulina e IHQ, colaboram para definições mais precisas quanto ao diferencial entre benignidade e malignidade. Talaulikar et al (2007 e 2008) e por Baiyee et al (2009) mostram resultados divergentes quanto ao uso da IHQ rotineiramente na análise da MO, fomentando a necessidade de novas investigações [8,9,10]

O presente estudo comparou a análise exclusivamente morfológica da MO frente ao acréscimo da IHQ com os marcadores CD20 e CD3, determinando o poder diagnóstico do estudo morfológico tendo como padrão ouro a análise combinada com IHQ.

Materiais e Métodos

Pacientes:

Trata-se de estudo retrospectivo e transversal com 113 pacientes diagnosticados com LDGCB SOE e submetidos à amostragem da MO para estadiamento. A casuística foi composta por pacientes atendidos pelo Serviço de Hematologia do Hospital de Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (HC-FMB-UNESP) no período de 1998 até 2017. O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) local (CAAE: 66028417.3.0000.5411).

A seleção dos pacientes ocorreu pela revisão dos casos de LDGCB no presente hospital pelo sistema de arquivo do Departamento de Patologia. A partir da detecção dos pacientes, esses tiveram os prontuários revisados quanto a presença de infiltração neoplásica das medulas.

Revisão Clínica

Os prontuários foram revisados e os dados clínico-demográficos foram coletados a partir das consultas médicas em formulário específico contendo informações quanto ao sexo, idade no momento do diagnóstico, manifestações clínicas (“Sintomas B”, sítio nodal e/ou extranodal, envolvimento sistêmico), tempo de acompanhamento clínico, desfecho (cura, manutenção da doença ou óbito), tratamento e estadiamento.

Revisão Morfológica

Os pacientes selecionados tiveram suas lâminas de biópsia/aspirado de MO, revisadas por três patologistas (Nóbrega, VC; Oliveira, CC e Domingues, MAC). Para isso, cortes histológicos foram desparafinizados com xilol e hidratados com álcoois (3 baterias), seguindo-se as seguintes receitas de colorações usadas na rotna do serviço de patologia do hospital:

- ✓ Hematoxilina-eosina: os cortes foram corados com hematoxilina de Harris (10 minutos) e contra corados com eosina-floxina (2-3 minutos). Foi feita diafanização dos cortes em bateria crescente de álcoois seguida de xilol e posteriormente montadas com lamínulas usando resina sintética Permont®.
- ✓ Reticulina: Os cortes passaram em permanganato de potássio 0,5% (2 minutos), ácido oxálico 5% (1 minuto), sulfato férrico amoniacal 3% (2 minutos) e posteriormente impregnados com solução de prata amoniacal. Após lavados, foi feita redução em formol 20% (3 minutos) e passagem em tiossulfato de sódio 3%

(3 minutos). Posteriormente, foi feita contra coloração com solução de Van Gieson (3 minutos). E por fim, desidratados em xilol e montados com lamínulas usando resina sintética Permont®.

Foram analisados os critérios de celularidade global e por linhagem hematopoiética, arcabouço reticulínico (avaliação qualitativa conforme a Organização Mundial da Saúde, Quadro I), presença de AcL. Casos em que o acometimento neoplásico foi detectado, foram classificados quanto ao padrão de infiltração (nodular, intersticial ou misto).

Quando houve detecção de AcL, esses foram analisados quanto ao número, localização, bordas, vascularização e grau de arcabouço reticulínico. Os coágulos de medula, obtidos a partir de aspiração de punção, segundo rotina do nosso Serviço de Sematologia, foram avaliados quanto à representatividade e concordância com a biópsia. Casos onde os blocos parafinados não estavam disponíveis, ou as amostras eram insuficientes para análise, foram descartados do estudo.

Quadro I. Avaliação qualitativa do arcabouço reticulínico[1].

Grau 0, filamentos frouxos e delicados, sem intercruzamento de fibras (medula normal)
Grau 1, filamentos frouxos, com intercruzamento de fibras.
Grau 2, trama de filamentos espessos, densos, difusos e intercruzantes.
Grau 3, deposição de colágeno tipo IV (mielofibrose).

Estudo Imunoistoquímico

As reações de imunoistoquímica foram realizadas no Departamento de Patologia da FMB/UNESP em amostras parafinizadas. Os cortes histológicos foram submetidos ao exame imunoistoquímico em sistema automatizado, com recuperação antigênica no TPLink (Dako) e incubação, revelação e contra-coloração no AutoStainer Link48 (Dako), utilizando-se polímero de alta sensibilidade e anticorpos FLEX *ready-to-use.* Os marcadores utilizados foram CD20 (Dako IR604, clone L26, kit *ready-to-use*, Mouse) e CD3 (Dako IR503, clone UCHT1, kit *ready-to-use*, Rabbit). Os resultados foram interpretados quanto à sua positividade ou negatividade e quanto à proporção de linfócitos T e linfócitos B, seja globalmente ou nos AcL, quando presentes.

O padrão do AcL foi classificado de 1 a 5, segundo propuseram Johnston et al (2015), onde o padrão 1 consiste de acúmulo exclusivamente povoado por linfócitos T, o padrão 2 consiste de acúmulos predominantemente povoados por linfócitos T porém com pequena quantidade de células B, o padrão 3 possuindo igual proporção de células B e T, o padrão 4 com predomínio de células B e o padrão 5 com população total de células B. Foram considerados positivos para infiltrado maligno apenas padrões 4 e 5.

