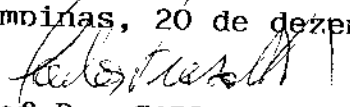


IVAN FELIZARDO CONTRERA TORO

Este exemplar corresponde à versão final da Tese de Doutorado apresentada - ao Curso de Pós-Graduação em Cirurgia da FCM/UNICAMP, para obtenção do título de Doutor em Cirurgia do médico IVAN FELIZARDO CONTRERA TORO.

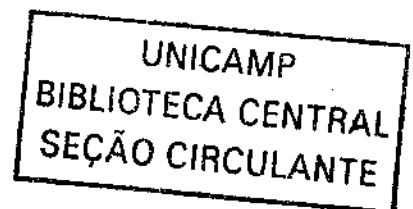
Campinas, 20 de dezembro de 2000.


Prof.Dr. CARLOS FRAZATTO JÚNIOR.

**FATORES PROGNÓSTICOS CLÍNICOS-CIRÚRGICOS
E HISTOLÓGICOS DE SOBREVIVÊNCIA EM
PACIENTES COM CARCINOMA NÃO-PEQUENAS
CÉLULAS DE PULMÃO**

CAMPINAS

2000



IVAN FELIZARDO CONTRERA TORO

**FATORES PROGNÓSTICOS CLÍNICOS-CIRÚRGICOS
E HISTOLÓGICOS DE SOBREVIDA EM
PACIENTES COM CARCINOMA NÃO-PEQUENAS
CÉLULAS DE PULMÃO**

*Tese de Doutorado apresentada à
Pós-Graduação da Faculdade de Ciências
Médicas da Universidade Estadual de
Campinas para obtenção do título de
Doutor em Cirurgia, área de Cirurgia.*

Orientador: Prof. Dr. Carlos Frazatto Jr.

Co-Orientador: Prof. Dr. Koradin Metze

CAMPINAS

2000

UNIDADE	80
Nº CHAMADA	T/UNICAMP T2377
V	EX
TOMBO BC/	59060
PROC.	124/03
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$14,00
DATA	22/05/03
Nº CPD	

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

BIB ID 290512

CM00183401-9

T634f

Toro, Ivan Felizardo Contrera

Fatores prognóstico clínicos-cirúrgicos e histológicos de sobrevida em pacientes com carcinoma não-pequenas células de pulmão / Ivan Felizardo Contrera Toro. Campinas, SP : [s.n.], 2000.

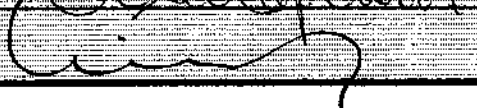
**Orientadores : Carlos Frazatto Júnior, Koradin Metze
Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.**

1. Neoplasias pulmonares. 2. Cancer - cirurgia. 3. Prognóstico. 4. Tumores. I. Carlos Frazatto Júnior. II. Koradin Metze. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE TESE DE DOUTORADO

ORIENTADOR: Prof. Dr. Carlos Crazatto Junior

MEMBROS:

1. Prof. Dr. Carlos Crazatto Junior. 
2. Prof. Dr. Luiz Carlos Lasso. 
3. Prof. Dr. Vicente Forte. 
4. Profa. Dra. Vera Lúcia Bayazzini. 
5. Prof. Dr. Lair Zamboni. 

Curso de Pós-Graduação em Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

DATA: 20/12/2000

DEDICATÓRIA

Seabra, Kalaf, Toninho, Marcelo, Eduardo, Ricardo (Bahiano), Gustavo e Alexandre, mais que residentes, foram sempre amigos, professores e companheiros nesta árdua, porem gratificante, tarefa que é a cirurgia torácica

Aos meus pais Diva e Fermin, o exemplo de bondade, carinho e apoio, que espero estar transmitindo aos meus filhos

Aos meus filhos Eduardo, Pedro e Mariana, que são as coisas mais especiais que Deus me presenteou, e que deram um sentido maravilhoso para a minha vida.

A Lucila Márcia, amiga e prima, presente sempre. (In memorian)

A Adyléia, ...

Eu te amo sem saber como

Nem quando, nem de onde

Te amo simplesmente, sem

Complicações nem orgulho

Assim te amo porque não

Conheço outra maneira

Tão profundamente,

que sua mão no meu peito é a minha

Tão profundamente,

que quando fecho os olhos,

contigo eu sonho.

