

Aline Caldart Tregnago

**CORRELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DOS LINFÓCITOS
INFILTRANTES TUMORAIS (TILS) NO CÂNCER DE PULMÃO E A
RESPOSTA À QUIMIOTERAPIA SISTÊMICA: UM ESTUDO
TRANSVERSAL**

Dissertação apresentada à Banca da
Universidade de Caxias do Sul, para
obtenção do título de mestra em Ciências
da Saúde.

Caxias do Sul

2025

Aline Caldart Tregnago

**CORRELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DOS LINFÓCITOS
INFILTRANTES TUMORAIS (TILS) NO CÂNCER DE PULMÃO E A
RESPOSTA À QUIMIOTERAPIA SISTÊMICA: UM ESTUDO
TRANSVERSAL**

Dissertação apresentada à Banca da
Universidade de Caxias do Sul, para
obtenção do título de mestra em Ciências
da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Firmbach
Pasqualotto.

Coorientador: Prof. Dr. André Borba Reiriz.

Caxias do Sul

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Universidade de Caxias do Sul
Sistema de Bibliotecas UCS - Processamento Técnico

T786c Tregnago, Aline Caldart

Correlação entre a concentração dos linfócitos infiltrantes tumorais (TILs) no câncer de pulmão e a resposta à quimioterapia sistêmica [recurso eletrônico] : um estudo transversal / Aline Caldart Tregnago. – 2025.

Dados eletrônicos.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2025.

Orientação: Fábio Fimbach Pasqualotto.

Coorientação: André Borba Reiriz.

Modo de acesso: World Wide Web

Disponível em: <https://repositorio.ucs.br>

1. Pulmões - Câncer. 2. Quimioterapia. 3. Linfócitos. I. Pasqualotto, Fábio Fimbach, orient. II. Reiriz, André Borba, coorient. III. Título.

CDU 2. ed.: 616.24-006

Catalogação na fonte elaborada pela(o) bibliotecária(o)
Carolina Machado Quadros - CRB 10/2236

**UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS DA SAÚDE**

PROF. DR. MAURO MADI

**CORRELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DOS LINFÓCITOS
INFILTRANTES TUMORAIS (TILS) NO CÂNCER DE PULMÃO E A
RESPOSTA À QUIMIOTERAPIA SISTÊMICA: UM ESTUDO
TRANSVERSAL**

Aline Caldart Tregnago

Dissertação de Mestrado submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Caxias do Sul, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde, Linha de Pesquisa: Investigação clínica e epidemiológica.

Caxias do Sul, 31 de outubro de 2025.

Banca Examinadora:

Dr. Darcy Pinto
Universidade de Caxias do Sul (UCS)

Dr. Eduardo Brambilla
Universidade de Caxias do Sul (UCS)

Dr. Spencer Marcantonio Camargo
Universidade Federal de Ciências da Saude de Porto Alegre (UFCSPA)

Orientador: Dr. Fábio Firmbach Pasqualotto
Universidade de Caxias do Sul (UCS)

Coorientador: Dr. André Borba Reiriz
Universidade de Caxias do Sul (UCS)

Aline Caldart Tregnago

**CORRELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DOS LINFÓCITOS
INFILTRANTES TUMORAIS (TILS) NO CÂNCER DE PULMÃO E A
RESPOSTA À QUIMIOTERAPIA SISTÊMICA: UM ESTUDO
TRANSVERSAL**

Presidente da banca:

Prof. Dr. Prof. Dr. Fábio Firmbach Pasqualotto

Banca examinadora:

Prof. Dr. André Borba Reiriz

Prof. Dr. Prof. Dr. Darcy Ribeiro Pinto Filho

Prof. Dr. Prof. Dr. Eduardo Brambilla

Dedicatória

À minha família, pelo amor, paciência e apoio incondicional, sempre presentes em todos os momentos e essenciais para que eu pudesse alcançar esta conquista. Em especial, dedico este trabalho à memória do meu pai, cuja ausência se faz profundamente sentida. Embora não tenha podido acompanhar este momento, sua presença, ensinamentos e amor permanecem vivos em mim e foram fonte de força e inspiração para que eu chegasse até aqui.

À equipe do CPM Laboratório, pela compreensão e apoio diante da minha ausência nos períodos dedicados à elaboração desta dissertação. A colaboração, a parceria e a generosidade de cada um foram fundamentais para que este trabalho se concretizasse.

A todos, minha sincera gratidão e admiração.

Agradecimentos

Aos meus pais, pelo amor incondicional, apoio constante e exemplo de integridade e dedicação, que sempre me inspiraram a buscar o conhecimento e a nunca desistir dos meus sonhos.

Ao meu orientador, Dr. Fábio Pasqualotto, pela orientação segura, pelos ensinamentos valiosos e pela confiança depositada em meu trabalho, fundamentais para a realização desta etapa tão importante da minha trajetória acadêmica.

Ao meu coorientador, Dr. André Reiriz, pela disponibilidade, pelos conselhos criteriosos e pelo suporte técnico e científico, que enriqueceram imensamente este estudo.

À minha equipe do laboratório, pelo companheirismo, pela troca de saberes e pelo incansável empenho no desenvolvimento das atividades de pesquisa, cuja colaboração foi essencial para a concretização deste trabalho.

À Scheila, pela realização cuidadosa da análise estatística, contribuindo significativamente para a robustez metodológica do estudo, e aos alunos que auxiliaram na coleta de dados, cujo comprometimento e dedicação foram indispensáveis ao progresso desta pesquisa.

A todos, meu mais sincero agradecimento e profunda admiração.

RESUMO

Introdução: O câncer de pulmão de não pequenas células (CPNPC) corresponde a aproximadamente 85% dos casos de câncer pulmonar. Apesar dos avanços terapêuticos, a sobrevida global permanece limitada, especialmente nos estágios mais avançados. Os linfócitos infiltrantes tumorais (TILs) emergiram como potenciais biomarcadores para prognóstico e resposta ao tratamento, dada sua associação com um microambiente imune ativo e melhores desfechos clínicos. No entanto, desafios como a padronização metodológica e a inconsistência nos pontos de corte de densidade limitam sua adoção clínica. **Objetivo:** Avaliar a relação entre a densidade de TILs, medida por coloração de hematoxilina-eosina (H&E), e a resposta à quimioterapia em pacientes com CPNPC em estágios III e IV acompanhados no serviço de oncologia torácica do UNACON-HGCS. Os objetivos específicos incluíram: (a) comparar as quantificações de TILs realizadas por diferentes patologistas para avaliar a reprodutibilidade interobservador; (b) avaliar a sobrevida global nos subgrupos definidos pela densidade de infiltrado linfocitário; (c) estabelecer um ponto de corte percentual de TILs clinicamente aplicável para fins prognóstico-preditivos; e (d) explorar a viabilidade da avaliação morfológica de TILs como ferramenta clínica em contextos com recursos limitados. **Métodos:** Este estudo transversal retrospectivo avaliou 51 pacientes com CPNPC em estágios III–IV. O tamanho tumoral antes e após a quimioterapia foi registrado, e os TILs foram categorizados em três grupos de densidade. A análise de covariância (ANCOVA) examinou a associação entre a densidade de TILs e a variação de tamanho tumoral, ajustando para idade, sexo e estadiamento clínico. A confiabilidade interobservador foi avaliada utilizando o kappa de Cohen, o kappa de Fleiss e o alfa de Krippendorff. **Resultados:** Observou-se uma diferença significativa na variação de tamanho tumoral antes e após o tratamento entre os grupos de TILs, com médias de 0,52 cm (baixo), -2,42 cm (moderado) e -3,18 cm (alto). A ANCOVA confirmou uma forte associação entre a densidade de TILs e a resposta ao tratamento ($F = 83,109$; $p < 0,001$; $\eta^2 = 0,551$), independentemente dos fatores de confusão. Tumores inicialmente menores também apresentaram maior redução ($F = 10,347$; $p < 0,001$). Observou-se uma forte correlação inversa entre a densidade de TILs e o tamanho tumoral pós-tratamento ($r = -0,676$; $p < 0,001$). Níveis mais elevados de TILs correlacionaram-se com melhor sobrevida global. A concordância interobservador foi substancial (kappa médio = 0,673), demonstrando a reprodutibilidade da avaliação de TILs baseada em H&E. **Conclusões:** A densidade de TILs, avaliada por coloração H&E, mostrou associação significativa com a resposta à quimioterapia e com a sobrevida global em pacientes com CPNPC avançado. A análise demonstrou boa reprodutibilidade entre observadores, confirmou o valor prognóstico dos TILs e permitiu propor um ponto de corte aplicável para estratificação clínica. Esses resultados apoiam o uso da quantificação de TILs baseada em H&E como uma ferramenta de baixo custo e reprodutível, potencialmente útil para identificar pacientes que possam se beneficiar da desintensificação do tratamento e de estratégias personalizadas, especialmente em sistemas onde a imunoterapia é inacessível.

Palavras-chave: TILs; câncer de pulmão; quimioterapia.

ABSTRACT

Introduction: Non-small cell lung cancer (NSCLC) accounts for approximately 85% of all lung cancer cases. Despite therapeutic advances, overall survival remains limited, especially in more advanced stages. Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) have emerged as potential biomarkers for prognosis and treatment response due to their association with an active immune microenvironment and improved clinical outcomes. However, challenges such as methodological standardization and inconsistency in density cut-off points limit their clinical implementation. **Objective:** To assess the relationship between TIL density, measured by hematoxylin-eosin (H&E) staining, and response to chemotherapy in patients with stage III and IV NSCLC treated at the thoracic oncology unit of UNACON-HGCS. The specific objectives were: (a) to compare TIL quantification by different pathologists to evaluate interobserver reproducibility; (b) to assess overall survival across subgroups defined by lymphocytic infiltration density; (c) to establish a clinically applicable TIL percentage cut-off for prognostic and/or predictive stratification; and (d) to explore the feasibility of morphologic TIL assessment as a clinical tool in resource-limited settings. **Methods:** This retrospective cross-sectional study evaluated 51 patients with stage III–IV NSCLC. Tumor size was recorded before and after chemotherapy, and TILs were categorized into three density groups. Analysis of covariance (ANCOVA) was performed to examine the association between TIL density and tumor reduction, adjusting for age, sex, and clinical stage. Interobserver agreement was assessed using Cohen's kappa, Fleiss' kappa, and Krippendorff's alpha. **Results:** Tumor reduction differed significantly across TIL density groups, with mean decreases of 0.52 cm (low), –2.42 cm (moderate), and –3.18 cm (high). ANCOVA confirmed a strong association between TIL density and treatment response ($F = 83.109$; $p < 0.001$; $\eta^2 = 0.551$), independent of confounding factors. Smaller baseline tumors also exhibited greater reductions ($F = 10.347$; $p < 0.001$). A strong inverse correlation was observed between TIL density and post-treatment tumor size ($r = -0.676$; $p < 0.001$). Higher TIL levels were associated with improved overall survival. Interobserver agreement was substantial (mean kappa = 0.673), demonstrating the reproducibility of H&E-based TIL assessment. **Conclusions:** TIL density, as assessed by H&E staining, was significantly associated with chemotherapy response and overall survival in patients with advanced NSCLC. The analysis demonstrated good interobserver reproducibility, confirmed the prognostic value of TILs, and allowed the proposal of a clinically applicable cut-off for patient stratification. These results support the use of H&E-based TIL quantification as a low-cost and reproducible tool, potentially useful for identifying patients who may benefit from treatment de-escalation and personalized strategies, especially in systems where immunotherapy is inaccessible.