Análise Estatística:

Foi realizada avaliação descritiva dos dados morfológicos, imunoistoquímicos e clínicos.. O valor de *p* considerado significante foi menor que 0,05. Para os testes diagnósticos, calculou-se: sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia (quando apropriado), incluindo os seus intervalos de confiança de 95%. A partir da sensibilidade e especificidade obtidas foram construídas curvas ROC (*receiver operating characteristic)* para determinadas variáveis morfológicas. As variáveis, conforme a necessidade, foram submetidas a testes de normalidade e então analisadas por testes paramétricos e não-paramétricos. O índice de concordância kappa foi performado e seu resultado foi interpretado segundo Landis e Koch (1977): <0,0 insignificante; 0,0-0,20 fraca; 0,21-0,40 razoável; 0,41-0,60 moderada; 0,61-0,80 forte; 0,81-1,00 quase perfeita [11]. Os dados foram analisados usando o SPSS para Windows, versão 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA).

Resultados

I. Perfil clínico dos pacientes

Dos 113 casos de LDGCB levantados, 12 foram excluídos por não atenderem aos critérios de inclusão do trabalho. Entre os 101 pacientes com aspectos morfológicos avaliáveis, a mediana de idade foi 57 anos, variando entre 7 e 89 anos. A tabela I demonstra a frequência de achados clínicos, considerando os pacientes com prontuários e informações disponíveis.

Tabela I. Sinais e sintomas apresentados pelos pacientes com LDGCB

Sinais e Sintomas	***N***	***%***
Sudorese	16/87	18,4
Febre	14/87	16,1
Prurido	1/87	1,0
Emagrecimento	37/87	42,5
Massa Extranodal	38/88	43,2
Adenopatias	50/88	56,8
Esplenomegalia	3/101	3
Anemia	40/88	45,5
Plaquetopenia	10/88	11,4
Leucopenia	9/88	10,2
Leucocitose	10/88	11,4
Infiltração do SNC	5/79	6,3

SNC: sistema nervoso central

Quanto aos tratamentos quimioterápicos, 27/88 (30,7%), usaram o esquema com rituximabe (R-CHOP). A radioterapia foi aplicada a 25/88 pacientes (28,4%). Evolução desfavorável foi considerada como aqueles pacientes com óbito (39,2% dos casos), recidivas (35,2%) ou manutenção da doença (5,4%).

Nenhuma das características clínicas estudadas apresentou diferenças estatisticamente significativas quando testadas suas associações com a presença de infiltração neoplásica medular. Entre os 87 indivíduos com informações clínico-morfológicas disponíveis, 15 exibiram infiltração neoplásica na MO e, desses, nove (64,3%) tiveram evolução para óbito (p=0,035).

A realização da IHQ não modificou o resultado diagnóstico morfológico em 83 dos 101 casos avaliados, representando 82,2%. O estadiamento foi elevado em 11 pacientes (10,9%) e foi reduzido em sete pacientes (6,9%). Três pacientes entre aqueles em que a IHQ ampliou o estadiamento tiveram evolução desfavorável (p=0,554) e dois evoluíram para óbito (p=0,562).

Em relação à DHL, considerada elevada quando acima de 242 mg/dL no presente serviço, a mediana foi de 725 (152-4.386), não diferindo estatisticamente entre os grupos de infiltrados ou não por neoplasia (p=0,227, Mann-Whitney).

II. Descrição geral dos pacientes

Análises histopatológicas foram realizadas em 101 casos, como mostrado na Tabela II. A avaliação demonstrou hipercelularidade global da MO em 56 pacientes (55,4%). As séries hematopoiéticas também tiveram celularidade aumentada, sendo de linhagem mieloide em 48 (47,5%) casos, granulocítica em 30 (29,7%), megacariocítica em 58 (57,4%) e linfoplasmacítica em 63 (62,4%), podendo, porém, haver associação às comorbidades dos pacientes.

Em 64 casos (63,4%), detectou-se a presença de AcL, sendo que em 42 pacientes (65,6%) ocorreu interferência da IHC na avaliação: 31 casos (48.4%) tiveram AcL ressaltadas pela IHC e 11 (17.2%) apresentaram aumento numérico dos acúmulos pela IHC.

Os AcL foram classificados quanto ao número, variando entre 1 e 9 acúmulos, com mediana de 2. Os AcL apresentaram-se localizados na região peri-trabecular em 24 casos (37,5%), não peri-trabecular em 27 (42,2%) e em coágulos biopsiados em 13 (20,3%). As bordas dos AcL foram classificadas em regulares em 33 casos (51,6%) e o aumento reticulínico nos AcL foi encontrado em 39 casos (60,9%), sendo grau II em 37 (57,8%) e grau III em 2 (3,1%). Foram encontrados vasos no AcL em 9 (14,1%).

O coágulo de MO foi concordante com a biópsia de MO em 62 casos (71,3%). Dos 101 casos totais analisados, 16 pacientes (15,8%) tiveram a infiltração detectada já na análise isolada ao HE, e posteriormente confirmados com IHQ. O estudo, entretanto, com a avaliação imunofenotípica somada à morfológica, considerou infiltrados 21 casos (20,8%), que apresentaram, portanto, padrão imunoistoquímico 4 ou 5 nos AcL.

Tabela II. Avaliação morfológica da MO coletada para estadiamento de 101 pacientes com LDGCB.

Características histopatológicas	***N***	***%***
Hipercelularidade global	56	55,4%
Hipercelularidade Mieloide	48	47,5%
Hipercelularidade Eritroide	30	29,7%
Hipercelularidade Megacariocítica	58	57,4
Aumento Reticulínico Geral (II/III)	9	8,9%
Hipercelularidade Linfoplasmacítica	63	62,4%
• Intersticial	• 31	• 30,7%
• Nodular	• 21	• 20,8%
• Misto	• 11	• 10,9%
Quantidade de AcL (n=64)		
• 1	• 23	• 35,9%
• 2	• 19	• 29,7%
• 3	• 6	• 9,4%
• 4	• 5	• 7,8%
• 5	• 4	• 6,3%
• 6	• 1	• 1,6%
• 7	• 4	• 6,3%
• 8	• 1	• 1,6%
• 9	• 1	• 1,6%
Bordas irregulares dos AcL (n=64)	31	48,4%
Aumento reticulínico no AcL (n=64)	39	60,9%
• Grau II	• 37	• 57,8%

• Grau III	• 2	• 3,1%
Vasos sanguíneos no AcL (n=64)	9	14,1%
Padrão do AcL (n=64)		
• Padrão 1	• 17	• 26,6%
• Padrão 2	• 21	• 32,8%
• Padrão 3	• 5	• 7,8%
• Padrão 4	• 17	• 26,6%
• Padrão 5	• 4	• 6,3%

HE: Coloração por Hematoxilina-Eosina; AcL: acúmulo linfoide; IHC: Imunoistoquímica. Os padrões de AcL 4 e 5 foram considerados positivos para infiltração neoplásica.