Walt Whitman

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao Prof. Dr. Carlos Frazatto Jr., meu agradecimento especial , não só pela ajuda neste trabalho, como na formação e condução da Cirurgia Torácica na Unicamp e em Campinas, e por toda dedicação e carinho com que sempre tratou seus residentes, alunos e pacientes nestes 46 anos de profissão.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Koradin Metze, por toda inestimável ajuda recebida, sem a qual este trabalho não seria concluído. Minhas desculpas por ter ocupado vários períodos de descanso e de convívio com sua família.

Ao Professor José Vassalo, amigo desde a residência médica, pelo apoio, idéias e por disponibilizar o laboratório de imuno-histoquímica.

A todo o pessoal do laboratório de imuno-histoquímica, em especial a Sra. Mariza de Almeida Matsura, pelo seu cuidado e competência .

À Sra. Gisele C. Ferreira, do laboratório de patologia experimental, do núcleo de cirurgia experimental, da F.C.M. Unicamp, que em pleno período de exceção da universidade, muito cooperou na realização das lâminas de todos os pacientes.

À Prof. Dra. Denize E. Zantut Witman, que o destino colocou no local certo para dar a idéia deste trabalho.

Aos meus amigos Ricardo Kalaf Mussi e José Cláudio T. Seabra, por concederem-me a especial honra de sua amizade e a oportunidade de trabalharmos juntos todos estes anos.

Ao Dr. José Geraldo dos Santos pelo ensinamento constante da arte da tranquilidade e da cirurgia.

Aos meus amigos da Disciplina de Pneumologia pelo estímulo que esta relação traz a todos nós.

Ao Aristóteles e ao Maurício, pela disponibilidade em ajudar

À Nice, Margareth e Vera por toda a ajuda e carinho.

Aos amigos do Departamento de Cirurgia, em especial ao Prof. Dr. Reinaldo Vieira, Juvenal Ricardo Navarro Góes, Luís Roberto Lopes e Sra. Maria Akio, pelo estímulo para a conclusão deste trabalho.

Aos meus amigos pessoais, Ademar, Alice, Ana, Flávia, Ibrahim, Ivete, Jamil, Jose Maurício, Lucila, Nancy, Nestor, Pimentel, Roberto, Selma, ... pela paciência em me aturar.

Ao Lair Zambom e Eunice Hirata, administradores e amigos, meu agradecimento por entenderem minha necessidade de dedicar-me a esta tese e por toda experiência conjunta na administração do Hospital das Clínicas da Unicamp e do Hospital de Sumaré.

Aos meus amigos da administração do Hospital das Clínicas da Unicamp e do Hospital Conceição Imaculada de Sumaré, personificados na pessoa da Heloisa Helena, meus sinceros agradecimentos pela confiança e carinho.

Ao Alberto (Neto), por todo auxílio com a informática.

Aos meus filhos, Eduardo, Pedro e Mariana, que souberam entender o meu mau humor, participaram das angústias inerentes à tese, ajudaram no possível e sempre transmitiram muita alegria.

Finalmente, a Adyléia, que propiciou todo apoio e ajuda, revendo e relendo todo o meu trabalho, criticando quando necessário, elogiando e estimulando sempre, cuidando de nossos filhos: meu amor e gratidão.

	PÁG.
RESUMO.....	<i>xix</i>
1. INTRODUÇÃO.....	23
1.1. Neoplasia pulmonar.....	26
1.1.1. Epidemiologia e etiologia.....	26
1.1.2. Histologia.....	27
1.1.3. Estadiamento.....	29
1.2. Índice mitótico.....	30
1.3. Oncogenes.....	30
1.4. c-erbB-2.....	33
1.5. Ki-67.....	35
1.6. β -HCG.....	36
2. OBJETIVOS.....	39
3. PACIENTES E MÉTODOS.....	43
3.1. Critérios de inclusão.....	45
3.2. Critérios de exclusão.....	46
3.3. Caracterização dos pacientes.....	46
3.4. Material anátomo-patológico.....	47
3.5. Informática e estatística.....	48
4. RESULTADOS.....	49
4.1. caracterização da amostra.....	51

4.2. Dados específicos referentes à neoplasia.....	52
4.2.1. Diagnóstico histológico.....	52
4.2.2. Estadiamento.....	52
4.2.3. “Status” Físico (índice de Karnofsky).....	52
4.2.4. Tipo de cirurgia.....	53
4.2.5. Sobrevida.....	53
4.2.6. c-erB-2.....	54
4.2.7. Ki-67.....	54
4.2.8. β HCG.....	54
4.2.9. Mítoses.....	54
4.3. Relação entre os dados pesquisados.....	56
5. DISCUSSÃO.....	63
5.1. Sobre os resultados da casuística e a literatura.....	66
5.2. c-erB-2.....	71
5.3. Índice mitótico.....	73
5.4. Ki-67.....	74
5.5. β HCG.....	75
5.6. Análise multifatorial.....	77
6. CONCLUSÕES.....	79
7. SUMMARY.....	83
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	87
9. ANEXOS.....	111