Keywords: TILs; lung cancer; chemotherapy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição dos subtipos histológicos de carcinoma pulmonar	19
Figura 2 - Classificação TNM (8ª edição) para câncer de pulmão	20
Figura 3 – Imunovigilância e imunoedição	23
Figura 4 – Densidade de TILs (A) leve, (B) moderada e densa (C) (H&E, 100x)	36
Figura 5 – Relação entre o tamanho do tumor antes e após o tratamento quimioterápico em pacientes com CPNPC.....	38
Figura 6 – Curvas de Kaplan-Meier para sobrevida global (SG) segundo a densidade de TILs em pacientes com CPNPC (n=51)	39

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Interpretação do Coeficiente Kappa.....	32
Quadro 2 – Custos para o desenvolvimento da pesquisa	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características demográficas e clínicas da amostra por grupos de TILs	35
Tabela 2 – Distribuição das Variáveis Quantitativas por Grupos de TILs.....	37

LISTA DE ABREVIÇÕES E SÍMBOLOS

AJCC	American Joint Committee on Cancer
ANCOVA	Análise de covariância
ANOVA	Análise de variância
CAR T	Receptor de Antígeno Quimérico em Linfócitos T, da sigla em inglês de “ <i>Chimeric Antigen Receptor T lymphocyte</i> ”
CCE	Carcinoma de células escamosas
CGCP	Carcinoma de grandes células
CPC	Carcinomas de pequenas células
DC	Células dendríticas
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crônica
H&E	Hematoxilina-eosina
INCA	Instituto Nacional do Câncer
UICC	União Internacional para o Controle do Câncer
MDSC	Células supressoras derivadas de mieloides
MHC	Complexo principal de histocompatibilidade
NK	Células natural <i>killer</i>
NKT	Células T natural <i>killer</i>
PD-1	Do inglês “ <i>Programmed Cell Death 1</i> ”
PD-L1	Do inglês “ <i>Programmed-Death Ligand 1</i> ”
SG	Sobrevida global
Tregs	T reguladoras (Tregs)
TAA	Antígenos específicos associados ao tumor
TCR	complexo receptor de células T
TILS	Linfócitos infiltrantes tumorais, da sigla em inglês de “ <i>Tumor-Infiltrating Lymphocytes</i> ”
TNM	Estadiamento tumor-nódulo-metástase
Treg	Células T reguladoras
UNACON-	Unidade de Alta Complexidade de Oncologia do Hospital Geral de
HGCS	Caxias do Sul

SUMÁRIO

Dedicatória	vi
Agradecimentos	vii
1 INTRODUÇÃO	16
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
2.1 EPIDEMIOLOGIA E ETIOLOGIA DO CÂNCER DE PULMÃO	16
2.2 ASPECTOS ANATOMOPATOLÓGICOS.....	18
2.3 LINFÓCITOS INFILTRANTES TUMORAIS.....	20
2.4 IMUNOEDIÇÃO.....	22
2.5 EVASÃO AO SISTEMA IMUNE	24
2.6 TILS E CARCINOMA PULMONAR	25
2.6.1 Quantificação de TILS no CPNPC	25
3 OBJETIVOS.....	28
3.1 OBJETIVO GERAL	28
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
4 METODOLOGIA	29
4.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	30
4.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	30
4.3 ASPECTOS ÉTICOS.....	30
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	31
5 ORÇAMENTO.....	33
6 RESULTADOS.....	34
6.1 DADOS DEMOGRÁFICOS	34
6.1 TILS E TAMANHO DA LESAO.....	36
6.3 TILS E SOBREVIDA	38
6.4 KAPPA DE CONCORDÂNCIA INTEROBSERVADOR	40
6.5 VIESES	40

7 DISCUSSÃO	42
8 LIMITAÇÕES DO ESTUDO	46
9 PERSPECTIVAS FUTURAS (PROPOSIÇÕES).....	48
10 CONCLUSÃO	50
REFERÊNCIAS.....	51
ANEXOS	57

Esta dissertação de Mestrado Acadêmico Stricto Sensu é apresentada no formato exigido pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Caxias do Sul. A mesma é constituída da secção de “Introdução com referências bibliográficas”, a inclusão do artigo original submetido/publicado em periódico Qualis A na classificação da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal em Nível Superior (CAPES), e as “Considerações Finais e Perspectivas”.

1 INTRODUÇÃO

O CPNPC é a forma mais prevalente de câncer de pulmão, representando aproximadamente 85% dos casos diagnosticados globalmente. Apesar dos avanços no diagnóstico e tratamento, a sobrevida global permanece limitada, especialmente em estágios avançados. Nos últimos anos, a compreensão do microambiente tumoral tem se destacado como uma área promissora para melhorar a predição de desfechos clínicos e desenvolver estratégias terapêuticas personalizadas. Entre os componentes do microambiente, os linfócitos infiltrantes tumorais (TILs) emergem como potenciais biomarcadores de prognóstico e resposta ao tratamento (1,2).

Os TILs representam a resposta imune do hospedeiro contra o tumor, e sua densidade e composição estão associadas à evolução clínica em diversos tipos de câncer, incluindo CPNPC. Estudos prévios demonstram que uma alta densidade de TILs pode estar relacionada a uma maior sobrevida global e livre de doença, sugerindo sua relevância como indicador de um microambiente imunologicamente ativo (3). Contudo, a avaliação de TILs na prática clínica enfrenta desafios significativos, incluindo a falta de padronização metodológica e as diferenças nas definições de pontos de corte para categorizar a densidade linfocitária (4).

Além disso, há crescente interesse na utilização dos TILs como ferramenta para orientar intervenções terapêuticas, especialmente imunoterapias baseadas em inibidores de checkpoint imunológico. Pacientes com alta densidade de TILs parecem responder melhor a essas terapias, enquanto aqueles com baixa densidade podem requerer estratégias combinadas para potencializar a resposta antitumoral (5). Entretanto, grande parte da literatura disponível utiliza métodos avançados, como imuno-histoquímica (IHC) e citometria de fluxo, para avaliar subtipos específicos de linfócitos, enquanto poucos estudos exploram a aplicabilidade clínica da coloração por H&E, uma técnica amplamente disponível e de baixo custo (6, 7).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 EPIDEMIOLOGIA E ETIOLOGIA DO CÂNCER DE PULMÃO

O câncer de pulmão é a neoplasia maligna com maior incidência e mortalidade no mundo. Cerca de 13% dos novos casos de câncer são de pulmão, com uma taxa de mortalidade de 18,7%. Em números absolutos, isso corresponde a cerca de 2,5 milhões de novos casos e 1,8 milhões de morte anualmente, sendo a primeira causa de morte por câncer em homens e a segunda entre as mulheres (8). No Brasil, o Instituto Nacional do Câncer (INCA) estimou 32 560 casos novos para o ano de 2023, tornando o câncer de pulmão o terceiro mais frequente em homens e o quarto mais frequente em mulheres, excluindo-se o câncer de pele não melanoma. Seguindo a tendência mundial, é a principal causa de morte por câncer no país, com mortalidade anual de quase 30 mil óbitos (9).

O tabagismo e a exposição passiva ao tabaco são os fatores etiológicos mais importantes na gênese do câncer de pulmão, correspondendo a mais de 85% dos casos diagnosticados. A fumaça inalada de cigarros e outros derivados do tabaco contêm inúmeros agentes carcinogênicos e inflamatórios. Outros fatores de risco são a exposição ocupacional a agentes carcinogênicos (asbesto, arsênico, berílio, cádmio etc.) e a exposição a fumaça proveniente da combustão da lenha no domicílio (10).

Como o tabagismo é um fator de risco determinante na gênese do carcinoma pulmonar, as tendências de incidência e mortalidade refletem as alterações populacionais relacionadas a este hábito. Nos Estados Unidos e no Norte Europeu, as curvas de incidência tiveram pico na década de 90, com redução gradativa desde então, provavelmente pela redução do tabagismo consequente às campanhas de controle e cessação e ao rigor das leis antitabagismo. Por outro lado, na Ásia, América do Sul e Europa esse pico ainda não foi atingido. Nas mulheres, a tendência de aumento é universal, o que reflete a incorporação tardia do tabagismo neste grupo (11).

Mais recentemente, a popularização dos dispositivos eletrônicos para fumar, como os cigarros eletrônicos e os vaporizadores, tem introduzido uma nova e preocupante dimensão à luta contra o câncer de pulmão. Inicialmente promovidos como alternativas menos nocivas ao tabaco tradicional, esses dispositivos têm se

difundido rapidamente entre adolescentes e adultos jovens, inclusive em países que anteriormente apresentavam declínio nas taxas de tabagismo convencional. Estudos indicam que os aerossóis inalados por meio desses dispositivos contêm substâncias tóxicas e potencialmente carcinogênicas, como formaldeído, acroleína e metais pesados, além de nicotina em concentrações variáveis, que contribuem para a manutenção da dependência e possível transição para o uso do cigarro convencional. Tal cenário levanta sérias preocupações quanto ao impacto futuro na incidência de doenças respiratórias crônicas e neoplasias pulmonares, especialmente em populações mais jovens que anteriormente estariam se afastando do tabagismo. A emergência do uso de cigarros eletrônicos como um comportamento de risco, ainda pouco regulado em diversos países, pode comprometer os avanços conquistados nas últimas décadas no controle do câncer de pulmão, exigindo estratégias urgentes de vigilância epidemiológica e intervenção em saúde pública (9).

O câncer de pulmão é frequentemente diagnosticado em estágios avançados devido ao aparecimento tardio de sintomas específicos, como tosse persistente, falta de ar e dor torácica. Além disso, a ausência de programas eficazes de rastreamento para a população em geral contribui para o atraso no diagnóstico. Em estágios avançados, quando a disseminação do tumor já ocorreu para além do pulmão primário, a sobrevida dos pacientes é drasticamente reduzida, com apenas cerca de 18% dos pacientes vivos após cinco anos do diagnóstico. Por outro lado, quando o câncer de pulmão é diagnosticado precocemente, enquanto ainda está localizado apenas no pulmão e não metastatizou para os linfonodos ou outros órgãos, a sobrevida em cinco anos pode alcançar até 56%. Essa diferença substancial na sobrevida destaca a importância crítica do diagnóstico precoce e da necessidade urgente de estratégias eficazes de detecção precoce para melhorar os resultados clínicos e a qualidade de vida dos pacientes afetados (10).

Os avanços no tratamento do câncer de pulmão, como o desenvolvimento de terapias-alvo e imunoterapias, têm contribuído significativamente para melhorar os resultados clínicos e reduzir as taxas de mortalidade em alguns subtipos da doença. A implementação de programas de rastreamento, embora ainda não universal, tem potencial para detectar casos em estágios mais precoces, quando as opções de tratamento são mais eficazes e as taxas de sobrevida são mais altas. No entanto, as altas taxas de mortalidade persistem, destacando a necessidade contínua de

desenvolver novas terapias direcionadas e estratégias de detecção precoce mais acessíveis e eficazes. Esses esforços são essenciais para melhorar os resultados a longo prazo e a qualidade de vida dos pacientes afetados pelo câncer de pulmão (12).

2.2 ASPECTOS ANATOMOPATOLÓGICOS

A maioria absoluta dos cânceres de pulmão são carcinomas. Dentre eles, os mais prevalentes são os CPNPC, que correspondem a cerca de 85% dos casos e são representados pelo carcinoma de células escamosas (CCE), adenocarcinoma e carcinoma de grandes células (CPGC) enquanto os 15% restantes correspondem aos carcinomas de pequenas células (CPC) (figura 1) (13). Até 1980, o tipo histológico mais prevalente era o CCE, principalmente em homens (14). Desde então, a incidência de adenocarcinoma vem crescendo, sendo atualmente o tipo histológico mais frequente. Em parte, esta tendência é atribuída ao aumento da população de ex-tabagistas, porque após a cessação do tabagismo, a queda no risco de desenvolvimento de CCE é mais acelerada em relação ao adenocarcinoma (15). Além disso, as alterações na composição do cigarro ao longo dos anos, que reduziram as concentrações de algumas substâncias como a nicotina e melhoraram a qualidade dos filtros, resultam em tragadas mais profundas, que atingem áreas mais periféricas do pulmão (16).

Dentre os subtipos histológicos, destaca-se que o carcinoma de células escamosas (30%) demonstra queratinização e/ou pontes intercelulares. Se origina do epitélio brônquico, podendo ser desde bem diferenciada até pouco diferenciada. Em geral, têm localização central e até o momento não está associada a mutações genéticas passíveis de terapia alvo. Na IHC, expressa marcadores de diferenciação escamosa como p63, p40 e CK5/6 (17).