III. Associação entre variáveis morfológicas e casos infiltrados.

As análises histológicas mostraram que 17 (80,9%) pacientes com infiltração neoplásica apresentaram hipercelularidade linfoplasmacítica, diferença estatisticamente significativa (p=0,032). Os diferentes padrões de hipercelularidade foram estatisticamente significativos para a detecção de infiltração neoplásica medular, sendo o tipo nodular o mais comum (nove pacientes; 42,9%; p<0,001).

Houve identificação de AcL em todos os 21 casos detectados com infiltração (p<0,001). Os AcL apresentaram-se em localização peri-trabecular em 13 casos (61,9%;p=0,018). As bordas eram irregulares em 15 casos (71,4%;p=0,010), além de aumento reticulínico no AcL de 85,7% (p=0,004). Nove pacientes tiveram infiltrados detectados já no HE (42,9%;p=0,001), indicando que a suspeita morfológica é um critério importante na proposição de malignidade, a ser confirmada por imunoistoquímica.

Dos pacientes detectados com infiltração, 17 casos eram de infiltração padrão 4 (80,9%) e 4 casos eram de padrão 5 (19,1%). Exemplos de cada um dos padrões de infiltração estão ilustrados nas Figuras I-V.

Tabela III. Associação entre as variáveis morfológicas e presença de infiltração da MO, definida pela IHC

Análises Histopatológicas	***Pacientes com infiltração de MO (n=21)***		
	N	***%***	**p-*valor****
Hipercelularidade Linfoplasmacítica	17	81%	0,032
Padrão de Hipercelularidade			
• Intersticial	• 2	• 9,5%	
• Nodular	• 9	• 42,9%	<0,001
• Misto	• 6	• 28,6%	
Aumento Reticulínico Geral	2	9,5%	0,597
Presença de AcL	21	100%	<0,001
Localização dos acúmulos			0,018
• Peri-trabecular	• 13	• 61,9%	
• Não peri-trabecular	• 5	• 23,8%	
• Coágulo	• 3	• 14,3%	
Bordas dos acúmulos			0,010
• Irregular	• 15	• 71,4%	
Aumento reticulínico no AcL	18	85,7%	0,004
Vasos no AcL	8	38,1%	<0,001
Infiltração detectada no HE	9	42,9%	<0,001

*Qui-quadrado ou exato de Fisher, p<0,05. MO: Medula óssea; HE: Hematoxilina-eosina; AcL:acúmulos linfoides.