LISTA DE ABREVIATURAS

α -HCG	Fração alfa da gonadotrofina coriônica humana
β -HCG	Fração beta da gonadotrofina coriônica humana
BSA	Albumina soro bovino
CEC	Carcinoma de Células Escamosas
c-erbB-2	Oncogene do cromossoma 17
CNPC	Carcinoma Não de Pequenas Células
CPC	Carcinoma de Pequenas Células
DAB	3,3 tetrahidrocloro de diamino-benzidina
DMSO	Dimethilsulfoxide
DNA	Ácido Desoxi-Nucléico
FCM	Faculdade de Ciências Médicas
G-1 e G-2	Fases da divisão celular
G1-G4	Grau de diferenciação do material histológico
GX	Grau de diferenciação não estabelecido
HCG	Gonadotrofina Coriônica Humana
Her-2/neu	Sinônimo de c-erbB-2
I-A a III-A	Estádios oncológicos
IM	Índice Mitótico
M	Fase da divisão celular aonde acontece a divisão dos cromossomos
M0-M1	Referente à presença ou ausência de metástases
N0-N3	Referente à classificação dos linfonodos do pulmão

OMS	Organização Mundial da Saúde
p185 ^{neu}	Proteína da oncogene c-erbB-2
PBS	Phosphate buffer saline
RNA	Ácido Ribo-Nucléico
RNA _m	Acido Ribo-Nucleico mensageiro
S	Fase da divisão celular aonde acontece a duplicação do DNA
T1- T4	Referente à classificação dos tumores de pulmão
Unicamp	Universidade Estadual de Campinas

LISTA DE FIGURAS

	PÁG.
Figura 1: Gráfico da distribuição do índice de Karnofsky.....	52
Figura 2: Curva de sobrevida global.....	53
Figura 3: Gráfico de índice de mitoses.....	55
Figura 4: Curva de sobrevida por tipo histológico.....	56
Figura 5: Curva de sobrevida por estadiamento.....	57
Figura 6: Curva de sobrevida por tipo de cirurgia.....	58
Figura 7: Paciente com adenocarcinoma, com imunohistoquímica para c-erbB-2 positiva (corado em marrom) em membrana citoplasmática.....	60
Figura 8: Paciente com adenocarcinoma, e imunohistoquímica para β -Hcg psitivo (corado em marrom) em citoplasma.....	60
Figura 9: Paciente com adenocarcinoma, e imunohistoquímica para ki-67 positivo (corado em marrom) em núcleo. Pequeno aumento.....	61
Figura 10: Paciente com adenocarcinoma,e imunohistoquímica para Ki-67 positivo (corado em marrom) em núcleo.Grande aumento.....	61

RESUMO

A neoplasia pulmonar é a maior causa de óbito por câncer no hemisfério ocidental. Apesar de toda a evolução na tecnologia diagnóstica e de tratamento, poucas mudanças ocorreram na evolução desta patologia. Os critérios prognósticos são insuficientes.

O aparecimento da biologia molecular e a descoberta dos oncogenes mostraram um novo caminho a percorrer.

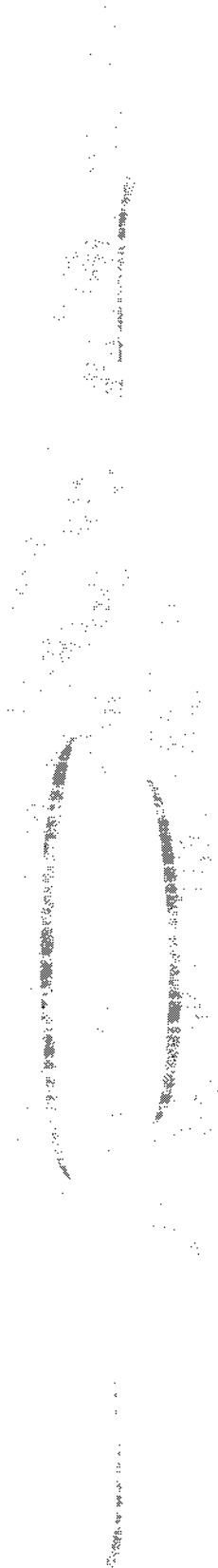
Analizamos neste trabalho as evoluções de 78 pacientes com carcinoma pulmonar não de pequenas células, em que o tratamento cirúrgico foi a primeira escolha e que estavam vivos depois do primeiro mês após a cirurgia. A idade, o índice de Karnofsky, os tipos histológicos, o tipo de cirurgia e o estadiamento histológico cirúrgico foram computados em função do tempo de sobrevida.