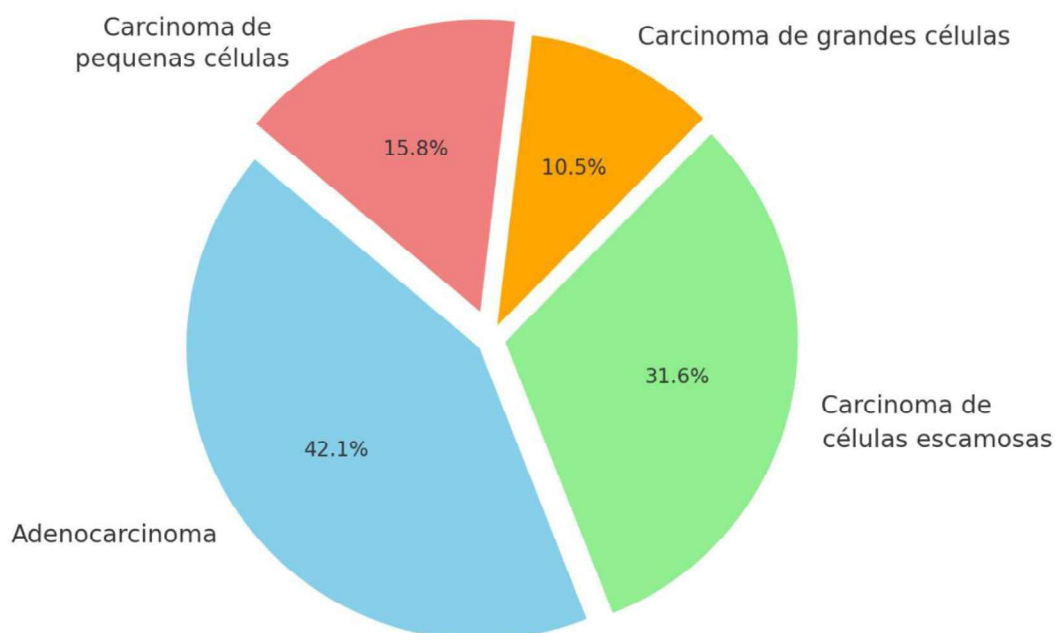
O adenocarcinoma (40%), por sua vez, exibe diferenciação glandular ou mucoprodutora, podendo ser desde bem até pouco diferenciada, a depender dos padrões histológicos que a compõe. Em sua maioria são localizadas na periferia pulmonar. Na IHC, expressa TTF-1 e Napsin A. Está associada a mutações com terapia-alvo conhecida, como nos genes *KRAS*, *BRAF*, *EGFR*, *ALK* e *HER2* (18).

O carcinoma de grandes células (10%) é uma neoplasia sem características citológicas e arquiteturais que a permitam chamar de carcinoma de células

escamosas, adenocarcinoma ou carcinoma de pequenas células. Com o advento da IHC, houve redução deste diagnóstico visto que muitas neoplasias pouco diferenciadas que antes se enquadravam nesta categoria, passaram a ser classificadas dentro das categorias anteriores. Atualmente é considerado um diagnóstico de exclusão, com imunomarcagem apenas para citoqueratinas, comprovando sua origem epitelial e sua falta de diferenciação (19).

Por fim, o carcinoma de pequenas células (15%) é constituído por células pequenas com citoplasma escasso, bordos celulares mal definidos, cromatina nuclear granular e nucléolo invisível. As células são redondas a fusiformes, exibindo marcado amoldamento nuclear, com necrose e numerosas mitoses. Costuma ter localização central e disseminação locorregional, incluindo acometimento precoce de linfonodos mediastinais. Pode estar associada a síndrome paraneoplásica. Na IHC, expressa marcadores neuroendócrinos como CD56, cromogranina A e sinaptofisina (20).

Figura 1 – Distribuição dos subtipos histológicos de carcinoma pulmonar



Fonte: adaptado de Bremnes *et al.* (33).

A classificação pelo sistema TNM (Tumor, Nódulo, Metástase), desenvolvido pela União Internacional para o Controle do Câncer (UICC) e incorporado pelo American Joint Committee on Cancer (AJCC), constitui a principal ferramenta

internacionalmente aceita para o estadiamento anatômico dos tumores sólidos. Ele permite a classificação objetiva da extensão da doença com base nas características do tumor primário (T), no envolvimento linfonodal regional (N) e na presença de metástases à distância (M), sendo fundamental para a definição do prognóstico e para a escolha da conduta terapêutica. A 8ª edição do sistema TNM, em vigor desde 2017 (46), introduziu modificações importantes no estadiamento do câncer de pulmão, especialmente no detalhamento do componente tumoral (T) com base em medidas milimétricas e na redefinição de categorias de metástases. As principais alterações e critérios de estadiamento específicos para o câncer de pulmão segundo esta edição estão organizadas na Figura 2.

Figura 2 – Classificação TNM (8ª edição) para câncer de pulmão

T/M	Subcategory	N0	N1	N2	N3
T1	T1a	IA1	IIB	IIIA	IIIB
	T1b	IA2	IIB	IIIA	IIIB
	T1c	IA3	IIB	IIIA	IIIB
T2	T2a	IB	IIB	IIIA	IIIB
	T2b	IIA	IIB	IIIA	IIIB
T3	T3	IIB	IIIA	IIIB	IIIC
T4	T4	IIIA	IIIA	IIIB	IIIC
M1	M1a	IVA	IVA	IVA	IVA
	M1b	IVA	IVA	IVA	IVA
	M1c	IVB	IVB	IVB	IVB

Fonte: Adaptado de Amin *et al* (46).

2.3 LINFÓCITOS INFILTRANTES TUMORAIS

O sistema imunológico, pela sua função de reconhecer e eliminar agentes estranhos, é capaz também de induzir a apoptose de células neoplásicas malignas. A resposta imunológica pode ser através da imunidade inata, que age de forma rápida e sem especificidade, ou da imunidade adaptativa, mais demorada, porém específica (21).

Na década de 50, Burnet e Thomas (22) relataram a presença de células inflamatórias mononucleares associadas a neoplasias e propuseram uma possível relação entre a presença de tais células e o prognóstico dos pacientes, postulando um possível estado de imunovigilância pelas células do hospedeiro. Tal teoria não

tinha embasamento experimental, até cerca de 15 anos atrás, quando Dunn e Schreiber (23) comprovaram a imunidade adaptativa em camundongos, alterando drasticamente a visão da resposta imune perante a malignidade. A partir de então, a capacidade de evasão ao sistema imunológico foi incorporada aos princípios fundamentais do câncer (24).

Qualquer tipo de célula imune pode estar presente no infiltrado inflamatório associado ao tumor (linfócitos B e T, macrófagos, mastócitos, células dendríticas, células natural killer). Estes podem estar localizados em meio ao tumor, na margem invasiva ou no estroma tumoral adjacente. A maioria são linfócitos e, destes, 80% são linfócitos T, genericamente conhecidos como TILs (25,26).

Dentre os linfócitos T, destacam-se três categorias:

- a) Linfócitos TCD8⁺ (citotóxicos): reconhecem células tumorais que expressam antígenos específicos associados ao tumor (TAAs) através de seus receptores de células T. Após o reconhecimento, esses linfócitos TCD8 ativam mecanismos citotóxicos, liberando grânulos contendo proteínas como perforina e granzimas, que induzem apoptose nas células tumorais. Além disso, secretam citocinas pró-inflamatórias que recrutam e ativam outras células do sistema imunológico para eliminar as células tumorais. Esses linfócitos são essenciais na resposta imune adaptativa contra o câncer, destacando-se como os principais efetores da resposta citotóxica direta contra células tumorais (25,27).
- b) Linfócitos TCD3⁺: desempenham um papel crucial na ativação inicial da resposta imune adaptativa, sendo essenciais para o reconhecimento e resposta eficaz contra células cancerígenas. Como componentes centrais do complexo receptor de células T (TCR), o CD3 presente nos linfócitos T facilita o reconhecimento de antígenos tumorais apresentados pelo complexo principal de histocompatibilidade (MHC). Esse reconhecimento desencadeia uma cascata de sinalização intracelular que leva à ativação dos linfócitos TCD3, promovendo sua proliferação e diferenciação em células citotóxicas, como os linfócitos TCD8⁺, responsáveis por destruir as células tumorais por meio da liberação de substâncias citotóxicas. Além disso, os linfócitos TCD3 desempenham um papel crucial na regulação da resposta imune,

coordenando outras células do sistema imunológico para uma resposta antitumoral coordenada e eficaz (28).

c) Linfócitos TCD4⁺ (auxiliares): desempenham um papel crucial na resposta imune ao coordenar e regular as respostas das células do sistema imunológico. Essas células identificam antígenos que são exibidos por células apresentadoras de antígenos, como as células dendríticas e os macrófagos. Após o reconhecimento, os linfócitos TCD4 podem diferenciar-se em subtipos especializados, como Th1, Th2, Th17 e células T regulatórias (Treg), cada uma desempenhando funções específicas na resposta imune. Por exemplo, os linfócitos TCD4 Th1 secretam citocinas pró-inflamatórias, como interferon-gama, que ativam as células TCD8 e os macrófagos para eliminar células tumorais. Além disso, os linfócitos TCD4 fornecem sinais de coestimulação que aumentam a atividade citotóxica das células TCD8 contra as células tumorais (27).

2.4 IMUNOEDIÇÃO

As três fases da imunoedição, conhecidas como eliminação, equilíbrio e escape (23,30), são fundamentais para compreender como o sistema imunológico interage com o câncer de pulmão. Na fase de eliminação, as células do sistema imunológico, como os linfócitos T, detectam e destroem as células tumorais iniciais, impedindo o desenvolvimento do câncer. Caso algumas células tumorais escapem dessa destruição inicial, elas entram na fase de equilíbrio, na qual o sistema imunológico mantém o tumor controlado, evitando seu crescimento descontrolado. No entanto, ao longo do tempo, as células tumorais podem adquirir mecanismos para evadir a detecção imunológica, entrando na fase de escape. Nesta fase, as células tumorais desenvolvem estratégias para suprimir a resposta imunológica, permitindo o crescimento contínuo do tumor e o desenvolvimento clínico da doença em indivíduos imunocompetentes. Esses processos explicam como alguns tumores conseguem evoluir e progredir mesmo na presença de um sistema imunológico funcional (25).

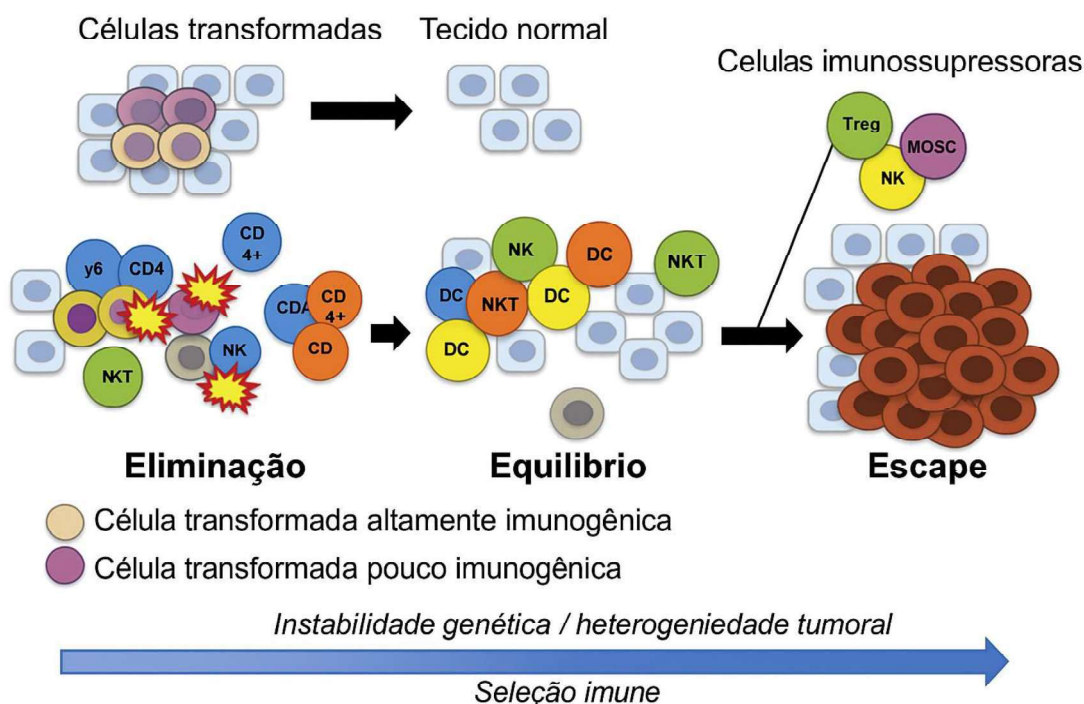
A imunoedição desempenha um duplo papel crucial na interação entre o sistema imunológico e o câncer de pulmão. Inicialmente, ela protege contra o desenvolvimento tumoral ao detectar e eliminar eficientemente células cancerígenas

reconhecidas como estranhas pelo sistema imune. Contudo, este processo também pode levar à seleção de células tumorais capazes de evadir a resposta imunológica, resultando no crescimento e progressão do câncer (figura 3) (29).