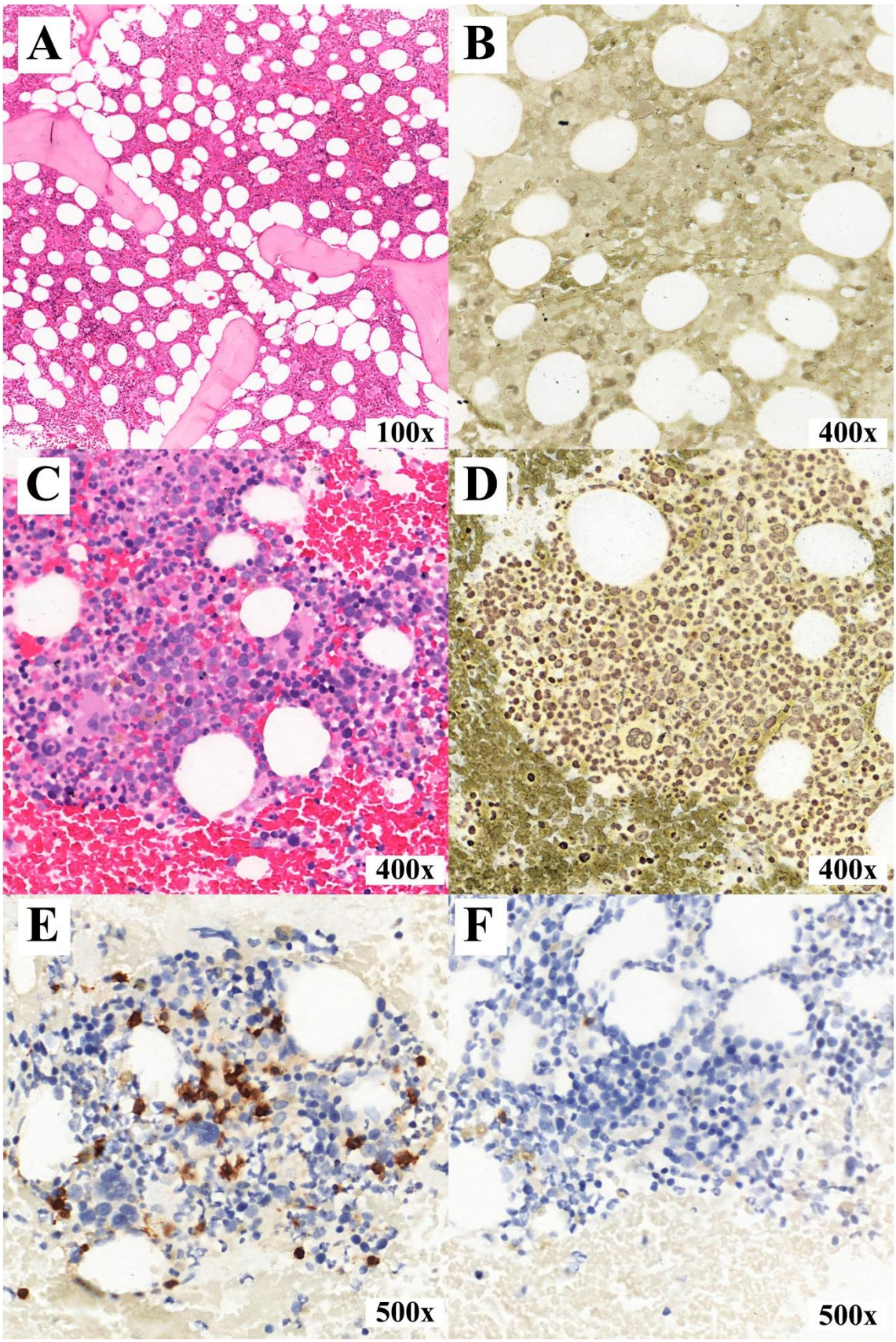

Figura I. Fotomicrografia do AcL padrão 1 do LDGCB. (A e C) HE; (B e D) Reticulina; (E) CD3; (F) CD20.

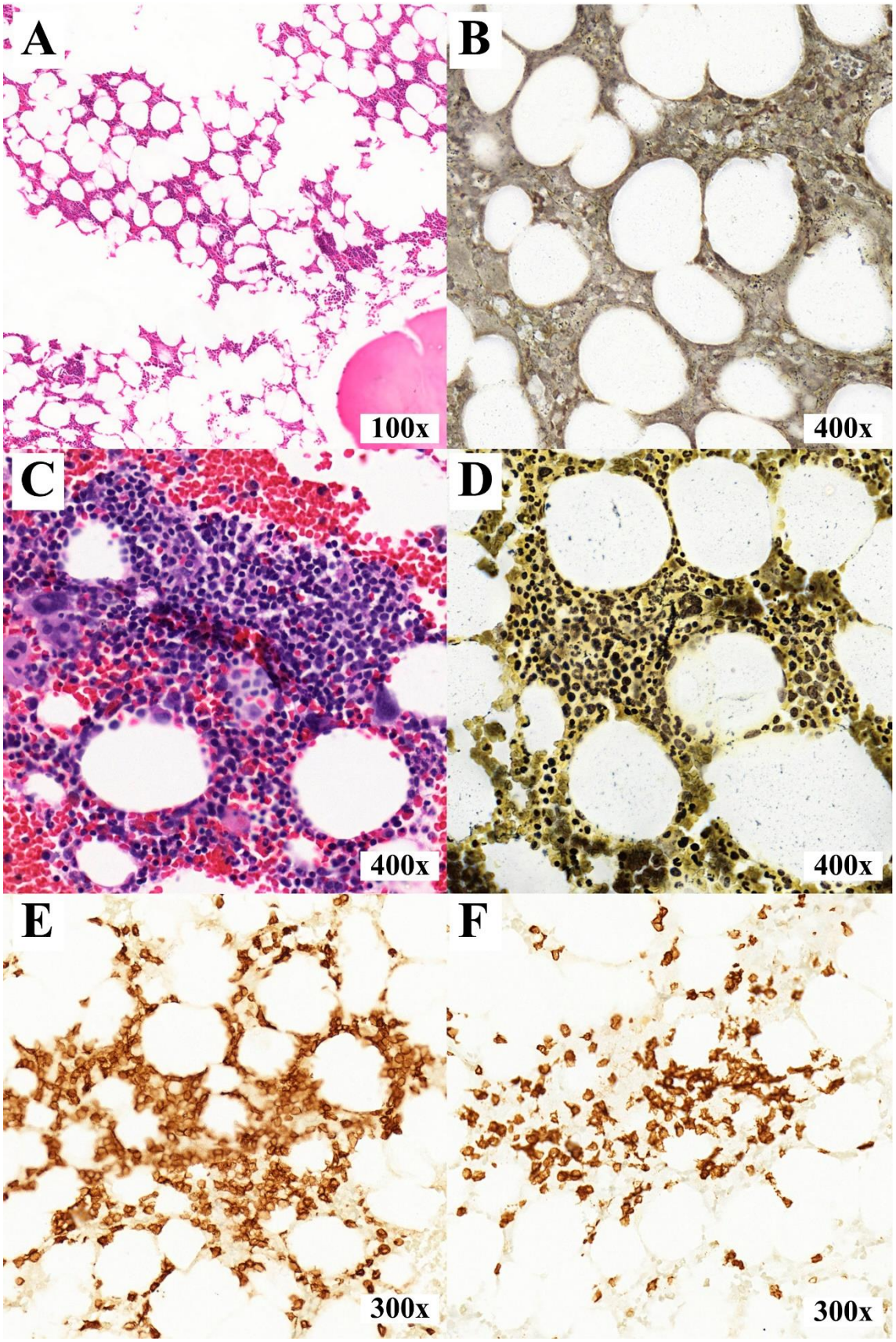

Figura II. Fotomicrografia do AcL padrão 2 do LDGCB. (A e C) HE; (B e D) Reticulina; (E) CD3; (F) CD20.