Nos blocos parafinados de anátomo-patológicos foram realizadas lâminas para imuno-histoquímica e pesquisados c-erbB-2, Ki-67, índice de mitose e β -HCG.

Encontrou-se mediana de sobrevida de 25,9 meses. 21,8% dos pacientes sobreviveram até cinco anos. Na análise dos pacientes, 71,8% estavam nos estádios avançados (II-B e III-A). A lobectomia foi o método cirúrgico mais realizado (46,2%), sendo a pneumonectomia utilizada em 33 pacientes (42,3%). Em relação ao tipo histológico, 59,0% eram carcinomas epidermóides, 34,6% eram adenocarcinomas, 5,1% eram carcinomas indiferenciados de grande células e um caso era de carcinoma misto.

As curvas de sobrevida de Kaplan-Meier mostraram significância somente com relação ao estadiamento e tipo histológico, não havendo influência do tipo de cirurgia, tratamento adjuvante (quimioterapia e radioterapia), do c-erbB-2, Ki-67, índice de mitose ou do β -HCG.

Quando foram analisados somente os carcinomas epidermóides, o índice de Karnofsky foi significativo estatisticamente.



1. INTRODUÇÃO

A neoplasia pulmonar é atualmente a maior causa de óbito por câncer no Brasil, tanto em homens como em mulheres, apesar de não ser a doença neoplásica mais freqüente. A maior incidência da neoplasia ocorre nos estados do sul e sudeste, com uma incidência da ordem de 36,5/100.000 habitantes em 1978 (DIAZ PLASENCIA *et al.*, 1998). Porto Alegre, com 60,7/100.000 no ano de 1992 é a cidade brasileira com o maior número relativo da doença (PROLLA; FLORES; DITTZ, 1986; WUNSCH, 1995).

No mundo, mais de 1.050.000 mortes anuais por câncer de pulmão são esperadas, sendo que 80% destes pacientes apresentam o tabagismo como possível fator etiológico (JETT; CORTESE; FONTANA, 1983; LAZCANO *et al.*, 1997). Em 1999, nos Estados Unidos, aproximadamente 177.000 novos casos (DOWNEY, 1999) foram diagnosticados, mas somente 25% destes casos foram submetidos a cirurgia, sem dúvida o tratamento mais eficaz, pois somente 12% dos pacientes não operados estarão vivos em cinco anos (DOWNEY, 1999; HENSCHKE *et al.*, 1999). Neste mesmo ano, nos Estados Unidos, estima-se que ocorreram 182.000 óbitos relacionados à doença. A neoplasia pulmonar também é a doença neoplásica que mais aumentou nas últimas décadas. Nos Estados Unidos este acréscimo foi de 184% em homens e 360% em mulheres no período entre 1950 e 1980 (PERERA *et al.*, 1991), possivelmente relacionado ao aumento linear do hábito tabágico (FRAUMENI, 1991; SMIYH & GLYNN, 2000). SMIYH & GLYNN (2000), descrevem uma pequena tendência de queda da incidência e mortalidade da neoplasia em homens, nos Estados Unidos da América.

A sobrevida dos pacientes se situa globalmente na faixa de menos de 20% em cinco anos, apesar de todo o avanço terapêutico, dos investimentos em pesquisa (menores que em outros tumores) e das tentativas de diagnóstico precoce (HARPOLE *et al.*, 1995; MUERS *et al.* 1996; MERRIL *et al.*, 1999).

Estes resultados insatisfatórios, tanto do ponto de vista do diagnóstico precoce (PEREIRA *et al.*, 1991) como do tratamento, acompanhamento, detecção de metástases e principalmente do prognóstico, devem-se a importantes lacunas que existem no conhecimento dos mecanismos de tumorigênese, carcinogênese e diferenciação histológica. Na tentativa de preencher estes espaços do conhecimento, a biologia molecular estuda os eventos para criar mais lógica e eficiência na condução do câncer.