Muitos estudos correlacionam a presença de TILs com melhor prognóstico em CPNPC, além de serem alvo terapêutico em estratégias de tratamento como a imunoterapia e a terapia com Receptor de Antígeno Quimérico em Linfócitos T (CAR T) (25,30). No entanto, a heterogeneidade de resultados e falta de padronização na avaliação das células imunes pode afetar a validade dos resultados combinados.

De acordo com Remark et al. (31), as células T citotóxicas, células natural killer, células dendríticas maduras e macrófagos M1 têm sido amplamente associadas a um melhor prognóstico, enquanto células T reguladoras (Tregs) têm sido associadas a um pior prognóstico (32). Resultados inconclusivos foram encontrados para neutrófilos e células B.

Figura 3 – Imunovigilância e imunoedição



Fonte: adaptado de Bremnes *et al.* (33). CD8⁺ (linfócitos T citotóxicos), CD4⁺ (linfócitos T auxiliares), NK (células natural killer), NKT (células T natural killer), γδ (linfócitos T gama-delta), DC (células dendríticas), Treg (linfócitos T reguladores) e MDSC (células supressoras derivadas de mieloides)

Há uma integração entre imunoeedição e oncogênese durante a progressão do câncer. A oncogênese leva à formação de células transformadas, que são atacadas pelas células imunes devido à apresentação de neoantígenos. Durante a imunovigilância, a imunoeedição do câncer incorpora três fases: eliminação, equilíbrio e escape. Na fase de eliminação, a imunovigilância do câncer erradica com sucesso as células cancerígenas do tumor em desenvolvimento. Durante a fase de equilíbrio, as células tumorais que sobreviveram à imunovigilância e ao sistema imunológico do hospedeiro estão em equilíbrio. Na fase de escape, as células tumorais conseguiram escapar da detecção e eliminação pelo sistema imunológico do hospedeiro.

2.5 EVASÃO AO SISTEMA IMUNE

O câncer desenvolve estratégias sofisticadas para evadir a resposta imune, especialmente dos TILs, que são essenciais para reconhecer e destruir células tumorais. Uma das estratégias chave envolve a indução de anergia nas células T, um estado de inatividade que limita sua capacidade de responder ao tumor. Além disso, as células cancerosas frequentemente reduzem a expressão de moléculas do MHC classe I, essenciais para apresentar antígenos tumorais às células T CD8+ citotóxicas, dificultando assim o reconhecimento e a destruição do tumor pelas células T (34, 35).

Outro mecanismo importante é a expressão de moléculas de checkpoint imunológico, como PD-L1, pelas células tumorais. PD-L1 interage com seu receptor PD-1 nas células T, desativando-as e impedindo a resposta imune eficaz contra o tumor. Isso cria um ambiente imunossupressor ao redor do tumor, favorecendo sua sobrevivência e crescimento. Além disso, as células tumorais secretam diversos fatores imunossupressores, como citocinas e quimiocinas, que podem inibir a atividade das células T e outras células do sistema imunológico (36).

Adicionalmente, o microambiente tumoral pode promover a diferenciação de células Tregs, que têm a função de suprimir a atividade das células T citotóxicas, reduzindo assim a eficácia da resposta imune antitumoral. Esses mecanismos combinados permitem que as células tumorais evitem a detecção e a destruição pelo sistema imunológico, contribuindo para a progressão tumoral e a resistência aos tratamentos imunoterápicos, como os inibidores de checkpoint imunológico (37).

2.6 TILS E CARCINOMA PULMONAR

Fridman et al. (25) relatou os efeitos prognósticos positivos da presença células T em diversos tipos de neoplasias malignas sólidas, como melanoma, câncer colorretal, mama, bexiga, etc (25). Desde então, o valor dos TILs para determinar o prognóstico ajustado por estágio está bem estabelecido, principalmente para carcinoma colorretal e pulmonar, por exemplo (38).

O microambiente imunológico no CPNPC vem sendo amplamente investigado, com evidências sólidas do impacto prognóstico significativo dos TILs neste grupo de neoplasias (39). Sabe-se que cerca de 25% dos pacientes com neoplasia pulmonar apresentam TILs, sendo mais comuns em carcinomas pouco diferenciados e naqueles com invasão vascular (26).

A presença de alta carga de mutações somáticas é frequente nos CPNPC. Por isso, os tratamentos com inibidores de checkpoint imunológico como anti-PD-1 e anti-PD-L1 são uma opção promissora (40,41,42,43,44,45). Estudos envolvendo nivolumabe e pembrolizumabe consideram como biomarcador preditivo a expressão de PD-L1 apenas nas células tumorais (40,41,43). Complementarmente, estudos com atezolizumabe mostraram valor preditivo da expressão de PD-L1 também em TILs (42). Apesar deste trabalho não envolver questões mais detalhadas sobre PD-L1, fica evidente a necessidade de desenvolvimento de um método padronizado para avaliar e quantificar os TILs, possibilitando a avaliação confiável da expressão de PD-L1 nas células imunes.

2.6.1 Quantificação de TILS no CPNPC

Ainda não há consenso sobre como deve ser feita a quantificação de TILs no CPNPC. A avaliação utilizando coloração com H&E é uma abordagem prática e barata, já que é a coloração rotineiramente realizada em amostras de tecido tumoral para avaliar a morfologia das células tumorais (47). No contexto específico dos TILs, a coloração H&E permite uma avaliação quantitativa da infiltração linfocitária no tecido tumoral. Os linfócitos são identificados dentro do tumor, na margem invasiva e no estroma adjacente. Esta abordagem proporciona uma visão geral da densidade e

distribuição dos linfócitos no microambiente tumoral, sem a necessidade de custos adicionais com técnicas mais especializadas, como a IHC (48).

No entanto, a avaliação de TILs por H&E possui limitações. Ela não permite a diferenciação entre linfócitos T e B, nem dos diferentes subtipos de linfócitos T, como os TCD4+ e TCD8+, que têm papéis distintos na resposta imunológica antitumoral. Além disso, a sensibilidade e a especificidade para detectar TILs podem variar dependendo da experiência do patologista e da heterogeneidade do microambiente tumoral. Em estudos clínicos e de pesquisa, a avaliação de TILs por H&E muitas vezes é complementada por técnicas mais específicas, como a IHC, para caracterizar de forma mais precisa a composição e a função dos TILs no câncer de pulmão (47).

Foi proposta a criação de um “escore imunológico” similar ao que foi sugerido para o câncer colorretal. O Immunoscore® é um sistema de classificação imunológica desenvolvido para avaliar a resposta imunológica em tumores sólidos. Ele complementa o tradicional sistema de estadiamento Tumor-Nódulo-Metástase (TNM) ao quantificar os TILs usando IHC. O foco principal é a densidade de células T citotóxicas (CD8+) e células T auxiliares (CD3+), avaliadas tanto em meio ao tumor quanto na margem invasiva. Essas amostras são coradas com anticorpos específicos para CD3 e CD8, e a quantidade de células positivas é quantificada para gerar uma pontuação, que varia de baixo a alto. Uma alta pontuação está geralmente associada a um melhor prognóstico, indicando uma resposta imunológica mais eficaz contra o tumor. Clinicamente, o teste oferece vantagens como a capacidade de prever a sobrevida global e livre de doença, estratificação de possibilidade de resposta à imunoterapia e complementação do estadiamento TNM para orientar decisões terapêuticas. Apesar de suas vantagens, o Immunoscore® enfrenta desafios de padronização para garantir a reprodutibilidade dos resultados e pode não estar amplamente disponível devido a requisitos técnicos (49).

Assim como ocorre com a coloração por H&E, ainda não há padronização na forma de quantificar os TILs no CPNPC entre os estudos que utilizam IHC. Diferentes abordagens metodológicas são observadas na literatura, incluindo métodos manuais semiquantitativos, baseados em estimativas percentuais de células positivas (50,51), e técnicas que empregam contagens absolutas de células positivas por mm², realizadas tanto por análise de imagem digital (52) quanto por contagem manual (53). Além disso, os estudos divergem nos pontos de corte usados para categorizar a

densidade de TILs como "alta" ou "baixa", bem como na distinção entre compartimentos tumorais epiteliais e estromais (50,53). Essa falta de uniformidade metodológica compromete a comparabilidade dos resultados e ressalta a necessidade de esforços de padronização para integrar os TILs de forma mais consistente na prática clínica e na pesquisa translacional.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a relação entre a densidade de TILs, medida por H&E, e a resposta à quimioterapia em pacientes com CPNPC estádios III e IV do serviço de oncologia torácica do UNACON-HGCS.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Comparar as quantificações de TILs realizadas por diferentes patologistas para garantir a reprodutibilidade dos resultados;
- b) Avaliar a sobrevida global nos subgrupos de expressão de infiltrado linfocitário;
- c) Estabelecer um ponto de corte percentual de TILs, avaliada por coloração de H&E, que seja clinicamente aplicável para a estratificação prognóstica e/ou preditiva de pacientes com CPNPC, contribuindo para a identificação de subgrupos com maior probabilidade de resposta terapêutica;
- d) Contribuir para o entendimento do papel dos TILs no manejo do CPNPC e explorar sua viabilidade como ferramenta clínica em contextos de recursos limitados.

4 METODOLOGIA

Este estudo transversal retrospectivo foi conduzido com o objetivo de avaliar a relação entre a quantidade de TILs e a resposta ao tratamento quimioterápico em pacientes com diagnóstico definitivo de câncer de pulmão estágio clínico III ou IV submetidos à quimioterapia no HGCS durante o período de 2018 a 2022. Além disso, a concordância entre diferentes avaliadores na quantificação dos TILs foi analisada para validar a confiabilidade da avaliação.

Os prontuários foram revisados em busca de dados demográficos como idade, sexo, tipo histológico, estágio clínico, presença de comorbidades, histórico de tabagismo, tipo de tratamento e sobrevida global. O maior tamanho tumoral foi mensurado em centímetros a partir de tomografias computadorizadas, realizadas imediatamente antes do início da quimioterapia e após a conclusão dos ciclos estabelecidos pelo protocolo de tratamento. As mensurações foram revisadas por médico radiologista (M.M.).

Retrospectivamente, três patologistas (A.T., F.N., C.S.) revisaram as lâminas de H&E de biópsias transtorácicas e transbrônquicas arquivadas em laboratório de patologia, previamente utilizadas para o diagnóstico dos pacientes. Foi realizada a quantificação de TILs em números percentuais, sendo pré-estabelecidos como possíveis resultados 0%, 1%, 5%, 10% e acima disto em intervalos de 10 pontos percentuais, até 100%. O valor % final foi dado através de uma média de TILs na área tumoral e estromal total, ignorando “hot spots”. A leitura nesta etapa foi feita de forma independente para o cálculo da análise de concordância. Os resultados foram agrupados em três categorias de acordo com o proposto no estudo de Schalper (50): leve (de 0 até 25%), moderado (de 25 a 50%) e intenso (acima de 50%) para a realização do cálculo do Kappa (índice de concordância). Após, os patologistas realizaram uma análise conjunta de cada caso para obter um resultado consensual.

Foi realizada a correlação entre TILs e o tamanho das lesões antes e após o tratamento (delta T), além da sua relação com a sobrevida global (SG). Os pacientes vivos na data da randomização foram censurados na data do último acompanhamento.

4.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- a) Pacientes com diagnóstico histopatológico de CPNPC;
- b) Estágio clínico III ou IV, de acordo com o TNM 8ª edição (46);
- c) Tratados com quimioterapia exclusiva no HGCS durante o período de 2018 a 2022;
- d) Lâminas histológicas de H&E de tecido tumoral disponíveis no arquivo do laboratório de patologia.

4.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- a) Pacientes submetidos à tratamento cirúrgico ou radioterápico;
- b) Pacientes com dados incompletos no prontuário;
- c) Pacientes com apenas um exame de imagem;
- d) Pacientes cujas lâminas utilizadas para diagnóstico histopatológico estavam indisponíveis no arquivo do laboratório de patologia.

4.3 ASPECTOS ÉTICOS

O estudo foi conduzido de acordo com as normas éticas vigentes e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição (número do protocolo 79586624.1.0000.5341).

No que diz respeito às informações dos pacientes, todos os dados foram analisados de forma anonimizada, garantindo sigilo e confidencialidade, capaz de resguardar a privacidade dos sujeitos envolvidos em quaisquer publicações na comunidade científica ou eventos de cunho acadêmico.

Cabe destacar que toda pesquisa com seres humanos se reveste de risco, podendo ocasionar dano eventual de forma imediata ou tardia, gerando efeitos individuais ou coletivos. Nesse sentido, os riscos potenciais do presente estudo são aceitáveis, considerando os benefícios advindos da produção de conhecimento, visando auxiliar não somente os sujeitos envolvidos, mas a sociedade como um todo.