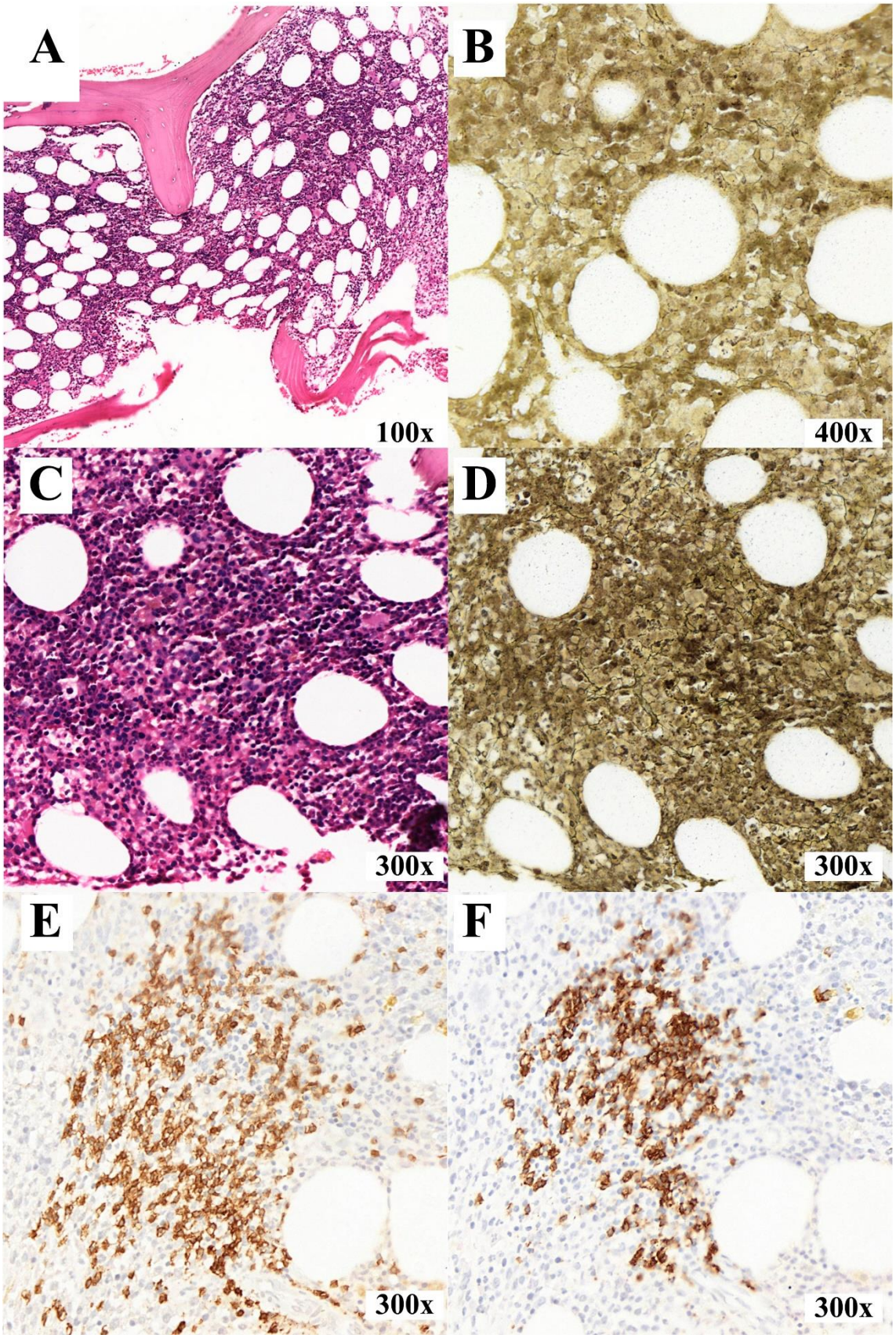

Figura III. Fotomicrografia do AcL padrão 3 do LDGCB. (A e C) HE; (B e D) Reticulina; (E) CD3; (F) CD20.