Este trabalho tem por objetivo testar a relação entre um oncogene (c-erbB-2), dois marcadores de atividade de divisão celular (Ki-67 e índice mitótico) e receptores para β -HCG, com tumores de pulmão operados com intuito curativo, que não sejam carcinomas de pequenas células. Para efeito didático, dividiremos esta introdução em sub-itens: neoplasia de pulmão, índice mitótico, oncogenes, c-erbB-2, Ki-67 e β -HCG.

1.1. NEOPLASIA PULMONAR

Até a década de 30, a neoplasia de pulmão era considerada uma patologia rara (JETT *et al.*, 1997) e sua terapêutica limitava-se a medicamentos sintomáticos e radioterapia.

Em 1933, Evarts Graham realizou pela primeira vez a pneumonectomia em um paciente portador de neoplasia pulmonar, com bom resultado, ficando assim aberto o caminho do tratamento cirúrgico desta importante patologia (GUIMARÃES *et al.*, 1984).

No Brasil, em 1943, Areski Amorim realizou a primeira ressecção pulmonar por neoplasia (lobectomia superior esquerda), porém o diagnóstico histológico foi de rabdomiossarcoma, possivelmente uma metástase (GUIMARÃES *et al.*, 1984).

1.1.1. Epidemiologia e Etiologia

A epidemiologia da neoplasia pulmonar, confunde-se com a do hábito tabágico, sem dúvida um fator etiológico importante, presente em 85 a 90% dos pacientes (ZAMBON, 1994; SCHOTTENFELD, 2000).

No Brasil não existem estatísticas seguras, sendo os dados possivelmente subestimados. Registros de mortalidade de 1986 mostravam índice de mortalidade de 6,27/100.000 habitantes por neoplasia pulmonar (PERERA *et al.*, 1991; ZAMBON, 1994) contra 114/100.000 habitantes na Escócia, 59,3/100.000 habitantes no Uruguai e 26/100.000 habitantes no Chile (ZAMBON, 1994).

A neoplasia pulmonar é o câncer que ocasiona maior número de óbitos em homens e a incidência tem aumentado muito em mulheres, diretamente proporcional ao aumento do tabagismo entre o sexo feminino.

Nos Estados Unidos, em 1950, somente 3% das mortes por câncer em mulheres eram decorrentes da neoplasia pulmonar; em 1995 este índice foi de 25%. Estudos controlados demonstram que as mulheres têm um risco relativo maior do que os homens de desenvolver o câncer brônquico, possivelmente devido a fatores hormonais (GUINEE *et al.*, 1995).

O risco relativo aumentado do desenvolvimento da neoplasia pulmonar nos fumantes foi estabelecido cabalmente nas décadas de 50 e 60, com o trabalho de DOLL *et al.*, (1958). Hoje se sabe que a fumaça do cigarro contém ao redor de 3.000 substâncias químicas e pelo menos 40 agentes cancerígenos (MULSHINE, 1999; SCHOTTENFELD, 2000) e que o paciente não tabagista tem um risco 18,8 vezes menor de morrer de câncer do que um fumante de dois maços ao dia.

Metade de todas as neoplasias pulmonares ocorrem em pacientes entre 60 e 70 anos (JAKLITSCH *et al.*, 1999).

Em relação a fatores étnicos, o risco relativo do homem da raça negra morrer da neoplasia, nos Estados Unidos, é maior do que o do homem da raça branca, porém esta diferença tem diminuído com o passar das décadas. Estudo realizado por BACH *et al.*, 1999, estudando esta variável, concluiu que um dos fatores de maior mortalidade seria a dificuldade de acesso ao serviço de saúde e a menor indicação de cirurgia nos pacientes negros.

1.1.2. Histologia

O diagnóstico histológico, de vital importância para a definição do tratamento adequado e influência decisiva no prognóstico (MERRIL *et al.*, 1999), é baseado inicialmente na microscopia de luz tradicional, porém muitas informações importantes podem ser obtidas com a imuno-histoquímica e a microscopia eletrônica.

A classificação mais aceita e utilizada nos serviços mais importantes é a da Organização Mundial de Saúde, revisada em 1999 (TRAVIS, LINDER, MACKAY, 2000), que divide a maioria das neoplasias primárias pulmonares em quatro tipos: carcinoma de células escamosas (epidermóide), adenocarcinoma, carcinoma de grandes células e carcinoma de pequenas células. Estes quatro tumores são divididos em subgrupos, que não serão discutidos neste trabalho (TRAVIS *et al.*, 2000).