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para investigar a associação entre a densidade de TILs e a variação no tamanho tumoral após o tratamento foi aplicada a ANCOVA, uma técnica que combina elementos da análise de variância (ANOVA) e da regressão linear. Esta técnica estatística foi selecionada porque permite ajustar o efeito de variáveis de confusão, como estágio clínico do tumor, sexo e idade, que poderiam influenciar a variável dependente, neste caso, a variação no tamanho tumoral. A ANCOVA combina elementos da ANOVA e da regressão linear, proporcionando uma avaliação robusta do impacto das variáveis independentes (densidade de TILs) na resposta tumoral, enquanto controla fatores externos. Esse método é particularmente adequado para estudos como este, onde é necessário isolar o efeito de interesse (os TILs) em meio a diversas características clínicas dos pacientes. A análise foi realizada no software estatístico SPSS, considerando um nível de significância de $p < 0,05$ (54).

Adicionalmente, foram realizadas análises descritivas para caracterizar a amostra, incluindo o cálculo de médias, desvios-padrão e frequências. O efeito principal da quantidade de TILs sobre a variação no tamanho tumoral foi avaliada, assim como possíveis interações entre variáveis independentes e covariáveis. As variáveis consideradas na ANCOVA incluíram idade, sexo e estágio do tumor, visando ajustar os resultados para essas características.

Para validar a confiabilidade das avaliações de TILs realizadas por diferentes observadores, foram calculados coeficientes de concordância interobservador, como o Kappa de Cohen, Kappa de Fleiss e Alpha de Krippendorff. O Kappa de Cohen foi utilizado para medir a concordância entre pares de avaliadores, considerando a categorização dos TILs em categorias específicas (como 0-25-50). Essa métrica foi escolhida porque avalia a concordância além do acaso, fornecendo uma estimativa da consistência nas classificações, sendo interpretada conforme descrito no quadro 1 (55). O Kappa de Fleiss, por sua vez, foi utilizado para avaliar a concordância entre os três avaliadores simultaneamente, sendo ideal para situações com mais de dois observadores (56). Por fim, o Alpha de Krippendorff foi empregado para fornecer uma medida de consistência interobservador em escalas nominais, sendo amplamente aplicável em contextos em que as categorias são bem definidas, como no caso deste estudo (57).

Quadro 1 – Interpretação do Coeficiente Kappa

Valores do Coeficiente Kappa	Interpretação
< 0	Nenhuma Concordância
0 - 0,19	Concordância Pobre
0,20 - 0,39	Concordância Suave
0,40 - 0,59	Concordância Moderada
0,60 - 0,79	Concordância Substancial
0,80 - 1,00	Concordância Quase Perfeita

Fonte: Landis e Koch (1977)

5 ORÇAMENTO

No Quadro 2, constam os gastos relacionados ao desenvolvimento da pesquisa. Vale esclarecer que todos os custos serão custeados pela própria pesquisadora.

Quadro 2 – Custos para o desenvolvimento da pesquisa

GASTOS	CUSTOS
Pesquisador principal	R\$ 500,00
Assistente de pesquisa:	R\$ 250,00
Secretária:	R\$ 250,00
Computador com acesso ao sistema Tasy	R\$ 800,00
Total	R\$ 1.800,00

Fonte: elaboração da autora (2025).

6 RESULTADOS

6.1 DADOS DEMOGRÁFICOS

Foram recrutados 96 pacientes com diagnóstico definitivo de CPNPC estágio clínico III ou IV submetidos à quimioterapia no HGCS durante o período de 2018 a 2022. Destes, foram excluídos 45 pacientes cujos dados necessários não puderam ser obtidos a partir do prontuário médico, que possuíam apenas um exame de imagem e aqueles cujas lâminas utilizadas para diagnóstico histopatológico estavam indisponíveis no arquivo do laboratório de patologia.

A amostra final incluiu 51 pacientes, dos quais 27 (52,9%) eram do sexo masculino e 21 (47,1%) do sexo feminino. A média de idade foi de 67,9 anos, com desvio-padrão de 9,28 anos. Quanto ao tipo histológico, a maioria dos casos foi classificada como adenocarcinoma (56,9%), seguido por carcinoma de células escamosas (37,3%) e carcinoma de grandes células (5,9%). O estágio clínico predominante foi o IV (62,7%), seguido pelo estágio III (37,3%). Todos os pacientes foram submetidos à quimioterapia exclusiva baseada em platina.

A categorização dos TILs em níveis (leve 0-25%, moderada 25-50%, intensa >50%) mostrou que a maioria dos pacientes (78,4%) apresentou infiltração leve (figura 3), enquanto 9,8% e 11,8% foram classificados como moderado (figura 4) e intenso (figura 5), respectivamente. O tamanho médio da lesão inicial foi de 6,72 cm ($\pm 3,18$), com variação média após o tratamento de 0,2 cm ($\pm 2,55$) (Tabela 1).

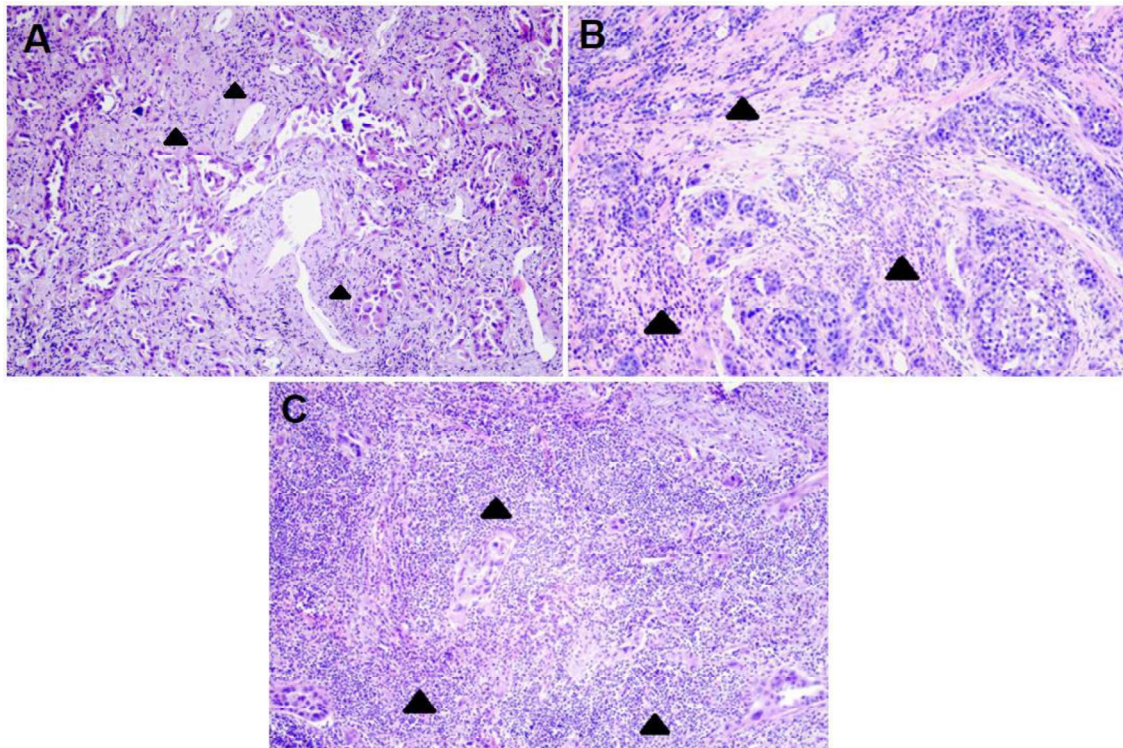
Tabela 1 – Características demográficas e clínicas da amostra por grupos de TILs

Variável	Leve	Moderado	Intenso	Total
Total de pacientes	78,4% (40)	9,8% (5)	11,8% (6)	100% (51)
Sexo				
Sexo masculino	52,5% (21)	40,0% (2)	66,7% (4)	52,9% (27)
Sexo feminino	47,5% (19)	60,0% (3)	33,3% (2)	47,1% (24)
Tipo histológico				
Adenocarcinoma	52,5% (21)	40,0% (2)	100,0% (6)	47,1% (24)
Carcinoma escamoso	40,0% (16)	60,0% (3)	0,0% (0)	37,3% (19)
Carcinoma de grandes células	7,5 (3)	0 (0)	0 (0)	5,9% (3)
Estágio				
Estágio III	35,0% (14)	40,0% (2)	50,0% (3)	37,3% (19)
Estágio IV	65,0% (26)	60,0% (3)	50,0% (3)	62,7% (32)

Fonte: elaborada pela autora (2025).

A Figura 4A mostra a presença de discreta infiltração linfocitária dispersa no estroma tumoral, sem formação de agregados densos ou reação imune significativa, caracterizando uma densidade de TILs classificada como leve (<25%) (HE, 100x). Na Figura 4B, pode-se verificar a presença de infiltrado linfocitário moderado no estroma tumoral, com distribuição mais evidente e presença de pequenos agregados em áreas peritumorais, caracterizando uma densidade de TILs classificada como moderada (25–50%) (HE, 100x). Na Figura 4C, pode-se ver a presença de denso infiltrado linfocitário difuso no estroma tumoral, com áreas extensas ocupadas predominantemente por linfócitos, caracterizando uma densidade de TILs classificada como intensa (>50%) (HE, 100x).

Figura 4 – Densidade de TILs (A) leve, (B) moderada e densa (C) (H&E, 100x).



Fonte: arquivo pessoal da autora (2025).

6.1 TILS E TAMANHO DA LESÃO

Os resultados deste estudo demonstraram uma associação estatisticamente significativa entre a densidade de TILs e a resposta tumoral à quimioterapia, avaliada pela variação do tamanho do tumor. A análise evidenciou que pacientes com maior densidade de TILs apresentaram reduções mais expressivas no tamanho tumoral, enquanto aqueles com baixa infiltração mostraram, em média, uma redução discreta ou até mesmo aumento da lesão.

O grupo com infiltração leve de TILs, que representou a maioria da amostra (78,4%), apresentou a menor variação média de tamanho tumoral ($M = 0,52$ cm; $DP = 2,28$), com desvio padrão amplo entre $-5,90$ cm a $6,20$ cm. Em contraste, os grupos com infiltração moderada (9,8%) e intensa (11,8%) apresentaram reduções médias progressivamente maiores, de $-2,42$ cm ($DP = 1,80$) e $-3,18$ cm ($DP = 1,52$), respectivamente.

A análise de covariância (ANCOVA) confirmou o impacto substancial da densidade de TILs sobre a variação do tamanho tumoral ($F = 83,109$; $p < 0,001$; $\eta^2 =$

0,551), explicando mais da metade da variabilidade na resposta, mesmo após ajuste para covariáveis relevantes como estágio clínico e tipo histológico. Além disso, a ANCOVA também indicou que o tamanho tumoral inicial influenciou significativamente a resposta ao tratamento ($F = 10,347$; $p < 0,001$; $\eta^2 = 0,137$), sugerindo que tumores menores tendem a apresentar reduções mais pronunciadas.

As análises de correlação de Spearman corroboraram esses achados, demonstrando uma associação negativa robusta entre a densidade de TILs e a variação no tamanho tumoral ($r = -0,676$; $p < 0,001$). Assim, quanto maior a infiltração linfocitária, maior a redução observada no tamanho tumoral.

Esses resultados indicam um possível efeito sinérgico entre características intrínsecas do tumor e o microambiente imune, destacando o papel dos TILs como potenciais mediadores importantes na resposta à quimioterapia. A Tabela 2 resume esses achados e a Figura 5 ilustra graficamente a relação entre o tamanho tumoral antes e após o tratamento, categorizado conforme os níveis de TILs.