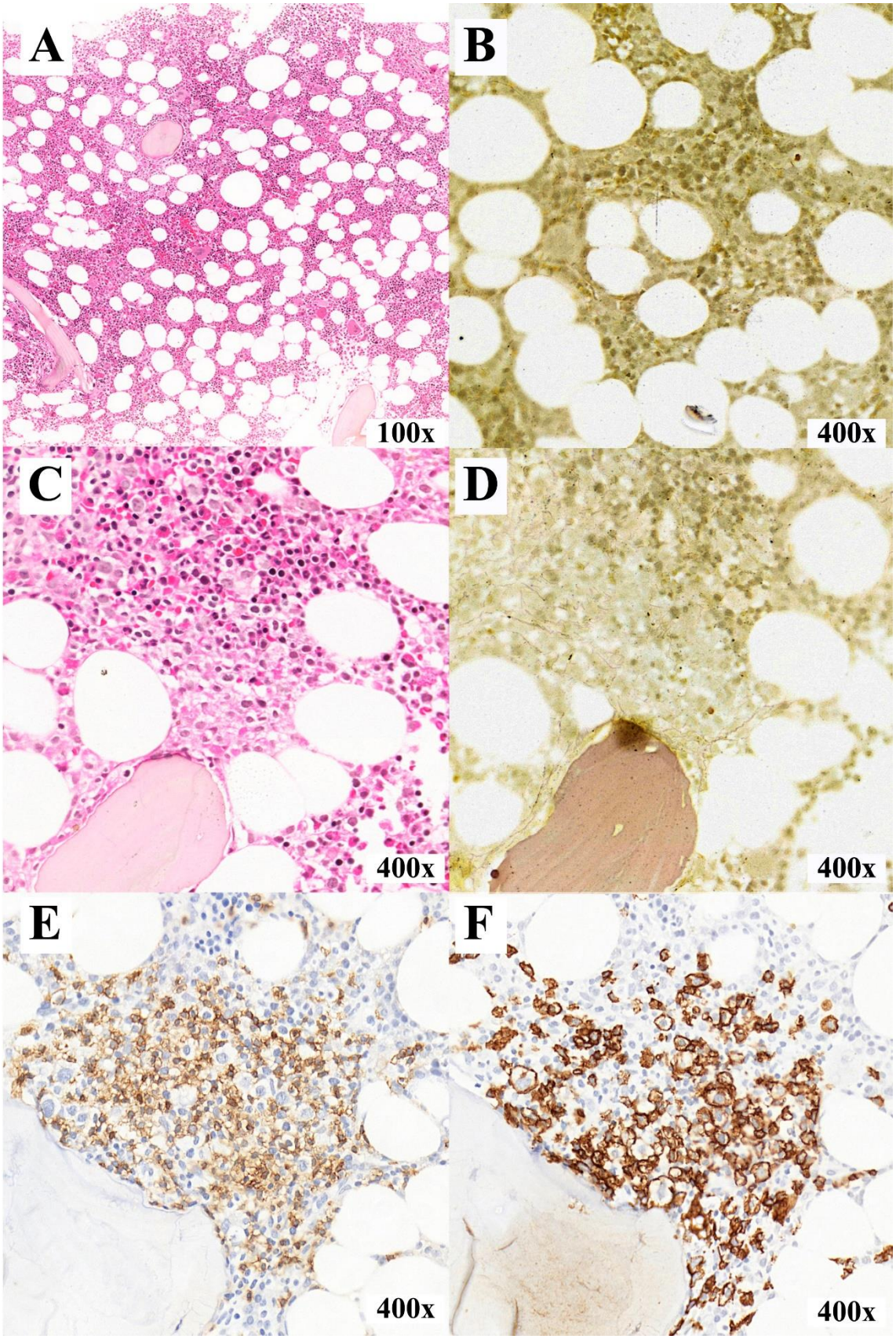

Figura IV. Fotomicrografia do AcL padrão 4 do LDGCB. (A e C) HE; (B e D) Reticulina; (E) CD3; (F) CD20.

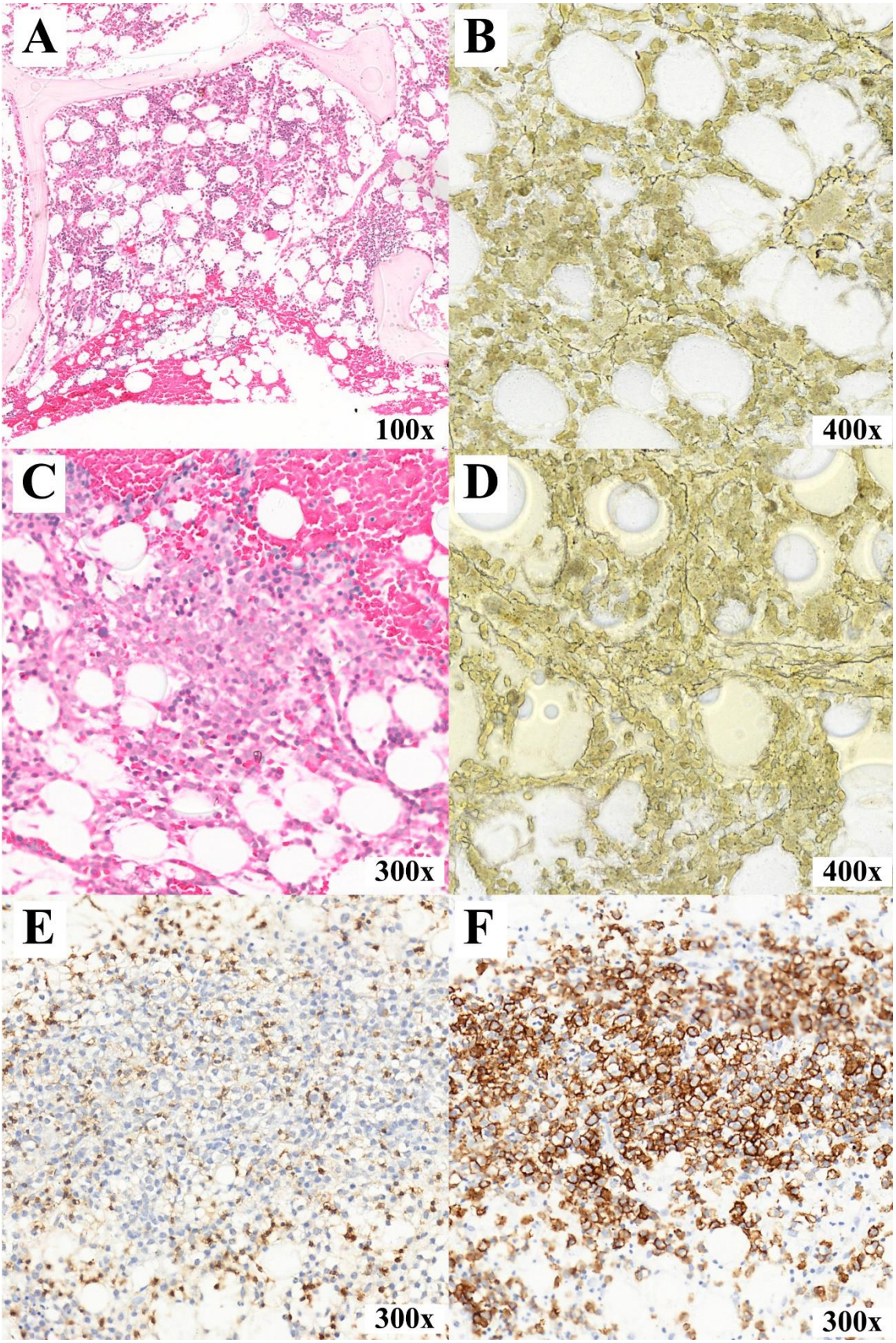

Figura V. Fotomicrografia do AcL padrão 5 do LDGCB. (A e C) HE; (B e D) Reticulina; (E) CD3; (F) CD20.

IV. Análises morfológicas apresentam baixa sensibilidade em relação ao estudo imunoistoquímico

As análises morfológicas pela coloração de HE, quando comparadas com IHC, sendo esta classificada como o método padrão ouro, mostraram sensibilidade de 42,9% (IC95%;21,7-64,0), especificidade de 91,3% (IC95%;81,1-97,4). A acurácia foi de 81,2% (IC95%;73,6-88,8), sendo o valor preditivo positivo (VPP) de 53,3% (IC95%;31,9-80,6) e o valor preditivo negativo (VPN) de 85,9% (IC95%;78,5-93,3), mostrando o percentual de casos verdadeiramente negativos entre todos os laudos dados como não infiltrados. O índice de concordância Kappa foi de 0,37, indicando grau de concordância razoável entre a avaliação com morfologia isolada e morfologia combinada.