Os tumores podem também receber uma classificação quanto à sua diferenciação histológica. Assim, os tumores G1 seriam aqueles bem diferenciados, G2 os moderadamente diferenciados, os G3 seriam os pouco diferenciados e G4 os totalmente indiferenciados. As neoplasias GX são aquelas em que o grau de diferenciação não foi estabelecido.

Para efeito de tratamento e prognóstico, a grande maioria dos autores da literatura mundial divide os tumores broncogênicos em tumores indiferenciados de pequenas células (CPC) e tumores não de pequenas células (CNPC), nos quais estariam incluídos as neoplasias epidermóides, adenocarcinoma e indiferenciado de grandes células (GAIL *et al.*, 1984; CARNEY, 1989; LINNOILA, 1990; NOGUCHI *et al.*, 1995; PEARSON, 1999).

Esta divisão é baseada em extensivos estudos de que os dois grupos acima teriam células iniciais de origem diversa. O CPC seria originado de células recrutadas com diferenciação neuroendócrinas e os CNPC seriam derivados de células com fenótipo epitelial (BERGH, 1990).

Sem deixar de lembrar os outros tumores que ocorrem no pulmão, como sarcomas, linfomas e outros, os carcinomas de pequenas células e não pequenas células respondem por mais de 98% das neoplasias malignas primárias do pulmão (ADEBONOJO *et al.*, 1999; TRAVIS *et al.*, 2000).

1.1.3. Estadiamento

Em 1946, Denoix introduziu um sistema para a padronização da descrição do momento da doença, chamada de estágio, que utilizava o tamanho e a extensão do tumor (T), a extensão do envolvimento locoregional dos linfonodos (N) e a presença ou ausência de metástase à distância (M). Buscando uma padronização na comparação de resultados, tratamentos e prognóstico, utiliza-se critério de estadiamento padronizado pela OMS, que a partir do trabalho de especialistas, classificou o momento temporal da doença em estádios e sub-estádios, estabelecendo como critério as características do tumor inicial, do acometimento dos linfonodos e da presença de metástases (NARUKE *et al.*, 1997). Este estadiamento tem sido aperfeiçoado, procurando dividir os pacientes em grupos homogêneos (LEONG *et al.*, 1999).

Os trabalhos da comissão que estudou o novo estadiamento em 1997 (Anexo 2) presidida pelo Dr. Clifton Mountain, revisando os prontuários de 5319 pacientes (LEONG *et al.*, 1999), estabeleceu mudanças no estadiamento anterior (MOUNTAIN, 1997), principalmente no que se refere aos estádios iniciais. Estas mudanças visaram adequar diferenças no prognóstico entre os pacientes com tumores de diferentes tamanhos, com invasão ou não da pleura e brônquio. Considerou-se também que os tumores tipo T3, que invadem a parede, desde que não houvesse extensão linfática, teriam prognósticos semelhantes a tumores tipo T2 com invasão linfática inicial (MOUNTAIN, 1997).

Apesar dos esforços despendidos, quando analisamos pacientes individualmente ou em pequenos grupos, notamos que pacientes de um mesmo estágio têm uma evolução da doença que não pode ser explicada somente pelo estadiamento, que se baseia em dados de macroscopia, microscopia e imagem. Apesar de o melhor indicador prognóstico existente (AL-KATTAN *et al.*, 1996; MERRILL, HENSON, BARNES, 1999), o estadiamento não é suficiente para nos satisfazer do ponto de vista oncológico, cirúrgico ou clínico. Existem outros fatores, entre eles os oncogenes, índices de multiplicações celulares, hormônios, que podem ser os responsáveis por esta diferença.

1.2. ÍNDICE MITÓTICO

A contagem do número de núcleos que apresentam metáfase em relação ao número total de células, com microscopia ótica comum, é a mais antiga e comum medida de alteração tecidual, porém é sempre muito criticada por sua relativa subjetividade (DIEST *et al.*, 1992; GOING, 1993; O'LEARY & STEFFES, 1996).

O índice mitótico, ou simplesmente o número de mitose, é utilizado no diagnóstico de neoplasias de útero e de alguns tipos de câncer gástrico (SILVERBERG, 1976; O'LEARY & STEFFES, 1996).

Em relação ao prognóstico, o índice mitótico tem sido utilizado em vários tumores sólidos, principalmente de ovário, mama, e tiróide (DONHUISEN, 1986; DONHUISEN *et al.*, 1990; SIMPSON, DUTT, PAGE, 1992).