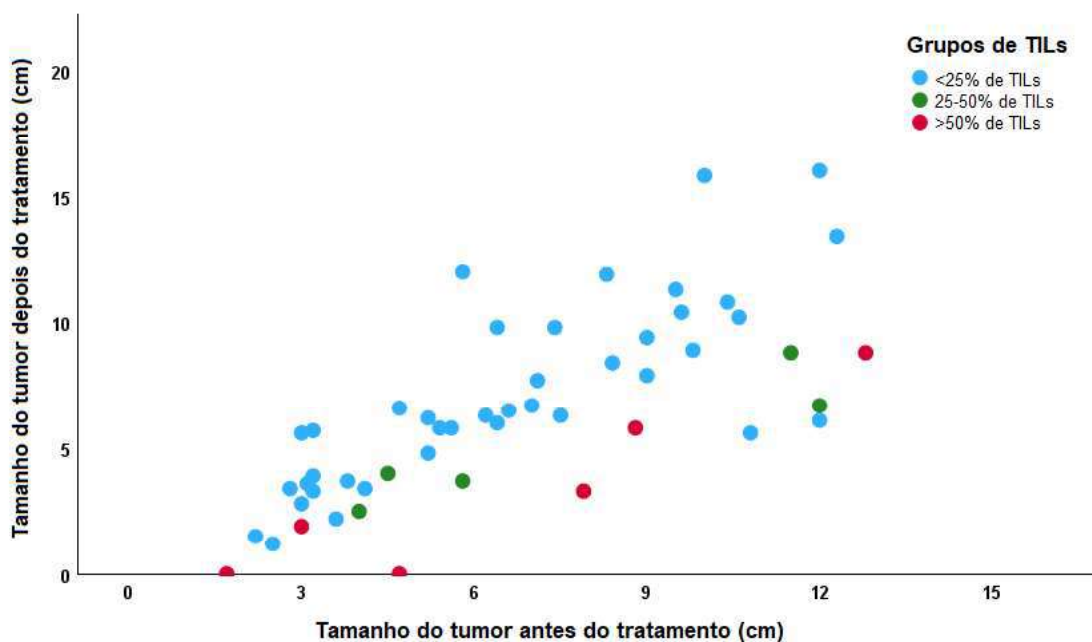
Por fim, as análises ajustadas indicaram que, entre as covariáveis avaliadas, o estágio clínico teve impacto significativo na resposta ao tratamento, com uma maior heterogeneidade de resposta observada entre pacientes no estágio IV, em comparação com aqueles no estágio III. Em contrapartida, outras variáveis, como idade, sexo, comorbidades e histórico de tabagismo, não demonstraram influência relevante sobre a redução tumoral, reforçando a densidade de TILs como um dos principais fatores associados à resposta ao tratamento quimioterápico nesta coorte.

Tabela 2 – Distribuição das Variáveis Quantitativas por Grupos de TILs

Variável	Leve (n=40)	Moderado (n=5)	Intenso (n=6)	p-valor	Teste
Tamanho inicial da lesão (cm)	6,72 ± 3,18	5,50 ± 2,20	4,33 ± 1,52	<0,05	ANOVA
Variação do tamanho tumoral (cm)	0,52 ± 2,28	-2,42 ± 1,80	-3,18 ± 1,52	<0,01	ANCOVA
Sobrevida (meses)	10,62 ± 7,32	19,80 ± 11,30	22,75 ± 21,90	<0,05	Teste de Kruskal-Wallis

Fonte: elaborada pela autora (2025).

Figura 5 – Relação entre o tamanho do tumor antes e após o tratamento quimioterápico em pacientes com CPNPC

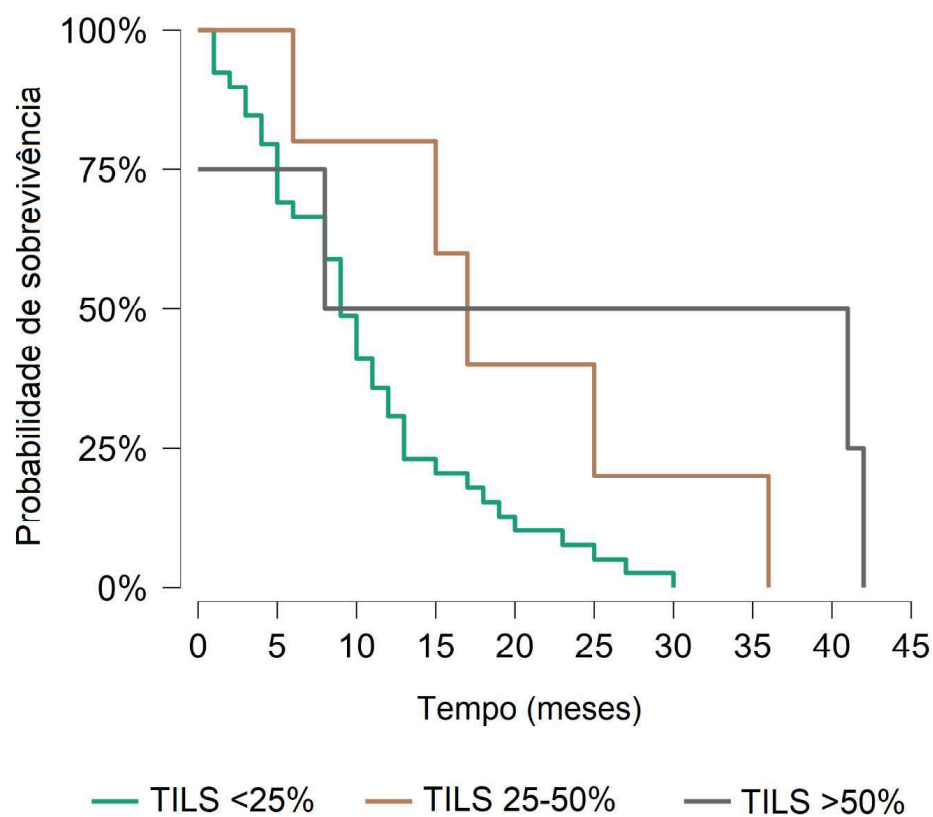


Fonte: elaborada pela autora (2025).

6.3 TILS E SOBREVIDA

A análise dos dados revelou diferenças importantes na sobrevida global (em meses) entre os grupos de densidade de TILs. O grupo com infiltração linfocitária leve (0–25%) apresentou uma média de sobrevida de 10,62 meses ($\pm 7,32$), variando de 1 a 30 meses. Já o grupo moderado (25–50%) demonstrou uma sobrevida média de 19,80 meses ($\pm 11,30$), com valores entre 6 e 36 meses. O grupo com infiltração intensa (>50%) obteve a maior sobrevida média, de 22,75 meses ($\pm 21,90$), variando de 0 a 42 meses. Esses resultados reforçam uma associação positiva entre a densidade de TILs e a sobrevida, sugerindo que pacientes com maior infiltração linfocitária no microambiente tumoral podem apresentar prognósticos mais favoráveis. As curvas de Kaplan-Meier correspondentes aos três grupos categorizados pela densidade de TILs estão representadas na Figura 6, evidenciando a tendência de maior sobrevida nos pacientes com infiltração moderada e intensa.

Figura 6 – Curvas de Kaplan-Meier para sobrevida global (SG) segundo a densidade de TILs em pacientes com CPNPC (n=51)



Fonte: elaborada pela autora (2025).

6.4 KAPPA DE CONCORDÂNCIA INTEROBSERVADOR

Os resultados da análise de concordância para a quantificação histológica de TILs indicaram uma concordância substancial entre os avaliadores, especialmente quando os TILs foram categorizados em três níveis específicos: 0-25%, 25-50% e >50%. O coeficiente médio de Kappa de Cohen foi de 0,673, valor que corresponde a uma concordância substancial conforme os critérios de Landis e Koch (55).

Nas comparações individuais, o par de avaliadores F.N. e C.S. apresentou a maior concordância (Kappa = 0,798; IC 95%: 0,602–0,995), evidenciando excelente consistência. Os pares A.T. e C.S. (Kappa = 0,648; IC 95%: 0,416–0,881) e A.T. e F.R. (Kappa = 0,573; IC 95%: 0,323–0,824) também demonstraram níveis elevados de concordância, ainda que com alguma variabilidade. Esses resultados indicam que os critérios utilizados para a estratificação dos TILs são bem definidos e aplicados de maneira consistente.

A avaliação da concordância global entre os três avaliadores, por meio do Kappa de Fleiss, resultou em 0,668 (IC 95%: 0,546–0,791), corroborando a alta confiabilidade do método. De forma semelhante, o Alpha de Krippendorff (57) nominal foi de 0,671 (IC 95%: 0,447–0,838), reforçando que a categorização adotada alcançou níveis satisfatórios de reprodutibilidade.

6.5 VIESES

Os vieses deste estudo incluem limitações relacionadas ao desenho retrospectivo, à coleta de dados, à análise estatística e à generalização dos resultados. O viés de seleção está presente devido à inclusão apenas de pacientes com dados completos, o que pode não representar a população geral. A avaliação dos TILs por coloração de H&E, embora acessível, não permite a diferenciação de subtipos celulares específicos, introduzindo viés de medição. Apesar da utilização de ANCOVA para ajustar variáveis de confusão, outros fatores prognósticos, como mutações genéticas ou terapias concomitantes, não foram considerados, podendo gerar interpretações enviesadas.

Além disso, a categorização simplificada dos TILs (0-25%, 25-50%, >50%) pode ter perdido nuances importantes, enquanto a ausência de dados detalhados

sobre a localização dos linfócitos (estroma versus compartimento epitelial) limita uma análise mais precisa. Os resultados também podem não ser generalizáveis devido ao pequeno tamanho da amostra e ao foco em pacientes tratados com quimioterapia, o que pode não refletir desfechos em cenários mais amplos, como os de imunoterapia. Por fim, a heterogeneidade metodológica da literatura dificulta comparações diretas e pode influenciar a interpretação dos achados. Reconhecer essas limitações ressalta a importância de estudos prospectivos e metodologicamente rigorosos para validar os resultados encontrados.

7 DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo reforçam o crescente corpo de evidências que apoia o papel dos TILs como biomarcadores prognósticos e preditivos no CPNPC. A associação observada entre maior densidade de TILs e redução tumoral significativa após a quimioterapia está em consonância com a literatura internacional, que aponta que um microambiente tumoral imunologicamente ativo favorece a eficácia terapêutica (51,50, 60, 61, 62).

A força da associação estatística observada ($\eta^2 = 0,551$) indica que a densidade de TILs foi responsável por mais da metade da variabilidade na resposta tumoral, mesmo após ajuste para idade, sexo e estadiamento clínico. Esse efeito robusto destaca a importância biológica dos TILs na modulação da sensibilidade à quimioterapia, sendo possível que atuem não apenas como reflexo de uma resposta imune antitumoral já presente, mas também interajam com os mecanismos de morte celular imunogênica induzida pela quimioterapia, amplificando seu efeito citotóxico (27,29).

Reduções mais pronunciadas em tumores menores provavelmente se devam a uma combinação de fatores biológicos e terapêuticos que favorecem maior sensibilidade ao tratamento. Primeiramente, tumores menores tendem a apresentar menor heterogeneidade celular e menor proporção de clones resistentes, o que os torna mais suscetíveis à ação de quimioterápicos ou à resposta imune (2, 51). Além disso, a vascularização em tumores de menor tamanho é, em geral, mais eficiente, o que permite melhor penetração dos agentes citotóxicos e imunomoduladores no interior do tumor, em contraste com áreas centrais necróticas ou hipóxicas que frequentemente se desenvolvem em massas maiores (17, 24).

Do ponto de vista imunológico, tumores menores podem ainda manter um microambiente tumoral menos imunossupressor, o que permite uma atuação mais efetiva dos TILs e das células apresentadoras de antígeno (25, 33). A presença de uma carga tumoral mais baixa também pode reduzir a exaustão imunológica, favorecendo mecanismos de vigilância imunológica e resposta à imunoterapia, quando aplicável (29, 34, 35). É importante considerar que, nos modelos de avaliação clínica e radiológica, pequenas alterações no tamanho absoluto de tumores menores podem representar grandes variações proporcionais, o que também pode amplificar a percepção de resposta terapêutica mais significativa nesses casos (2, 43).

Alguns estudos já demonstraram a validade da quantificação exclusivamente morfológica de TILs por meio da coloração com H&E em neoplasias como o câncer colorretal e o câncer de mama (48,59). Uma das principais contribuições deste estudo consiste em evidenciar que essa avaliação também apresenta um valor preditivo robusto quando aplicada de maneira sistemática em CPNPC. Tal achado assume especial relevância em contextos com recursos limitados, nos quais métodos avançados, como a imunohistoquímica ou a genômica, não são amplamente disponíveis. Para se ter uma ideia, a realização de painéis imunohistoquímicos pode apresentar valores amplamente variáveis, a depender do número e do tipo de anticorpos utilizados, da região do país e da complexidade do serviço. Na rede privada, os custos podem variar entre R\$ 800,00 e R\$ 1.500,00, enquanto no sistema público de saúde, embora não haja cobrança direta ao paciente, os valores de ressarcimento variam entre R\$ 130,00 e R\$ 790,00, a depender da quantidade de marcadores utilizados. Para fins comparativos, um exame anatomopatológico convencional com coloração por H&E costuma ter um custo significativamente inferior, girando em torno de R\$ 100,00 a R\$ 200,00 na rede privada, e cerca de R\$ 40,00 nos serviços públicos (6). Essa disparidade evidencia a importância de métodos acessíveis e de baixo custo, especialmente em contextos onde a infraestrutura laboratorial e os recursos financeiros são restritos. Nesse cenário, a adoção de uma metodologia prática, acessível e reproduzível – como a quantificação morfológica por H&E – oferece uma alternativa economicamente viável e potencialmente eficaz.