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.

Análise morfológica isolada	***Valor***	***IC 95%***
Sensibilidade	42,9%	21,7-64,0
Especificidade	91,3%	81,1-97,4
Acurácia	81,2%	73,6-88,8
Valor preditivo positivo	56,3%	31,9-80,6
Valor preditivo negativo	85,9%	78,5-93,3
Índice de concordância kappa	0,37	0,12-0,63

IC: intervalo de confiança

V. Avaliação de três parâmetros morfológicos em relação ao padrão-ouro

A mediana do aumento reticulínico geral nos pacientes infiltrados é Grau 1 (0-2), a mesma para os pacientes não infiltrados (p=0,285, Mann-Whitney), mostrando não haver associação deste parâmetro com infiltração da MO. Já a mediana do aumento reticulínico no AcL em pacientes infiltrados é Grau 2 (1-3), maior do que aa mediana dos pacientes não infiltrados, Grau 1 (0-3), com p=0,01 (Mann-Whitney), indicando associação com infiltração da MO.

Por fim a mediana do número de AcL entre os infiltrados foi de 3 acúmulos (1-9), contra mediana de 1 acúmulo (0-8) nos casos livres de neoplasia(p=0,020; Mann-Whitney), também evidenciando associação com a infiltração da MO

VI. Curvas ROC de parâmetros morfológicos em relação ao padrão ouro

As curvas ROC (*receiver operating characteristic*) traçadas a partir da especificidade e sensibilidade dos parâmetros morfológicos aumento reticulínico geral, quantidade de AcL e aumento reticulínico nos AcL resultaram na figura VI.

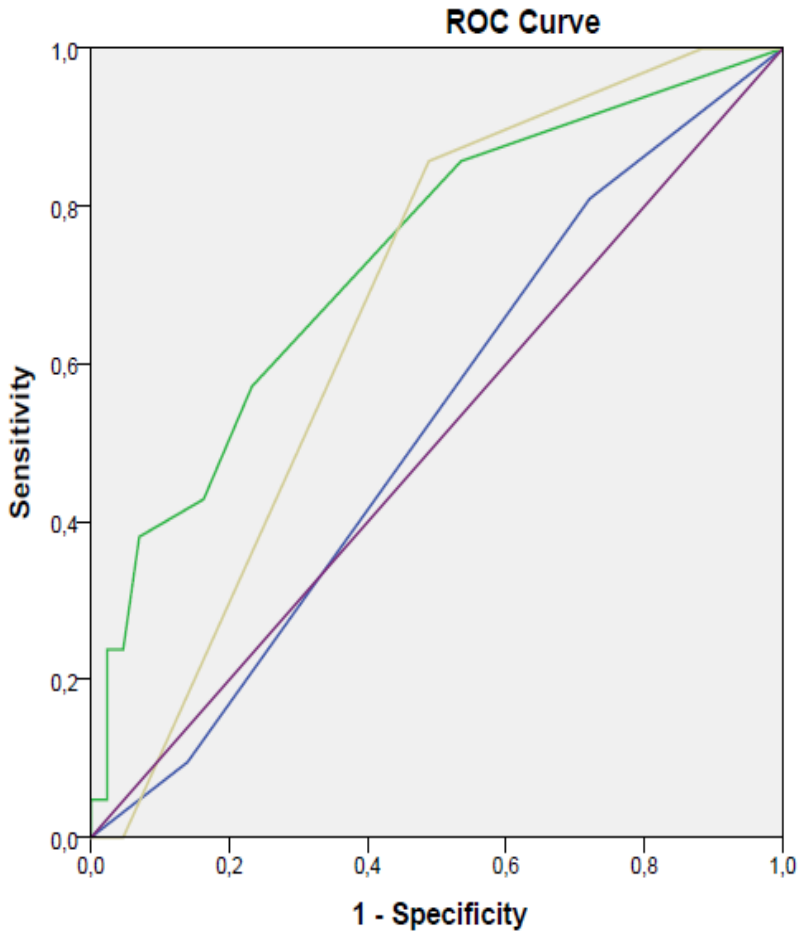

Figura VI. Curva ROC de sensibilidade e especificidade dos parâmentros morfológicos avaliados. A linha azul representa a situação da reticulina avaliada na MO como um todo. A linha verde representa a quantidade de acúmulos linfoides. A linha amarela representa a reticulina no interior do acúmulo linfoide. A cor rosa sinaliza a linha de referência.

O aumento reticulínico geral (curva azul) não demonstrou boas relações entre sensibilidade e especificidade para detecção de infiltração (área sob a curva de 0,570;IC 95%0,438-0,701, *p*=0,328). A sensibilidade e a especificidade, por exemplo, para reticulinas a partir de II, foram 85,7% e 52,2%, respectivamente.

A quantidade de AcL (curva verde), por sua vez, mostrou área sob a curva de 0,734 (IC 95%0,602-0,867, p=0,002), indicando sensibilidade de 57,1% e especificidade de 76,7% para *cutoff* entre 2 e 3 acúmulos.

Já o aumento reticulínico no AcL (curva amarela) mostrou área sob a curva de 67,3 (IC95%;0,541-0,804, p=0,026), revelando, por exemplo, sensibilidade de 85,7% e especificidade de 52,2% para *cutoff* de, pelo menos, grau 2.