A quantificação e interpretação do resultado são controversas. APPELMAN & HELWEIG (1976) sugeriram que tumores com até cinco mitoses seriam benignos e acima de 30, malignos. Entretanto, existem problemas. A faixa entre cinco e 30 é de difícil interpretação e o número de mitoses pode variar entre os diversos tipos de tumores dos diferentes órgãos (HAAPASALO *et al.*, 1989; GOING, 1993; O'LEARY & STEFFES, 1996).

Métodos mais sofisticados (como por exemplo a citometria de fluxo, citometria computadorizada) foram utilizados para tentar estabelecer uma relação mais clara entre a duplicação celular e prognóstico, porém os resultados foram discordantes e os métodos mostraram-se caros e difíceis (PUJOL *et al.*, 1996; LEERS *et al.*, 1997).

1.3. ONCOGENES

Em 1914, Theodor Boveri, um citologista clássico, estudando organismos marinhos, publicou um livro em que relacionava a existência de distúrbios em cromossomos com o desenvolvimento de anormalidades celulares. Ele sugeriu que certos elementos das células poderiam ser modificados, resultando em defeitos no controle da

proliferação celular normal, por influência do meio ambiente durante o desenvolvimento. Com base nestes achados, Boveri sugeriu uma base cromossômica para a alteração hereditária das neoplasias. Muitas das hipóteses de Boveri foram provadas como verdades, como por exemplo oncogenes, genes supressores, origem monoclonal, influência de substâncias carcinogênicas, envelhecimento e proliferação celular no processo neoplásico (BARRET, 1991).

Na década de 70, demonstrou-se o papel da mutagênese na formação do tecido tumoral (a carcinogênese), iniciando a grande revolução no entendimento das neoplasias que tem sido o estudo subcelular ou biologia molecular (WEINBERG, 1991). Carcinogênese é um processo com múltiplos estágios que envolvem fatores genéticos e epigenéticos (HARRIS *et al.*, 1991; SHIELDS & HARRIS, 2000).

O reconhecimento de que os animais vertebrados superiores contêm um número finito de genes, e que a desregularização entre eles pode ser o fator do início da tumoregênese, revolucionou e reordenaram as estratégias de pesquisa para o diagnóstico, detecção precoce e tratamento das neoplasias.

A evidência de uma base genética para o câncer humano está cada vez mais palpável, por meio de muitos estudos epidemiológicos (HARRIS *et al.*, 1991; PERERA *et al.*, 1991) e de mutagênese experimental, o que fez emergir os conceitos de genes mutantes (KAYE *et al.*, 1990). Na década de 70, passou a ser freqüente o estudo dos genes que teriam relação com o desenvolvimento da neoplasia, que receberam o nome de oncogenes. Grandes avanços foram realizados na identificação destes genes nos cromossomos de pacientes, animais e vegetais e nos fatores que fariam estas pequenas estruturas do cromossomo desencadear o crescimento anômalo do tecido canceroso (HALL, 1991).

Em algumas doenças estes oncogenes foram exaustivamente estudados, como em alguns tipos de leucemias, neuroblastomas, tumores de cólon, etc., com resultados nos aspectos de identificação, prognóstico, resposta terapêutica e identificação de fatores desencadeantes (CHANG & McGEE, 1987; SZABO; BIRRER; MULSHINE, 1993; SMYTH, 1996; CALDAS & PONDER, 1997).

No tumor maligno de pulmão este avanço foi menor, porém não menos importante, principalmente no tumor neuro-endócrino de pequenas células (CARNEY, 1991).

Nos tumores da linhagem epidermóide, adenocarcinoma e indiferenciado de grandes células, este avanço foi significativamente menor (BIRRER & MINNA, 1983; SMYTH *et al.*, 1996).

As neoplasias são normalmente reconhecidas pela característica de as células tumorais não mais responderem aos mecanismos de controle de crescimento normal. Existem muitos fatores envolvidos e a célula poderá estar respondendo a alguns deles, porém não a outros (MULLIGAN-KEHOE & RUSSO, 2000).

Oncogene é definido como um gene capaz de causar câncer. Este conceito, todavia, é extremamente simplificado, visto que a gênese da doença é um processo multifatorial e com múltiplas etapas.

Os genes chamados de proto-oncogenes são genes presentes normalmente nos cromossomos, necessários para uma série de funções fisiológicas, como crescimento normal e regeneração tecidual. Entretanto, sob algumas circunstâncias como estímulo químico, físico, viral ou herança genética, os proto-oncogenes podem ser alterados em localização, composição de bases, quantidade ou função, transformando-se no oncogene e, a partir deste ponto, agindo de maneira autônoma e não mais obedecendo ao controle do crescimento celular, induzindo à transformação maligna da célula (CLINE & BATTIFORA, 1987).