A padronização desta abordagem pode favorecer sua incorporação na prática diagnóstica de rotina, atuando como uma ferramenta auxiliar na estratificação terapêutica. A partir da quantificação morfológica dos TILs, é possível vislumbrar a identificação de subgrupos de pacientes com maior probabilidade de resposta a estratégias terapêuticas específicas, particularmente aquelas que envolvem modulação imunológica. Em cenários clínicos compatíveis, essas informações podem orientar condutas mais agressivas, como a intensificação do tratamento sistêmico ou a associação com terapias locais, além de levantar a hipótese do uso dos TILs como biomarcador para seleção de candidatos à terapia de indução, nos moldes do que vem sendo observado no contexto da imunoterapia.

Adicionalmente, os achados deste estudo também sugerem a viabilidade de descalonação terapêutica em determinados perfis clínicos, especialmente naqueles

com elevada densidade de TILs. Pacientes com infiltrado linfocitário igual ou superior a 25% demonstraram não apenas maior redução tumoral, mas também sobrevida global prolongada, mesmo em ausência de imunoterapia. Isso levanta a possibilidade de que, em ambientes onde o acesso à imunoterapia é restrito, a avaliação de TILs possa contribuir para a identificação de indivíduos que potencialmente não se beneficiariam de esquemas mais agressivos ou de alto custo, permitindo a personalização do tratamento oncológico com base em marcadores histológicos simples e reprodutíveis.

Assim, mesmo na ausência de técnicas complementares sofisticadas, a avaliação morfológica dos infiltrados linfocitários pode representar um recurso valioso para a personalização do cuidado oncológico, ampliando o alcance da medicina de precisão em ambientes com infraestrutura restrita.

Adicionalmente, observou-se uma associação significativa entre a densidade de TILs e a sobrevida global, reforçando seu valor prognóstico. Pacientes com níveis moderados ou elevados de TILs apresentaram sobrevida mais prolongada, achado coerente com estudos prévios (58,53), e que posiciona os TILs como biomarcadores de dupla função, capazes de prever tanto resposta terapêutica quanto desfechos clínicos de longo prazo.

Outro dado relevante foi o elevado grau de concordância entre os avaliadores na quantificação de TILs (κ de Cohen = 0,673), indicando que a avaliação por HE é factível e reprodutível quando realizada com critérios padronizados. Esse achado sustenta a viabilidade de sistemas de escore harmonizados, semelhantes ao Immunoscore® proposto para câncer colorretal (53,59). Embora esse sistema seja baseado em IHC para células CD3+ e CD8+, os dados aqui apresentados demonstram que mesmo a quantificação morfológica não específica pode gerar informações clinicamente relevantes.

Os achados deste estudo indicam que a estratificação em três níveis de densidade de TILs proporciona maior clareza e reduz as discrepâncias entre observadores. No entanto, também demonstram que uma categorização binária, utilizando o ponto de corte de 25%, é estatisticamente viável e clinicamente relevante, uma vez que as principais diferenças foram observadas entre o grupo de baixa infiltração (<25%) e os demais. As análises confirmaram que esse limiar discrimina adequadamente os subgrupos com piores e melhores desfechos, tanto em relação à

resposta tumoral quanto à sobrevida. Por outro lado, as distinções entre infiltração moderada e intensa foram menos expressivas, reforçando a adoção do ponto de corte em 25% como uma estratégia simplificada e eficiente para a estratificação clínica. Essa proposta não apenas se fundamenta nos resultados deste estudo, mas também está alinhada com a literatura, que frequentemente adota esse mesmo limiar para diferenciar infiltrações linfocitárias mínimas das clinicamente significativas (51,50,53).

8 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Este estudo apresenta algumas limitações metodológicas e estatísticas que devem ser consideradas na interpretação dos resultados. Em primeiro lugar, o desenho retrospectivo e observacional pode introduzir viés de seleção e comprometer a completude dos dados, uma vez que não houve controle prospectivo das variáveis clínicas e terapêuticas. A ausência de randomização limita o controle de fatores de confusão, como mutações específicas, comorbidades e tratamentos concomitantes, os quais podem influenciar tanto a resposta à quimioterapia quanto a densidade de TILs.

Do ponto de vista estatístico, o tamanho amostral reduzido ($n = 51$) compromete o poder das análises, aumentando o risco de erro tipo II e dificultando a validação robusta das premissas do modelo estatístico aplicado (ANCOVA). Embora o efeito observado tenha sido expressivo, a generalização dos achados para outras populações exige cautela.

Metodologicamente, a avaliação dos TILs foi realizada exclusivamente por coloração de hematoxilina-eosina (H&E), o que, embora prático e acessível, não permite a caracterização de subpopulações linfocitárias com funções distintas no microambiente tumoral. Subtipos como linfócitos T CD8+ citotóxicos ou células T reguladoras FOXP3+ podem exercer efeitos prognósticos divergentes, sendo sua identificação fundamental para compreender plenamente o papel imune na resposta tumoral (47).

Adicionalmente, a categorização dos TILs em três níveis (leve, moderado, intenso), embora útil para fins comparativos, pode simplificar excessivamente a complexidade do infiltrado imune, não capturando gradientes contínuos de resposta. Apesar da boa concordância interobservador observada neste estudo ($\kappa = 0,673$), a subjetividade da avaliação morfológica ainda representa um desafio, reforçando a necessidade de padronização internacional dos critérios e da incorporação de ferramentas automatizadas, como algoritmos de aprendizado de máquina, para aprimorar a reprodutibilidade e a acurácia.

Por fim, destaca-se que este estudo não diferenciou os compartimentos de infiltração linfocitária - estromal e intratumoral - que possuem significados prognósticos distintos e são recomendados em diretrizes mais recentes (53,51).

Diante dessas limitações, recomenda-se que futuros estudos adotem delineamento prospectivo, maior amostragem, avaliação imunofenotípica por imunohistoquímica e controle rigoroso de variáveis clínicas relevantes, a fim de validar e aprofundar a compreensão do papel dos TILs no câncer de pulmão.

9 PERSPECTIVAS FUTURAS (PROPOSIÇÕES)

As perspectivas futuras para a pesquisa sobre TILs no CPNPC apontam para um campo promissor e ainda pouco explorado na prática clínica oncológica. Embora a avaliação dos linfócitos infiltrantes já esteja relativamente consolidada em neoplasias como o câncer de cólon e de mama, no câncer de pulmão essa abordagem permanece subutilizada, carecendo de integração sistemática nos fluxos decisórios terapêuticos. Nesse sentido, este estudo destaca-se ao introduzir, com base morfológica simples e acessível, uma ferramenta com potencial preditivo significativo no cenário do CPNPC. Os avanços metodológicos futuros devem incluir o aprimoramento da caracterização imunofenotípica dos TILs por meio de técnicas como a imunohistoquímica multiparamétrica, citometria de fluxo e sequenciamento de célula única. A incorporação de análises digitais automatizadas, aliadas ao aprendizado de máquina, pode ampliar a acurácia, padronização e reprodutibilidade dessa avaliação, tornando-a mais robusta para aplicação clínica.

A proposta da criação de um Immunoscore específico para o câncer de pulmão ganha força à medida que se acumulam evidências sobre o papel imunomodulador desses infiltrados na resposta terapêutica, especialmente à imunoterapia baseada em inibidores de checkpoints imunológicos. A consolidação de TILs como biomarcadores úteis na seleção e monitoramento de pacientes poderá representar uma inflexão importante na prática clínica, aproximando o manejo do CPNPC da lógica da medicina personalizada. Estudos futuros devem validar sua aplicabilidade preditiva e prognóstica, além de investigar como diferentes subpopulações celulares influenciam os desfechos clínicos. A integração entre dados histopatológicos, perfis moleculares e técnicas avançadas de imagem pode contribuir para a construção de modelos preditivos mais precisos.

Além disso, pesquisas translacionais poderão aprofundar a compreensão das interações entre os TILs e outros componentes do microambiente tumoral, desvendando mecanismos imunorreguladores que possam ser convertidos em novos alvos terapêuticos. A realização de ensaios prospectivos e randomizados, com amostras populacionais diversas e metodologias padronizadas, será crucial para consolidar essas propostas. Em suma, ao evidenciar o valor clínico da avaliação morfológica dos TILs no CPNPC, este estudo não apenas preenche uma lacuna

importante na literatura, como também sugere caminhos concretos para a incorporação dessa variável nos protocolos terapêuticos, desafiando a prática atual e promovendo avanços na estratificação imunológica do câncer de pulmão.

10 CONCLUSÃO

Este estudo demonstrou que a avaliação morfológica dos TILs por coloração de H&E apresenta associação relevante com a resposta à quimioterapia em pacientes com CPNPC avançado (estádios III e IV). A quantificação mostrou-se reprodutível entre patologistas, além de revelar diferenças na sobrevida global entre subgrupos com distintos níveis de infiltração linfocitária, sugerindo valor prognóstico. Também foi possível propor um ponto de corte percentual para estratificação dos pacientes de acordo com a densidade de TILs, contribuindo para a identificação daqueles com maior probabilidade de benefício terapêutico.

Esses achados apoiam o uso da quantificação de TILs baseada em H&E como ferramenta de baixo custo e reprodutível, com potencial para orientar estratégias personalizadas e até desintensificação do tratamento. Dada sua viabilidade técnica e acessibilidade, essa abordagem configura-se como promissora para a estratificação prognóstico-preditiva do CPNPC, sobretudo em contextos de recursos limitados ou em sistemas nos quais a imunoterapia não está disponível.

REFERÊNCIAS

- 1 – Donnem T, Kilvaer TK, Andersen S, Richardsen E, Paulsen EE, Hald SM, et al. Strategies for clinical implementation of TNM-Immunoscore in resected non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2016;11(9):1569-75. doi: 10.1016/j.jtho.2016.05.012.
- 2 – Smith, J. Advances in lung cancer treatment. *Cancer Res.* 2019;79(12), 3001-3010.
- 3 – Jones R, Smith A, Patel K, Liu Y, Thompson M, Nguyen L, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes as prognostic markers in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer.* 2020;150:45–52. doi: 10.1016/j.lungcan.2020.09.012.
- 4 – Brown, T. Challenges in assessing tumor-infiltrating lymphocytes. *Pathol Rev.* 2018;34(4):215-222.
- 5 – Wilson K, Zhang L, Chen Y, Patel R, Thompson J, Nguyen T, et al. Immunotherapy response in lung cancer: The role of TILs. *Oncol Rep.* 2022;48(3):1234–1245. doi: 10.3892/or.2022.8321
- 6 – Martinez, L. Hematoxylin-eosin staining in clinical practice. *Clin Pathol.* 2019;12(2), 89-95.
- 7 – Garcia, M. Evaluating TILs in NSCLC: A clinical perspective. *J Thorac Oncol.* 2023;18(1):15-25.
- 8 – World Health Organization, International Agency for Research on Cancer (IARC). GLOBOCAN 2012: Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide [Internet]. Lyon: IARC; 2013 [cited YEAR Mon DD]. Available from: <http://globocan.iarc.fr>
- 9 – Instituto Nacional de Câncer (Brasil). Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA; 2022.
- 10 – Azevedo e Silva G, de Moura L, Curado MP, Gomes Fda S, Otero U, Rezende LF, et al. The Fraction of Cancer Attributable to Ways of Life, Infections, Occupation, and Environmental Agents in Brazil in 2020. *PLoS One.* 2016;11(2):e0148761. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148761>
- 11 – Parkin, DM, Bray F, Ferlay J, Pisani, P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin.* 2005;55:74-108. doi: 10.3322/canjclin.55.2.74.
- 12 – Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, Jemal A. Cancer statistics, 2023. *CA Cancer J Clin.* 2023;73:17–48. doi: 10.3322/caac.21763. doi: 10.3322/caac.21763.