Discussão

A hipercelularidade global esteve presente em mais da metade dos casos analisados e os AcL foram encontrados em 63% das MO. Ficou evidente o importante papel que a IHQ teve na identificação e tipificação destes, uma vez que 73% destes acúmulos foram realçados e 27% tiveram sua quantidade aumentada pela metodologia. Além disso, observou-se boa especificidade (91,3%) porém baixa sensibilidade (43%), o que significa ser este um método com deficiências em selecionar os casos negativos e assim problemático para rastreio, justamente a que serviria a análise histológica isolada. Quanto a especificidade, o método se mostrou eficaz em identificar as medulas infiltradas, sendo de real ajuda ao patologista que não disponha de IHQ e precise tomar decisões. Ressalta-se que os casos de infiltração tinham AcL e aplicação de determinados parâmetros, como a quantidade de acúmulos e a reticulina nesses acúmulos, colaboram para especificidade elevada.

A análise exclusivamente morfológica teve 24% de casos falsos negativos em relação a infiltração da medula, sendo que os padrões adotados pela pesquisa identificaram 5 casos a mais de infiltração, totalizando 21 medulas infiltradas, o que corresponde a 20,8% do total de casos, semelhante ao que foi visto por Chung et al (2007) e Campbell et al (2006) [12,13].

Apesar das controversas opiniões quanto à coleta de coágulo de medula óssea, a nossa pesquisa mostrou amostra satisfatória em 86% do total, inclusive com diagnósticos concordantes com as biópsias propriamente ditas. Além disso, também nos coágulos, foram detectados acúmulos em 71% das amostras. Cantadori et al (2019) relatam que o emprego do coágulo, além de poder aumentar a acurácia do estudo da medula como um

todo, ainda se mostra, por não necessitar de descalcificação, mais adequada para realização de IHQ e, quando necessário, avaliação molecular (FISH)[14].

Quando se fez a associação de variáveis morfológicas presentes nas amostras comprovadamente infiltradas, notou-se a presença de AcL em todos eles. Apesar da importância da IHQ, a localização peri trabecular, bordas irregulares e aumento da trama reticulínica estiveram presentes em mais de 60% dos casos, concordando com os achados de Johnston et al (2014) [15] e mostrando que podem ser referências morfológicas úteis na avaliação dos AcL. Apesar disso, apenas 42,8% dos casos infiltrados foram detectados somente com análise morfológica, o que também se reflete no índice de falsos positivos (43,7%), que somaram 7 casos dentre os 16 que a análise morfológica apontou como infiltrados .

O estudo adotou a análise morfológica combinada com imunoistoquímica como padrão ouro para detecção de infiltração na MO, sendo que o padrão de distribuição de linfócitos nos acúmulos considerados positivos foram os classificados de "padrão 4" e "padrão 5". Quando se comparou a análise morfológica estrita, chegou-se a uma alta especificidade, porém baixa sensibilidade, o que é desfavorável para esse tipo de análise, que se propõe a ser uma triagem dos casos que eventualmente teriam que ser submetidos à análise imunoistoquímica. Outro fator preocupante foi o valor preditivo positivo baixo, implicando em considerável quantidade de possíveis falsos-positivos, expondo estes a desnecessário tratamento quimioterápico eventualmente mais agressivo. Este fato, porém não é exclusivo da análise morfológica, como visto por Caimi et al (2016)[16], que também detectou baixo valor preditivo positivo (VPP) em análise da MO por PET/CT. A acurácia deste último entretanto se mostrou elevada, com cerca de 81% dos laudos corretos, superior à análise histológica. A medula óssea é um órgão dinâmico e plural, com séries diferentes em topobiologias distintas, e relativamente sensíveis às variações sistêmicas. Ou seja, alterações de celularidade global e específicas podem ocorrer nesses pacientes de modo que nem sempre serão infiltrações pelo linfoma. A morfologia e o estudo por PET/CT podem falhar nesse sentido, sendo a utilização da IHQ uma ferramenta a mais na precisão do resultado.

Dos três aspectos morfológicos testados para ajudar na identificação de comprometimento da MO, o aumento reticulínico na MO como um todo não mostrou capacidade de identificar os casos positivos nem de porventura filtrar os negativos. Já a quantidade de AcL na amostra (a partir de dois acúmulos em diante) e o aumento de trama reticulínica (grau II e III) especificamente no AcL indicaram ser de valia para uma

avaliação morfológica pura e podem ser úteis na prática diária ou em circunstâncias sub-ótimas, o que vai ao encontro dos resultados e conclusões encontradas na literatura pertinente.

Ao fim, os resultados indicam que a análise morfológica deve ser acompanhada de estudo imunoistoquímico, sob o risco de subdiagnósticos de casos de pior prognóstico, privando esses pacientes de terapia ajustada ou risco de superdiagnósticos de casos não infiltrados. Porém, a realidade médica em nosso país que por vezes nos obriga a trabalhar com recursos escassos, os resultados podem orientar o médico patologista que não dispõe de acesso à imunoistoquímica e que mesmo assim precisa tomar decisões diagnósticas, quais parâmetros morfológicos valorizar em sua leitura da MO. Assim, para essa circunstância, parece ser viável considerar que os achados de 2 ou mais AcL, e estes apresentando aumento reticulínico no seu interior, sirvam como sinalização para uma possível infiltração na medula óssea.

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. Li S, Young KH, Medeiros LJ. Diffuse large B-cell lymphoma. Pathology. Elsevier; 2018;50(1):74–87.

3. 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.

4. 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.

5. 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.

6. 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.

7. 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.

8. 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.

9. 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.

10. 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.

11. Landis JR, Koch GG. The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data. Biometrics. International Biometric Society; 1977;33(1):159.

12. 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.

13. 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.

14. Cantadori L O, Gaiolla R D, Niero-Melo L, Oliveira C C. Bone Marrow Aspirate Clot: A Useful Technique in Diagnosis and Follow-Up of Hematological Disorders. Case Reports in Hematology. 2019; 3-5.

15. 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.

16. Caimi PF, Hill BT, Hsi ED, Smith MR. Clinical approach to diffuse large B cell lymphoma. Blood Rev. 2016;30(6):477–91.

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.