- 13 – Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Teppo L, Thomas DB. Cancer Incidence in Five Continents. 2002; Vol. VIII. IARC Scientific Publications No. 155. IARC Press: Lyon. Available from: https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Iarc-Scientific-Publications/Cancer-Incidence-In-Five-Continents-Volume-VIII-2002?utm_source=chatgpt.com
- 14 – Devesa SS, Shaw GL, Blot WJ. Changing patterns of lung cancer incidence by histological type. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1991;1: 29-34.
- 15 – Jedrychowski W, Becher H, Wahrendorf J, Basa-Cierpialek Z, Gomola K. Effect of tobacco smoking on various histological types of lung cancer. *J Cancer Res Clin Oncol.* 1992;118:276-282. doi: 10.1007/BF01208616.
- 16 – Charloux A, Quoix E, Wolkove N, Small D, Pauli G, Kreisman H. The increasing incidence of lung adenocarcinoma: reality or artefact? A review of the epidemiology of lung adenocarcinoma. *Int J Epidemiol.* 1997;26:14-23. doi: 10.1093/ije/26.1.14.
- 17 – Spiro SG, Porter JC. Lung cancer - where are we today? Current advances in staging and nonsurgical treatment. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;166:1166-1196. doi: 10.1164/rccm.200202-070SO.
- 18 – Colby TV, Koss M, Travis WD. Tumors of the Lower Respiratory Tract. 3rd ed. Washington (DC): Armed Forces Institute of Pathology; 1995.
- 19 – Travis WD, Colby TV, Corrin B, Shimosato Y, Brambilla E. WHO Histological Classification of Tumours. Histological Typing of Lung and Pleural Tumours. 3rd ed. Berlin: Springer-Verlag; 1999.
- 20 – Byrd RB, Carr DT, Miller WE, Payne WS, Woolner LB. Radiographic abnormalities in carcinoma of the lung as related to histological cell type. *Thorax.* 1969;24:573-575. doi: 10.1136/thx.24.5.573.
- 21 – Naoum PC. Cell signaling of human cancer. São José do Rio Preto (SP): Academia de Ciência e Tecnologia; 2015.
- 22 – Burnet M. Cancer; a biological approach. I. The processes of control. *Br Med J.* 1957;1:779–786.
- 23 – Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The three Es of cancer immunoediting. *Annu Rev Immunol.* 2004;22:329–360. doi: 10.1146/annurev.immunol.22.012703.104803.
- 24 – Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011;144:646–674. doi: 10.1038/nrc3245.

- 25 – Fridman WH, Pagès F, Sautès-Fridman C, Galon, J. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. *Nat Rev Cancer*. 2012;12:298-306.
- 26 – Ruffini E, Asioi S, Filosso PL, Lyberis P, Bruna MC, Macri L, et al. Clinical significance of tumor-infiltrating lymphocytes in lung neoplasms. *Ann Thorac Surg*. 2009 Feb;87(2):365–71; discussion 371–2. doi:10.1016/j.athoracsur.2008.10.067.
- 27 – Gajewski TF, Schreiber H, Fu XY. Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment. *Nat Immunol*. 2013;14(10):1014-22. Available from: <https://www.nature.com/articles/ni.2703#citeas>
- 28 – Schumacher, TN, Schreiber, RD. Neoantigens in cancer immunotherapy. *Science*, 2015;348(6230):69-74. Available from: <https://doi.org/10.1126/science.aaa4971>
- 29 – Schreiber, RD, Old, LJ, Smyth, MJ. Cancer Immunoediting: Integrating Immunity's Roles in Cancer Suppression and Promotion. *Science*, 2011;331(6024):1565-70. doi:10.1126/science.1203486
- 30 – Mittal D, Gubin MM, Schreiber RD, Smyth MJ. New insights into cancer immunoediting and its three component phases—elimination, equilibrium and escape. *Curr Opin Immunol*. 2014;27:16–25. doi:10.1016/j.coi.2014.01.004
- 31 - Remark R, Becker C, Gomez JE, Damotte D, Dieu-Nosjean MC, Sautès-Fridman C, et al. The non-small cell lung cancer immune contexture. A major determinant of tumor characteristics and patient outcome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015;191(4):377–90. doi: 10.1164/rccm.201409-1671PP
- 32 – Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol*. 2002;3(11):991–998. doi:10.1038/ni1102-991
- 33 – Bremnes RM, Busund LT, Kilvær TL, Andersen S, Richardsen E, Paulsen EE, et al. The role of tumor-infiltrating lymphocytes in development, progression, and prognosis of non–small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2016;11(6):789–800. doi:10.1016/j.jtho.2016.01.015.
- 34 – Pauken KE, Wherry EJ. Overcoming T cell exhaustion in infection and cancer. *Trends Immunol*. 2015;36(4):265–76. doi: 10.1016/j.it.2015.02.008
- 35 – Chen DS, Mellman I. Elements of cancer immunity and the cancer-immune set point. *Nature*. 2017;541(7637):321-330. doi: 10.1038/nature21349

- 36 – Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2012;12(4):252-64. doi: 10.1038/nrc3239
- 37 – Gajewski TF, Schreiber H, Fu YX. Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment. *Nat Immunol*. 2013;14(10):1014-22. doi: 10.1038/ni.2703
- 38 – Donnem T, Kilvaer TK, Andersen S, Richardsen E, Paulsen EE, Hald SM, et al. Strategies for clinical implementation of TNM-Immunoscore in resected non-small cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2016;27(2):225–32. doi:10.1093/annonc/mdv560.
- 39 – Carbone DP, Gandara DR, Antonia SJ, et al. Non-Small-Cell Lung Cancer: Role of the Immune System and Potential for Immunotherapy. *J Thorac Oncol*. 2015;10:974–84. doi: 10.1097/JTO.0000000000000551
- 40 – Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, Spigel DR, Steins M, Ready NE, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2015;373(17):1627–39. doi: 10.1056/NEJMoa1507643
- 41 – Brahmer JR, Reckamp KL, Baas P, Crinò L, Eberhardt WE, Poddubskaya E, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2015;373(2):123–135. doi: 10.1056/NEJMoa1504627
- 42 – Fehrenbacher L, Spira A, Ballinger M, Kowanzetz M, Vansteenkiste J, Mazieres J, et al. Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomised controlled trial. *The Lancet*. 2016;387(10030):1837–46. doi: 10.1016/S0140-6736(16)00587-0
- 43 – Garon EB, Rizvi NA, Hui R, Leigh N, Balmanoukian AS, Eder JP, et al. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2015;372 (21):2018–28. doi: 10.1056/NEJMoa1501824
- 44 – Rizvi NA, Mazières J, Planchard D, Stinchcombe TE, Dy GK, Antonia SJ, et al. Activity and safety of nivolumab, an anti-PD-1 immune checkpoint inhibitor, for patients with advanced, refractory squamous non-small-cell lung cancer (CheckMate 063): a phase 2, single-arm trial. *The Lancet Oncology*. 2015;16(3):257–65. doi: 10.1016/S1470-2045(15)70054-9.
- 45 – Hellmann MD, Nathanson T, Rizvi H, Creelan BC, Sanchez-Vega F, Ahuja A. Genomic Features of Response to Combination Immunotherapy in Patients with Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *Cancer Cell*. 2018;33(5):843-52. doi:10.1016/j.ccell.2018.03.018

- 46 – Amin MB, ed. *AJCC Cancer Staging Manual*, 8th ed. Springer; 2017. *Nature Reviews Cancer*. 2019;19(5):289-97. doi:10.1038/s41568-019-0133-9
- 47 – Hendry S, Salgado R, Gevaert T, Russell PA, John T, Thapa B, et al. Assessing tumor infiltrating lymphocytes in solid tumors: a practical review for pathologists and proposal for a standardized method from the International Immuno-Oncology Biomarkers Working Group. Part 2: TILs in melanoma, gastrointestinal tract carcinomas, non-small cell lung carcinoma and mesothelioma, endometrial and ovarian carcinomas, squamous cell carcinoma of the head and neck, genitourinary carcinomas, and primary brain tumors. *Adv Anat Pathol*. 2017;24(6):311–35. doi:10.1097/PAP.000000000000161
- 48 – Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruneri G, et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Annals of Oncology*. 2015;26(2):259-71. doi:10.1093/annonc/mdu450
- 49 – Donnem T, Kilvaer TK, Andersen S, Richardsen E, Paulsen EE, Hald SM, et al. Strategies for clinical implementation of TNM-Immunoscore in resected nonsmall-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2016;27(2):225–32. doi: 10.1093/annonc/mdv560
- 50 – Schalper KA, Brown J, Carvajal-Hausdorf D, McLaughlin J, Velcheti V, Syrigos KN, et al. Objective measurement and clinical significance of TILs in non-small cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2015 Feb 3;107(3):dju435. doi: 10.1093/jnci/dju435
- 51 – Brambilla E, Le Teuff G, Marguet S, Lantuejoul S, Dunant A, Graziano S, et al. Prognostic Effect of Tumor Lymphocytic Infiltration in Resectable Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol*. 2016;34(11):1223-30. doi: 10.1200/JCO.2015.63.0970
- 52 – Geng Y, Shao Y, He W, Hu W, Xu Y, Chen J, et al. Prognostic Role of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Lung Cancer: A Meta-Analysis. *Cell Physiol Biochem*. 2015;37(4):1560-71. doi: 10.1159/000438523
- 53 – Donnem T, Hui R, Moreno V, Pillai RN, Secq V, Trépo E, et al. Immunoscore for NSCLC: an international taskforce proposal. *Ann Oncol*. 2016;27(9):1671-8. doi:10.1093/annonc/mdw260.
- 54 – Laerd Statistics. ANCOVA using SPSS Statistics [internet]. 2018 [cited 2025 Jan 2]. Available from: <https://statistics.laerd.com>
- 55 – Landis JR, Koch, GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*. 1977;33(1):159–74.

- 56 – Fleiss JL. Measuring nominal scale agreement among many raters. *Psychol Bull.* 1971;76(5):378–82.
- 57 – Krippendorff K. Computing Krippendorff's Alpha-Reliability [internet]. Pennsylvania: University of Pennsylvania Scholarly Commons; 2011 [cited 2025 Jan 2]. Available from: <https://repository.upenn.edu>
- 58 – Horne ZD, Jack R, Gray ZT, Siegfried JM, Wilson DO, Yousem AS, et al. Increased levels of tumor-infiltrating lymphocytes are associated with improved recurrence-free survival in stage 1A non-small-cell lung cancer. *J Surg Res.* 2011;171(1):1-5. doi: 10.1016/j.jss.2011.03.068
- 59 – Mlecnik B, Tosolini M, Kirilovsky A, Berger A, Bindea G, Meatchi T, et al. Histopathologic based prognostic factors of colorectal cancers are associated with the state of the local immune reaction. *J Clin Oncol.* 2011;29(6):610–18. doi: 10.1200/JCO.2010.30.5425
- 60 – Wakabayashi O, Yamazaki K, Oizumi S, Hommura F, Kinoshita I, Ogura S, et al. CD4⁺ T cells in cancer stroma, not CD8⁺ T cells in cancer cell nests, are associated with favorable prognosis in human non-small cell lung cancers. *Cancer Sci.* 2003;94(11):1003–09. doi: 10.1111/j.1349-7006.2003.tb01392.x
- 61 – Al-Shibli KI, Donnem T, Al-Saad S, Persson M, Bremnes RM, Busund LT, et al. Prognostic effect of epithelial and stromal lymphocyte infiltration in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2008;14:5220–5227. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-0133
- 62 – Mignon C, De Brouwer S, Simaga F, Jansen N, Weynand B, Leduc D, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes and prognosis in non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2016;11(5):729–737. doi: 10.1016/j.jtho.2016.01.015.

ANEXOS

UNIVERSIDADE DE CAXIAS
DO SUL - RS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Comparação entre Linfócitos Infiltrantes de Tumor no Câncer de Pulmão com a Resposta à Quimioterapia: Um Estudo Transversal

Pesquisador: ALINE CALDART TREGNAGO

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 79586624.1.0000.5341

Instituição Proponente: HOSPITAL GERAL DE CAXIAS DO SUL

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.856.768

Apresentação do Projeto:

Extraído de PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2329467.pdf:

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAXIAS DO SUL, 29 de Maio de 2024

Assinado por:

Magda Amabile Biazus Carpeggiani Bellini
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Francisco Getúlio Vargas, nº 1130, Petrópolis, Campus-sede, Bloco S, sala 405
Bairro: PETROPOLIS **CEP:** 95.070-560
UF: RS **Município:** CAXIAS DO SUL
Telefone: (54)3218-2829 **E-mail:** cep-ucs@ucs.br