O oncogene ativado, mesmo que somente um alelo cromossômico alterado, é suficiente para iniciar a transformação celular.

Os genes capazes de ter uma ação inibitória no crescimento celular são chamados de genes supressores (HARRIS *et al.*, 1991). No retinoblastoma, por exemplo, existe uma perda da função destes genes supressores, iniciando assim o descontrole do crescimento tecidual. São necessárias as perdas dos dois alelos para a formação do tumor, o que acaba sendo um fator maior de proteção. Por estas razões são chamados de genes

recessivos, ao contrário do proto-oncogene que é chamado de dominante, pela sua capacidade de agir com alteração de somente um cromossomo (HARRIS *et al.*, 1991). Nos últimos anos, as alterações do genoma, sejam elas de fundo genético ou distúrbios adquiridos, têm sido cada vez mais responsabilizadas pela oncogênese humana (SZABO & SHAW, 1997). Em neoplasias malignas das vias aéreas, observa-se a associação de proto-oncogenes, oncogenes, genes supressores, assim como fatores de crescimento celular, associados a fumo e agentes virais (CHANG & McGEE, 1987; HARRIS *et al.*, 1991; ANDERSON & SPANDIDOS, 1993).

Os oncogenes supressores codificam proteínas com funções de controle e supressão do crescimento celular (MÄKELÄ, MATTSON, ALITALO, 1991). Alterações em seu conteúdo podem comprometer a função supressora, permitindo o crescimento desordenado de grupos celulares e dando início ao processo neoplásico (BIRRER & MINNA, 1988; MINNA *et al.*, 1991).

A proliferação celular, portanto, depende da inter-relação entre diversos genes, sejam supressores ou oncogenes, além de fatores de crescimento celular, e o equilíbrio entre estes fatores será o responsável pela estabilidade tecidual. Aceita-se que a expressão maior ou menor dos diversos tipos de mecanismos pode conferir valor prognóstico para a evolução da doença (BIRRER & MINNA, 1988; CARNEY, 1991).

É de interesse verificar se a análise simultânea da expressão de diversos fatores envolvidos de forma complementar na origem dos tumores, sensibiliza a capacidade de prevermos o prognóstico e a evolução da neoplasia pulmonar (SMIT *et al.*, 1996).

1.4. c-erbB-2

A expressão aumentada do oncogene c-erbB-2 tem sido demonstrada por vários autores como um fator prognóstico negativo (KERN *et al.*, 1994; KERR *et al.*, 1994; HARPOLE *et al.*, 1995), principalmente nos adenocarcinomas (NEMUNAITIS *et al.*, 1998), mas também presente em todos os outros tipos de neoplasias pulmonares. Esta alteração gênica está presente em 30% dos pacientes com câncer de pulmão (CLINE & BATTIFORA, 1987; KERN *et al.*, 1994).

Este proto-oncogene, também chamado de HER-2/neu, tem sido mapeado e sequenciado no locus cromossômial 17q21 (SCHNEIDER *et al.*, 1989; YU *et al.*, 1994).

A proteína produzida por este oncogene é uma proteína de membrana com 185.000 de peso molecular, chamada de p185^{neu}, com atividade tirosina-kinase e semelhante ao receptor para o fator de crescimento epitelial (YU *et al.*, 1994; MUERS, SHEVLIN, BROWN, 1996).

A amplificação do c-erbB-2 tem sido mostrada e correlacionada com a sobrevida em uma grande variedade de doenças neoplásicas, entre elas tumores de glândulas salivares, mama, ovário e pulmão (SHIRAISHI *et al.*, 1989; SCHNEIDER *et al.*, 1989; KERN *et al.*, 1990; YOSHINO *et al.*, 1994; YU *et al.*, 1994). Elevados níveis de p185^{neu} foram relacionados à diminuição do tempo de sobrevida, presença de linfonodos acometidos, desarranjo do núcleo celular, ao aparecimento de metástases à distância e resistência a drogas quimioterápicas (KERN *et al.*, 1990; KERN *et al.*, 1994; YU *et al.*, 1994).

Trabalhos de pesquisa com linhagens celulares *in vitro*, realizados com células de adenocarcinomas, mostraram que nas linhagens celulares em que havia quantidades maiores de p185^{neu}, a inoculação destas células em ratos foi capaz de desenvolver maior número de metástase à distância quando comparado as células com concentração baixa de p185^{neu} (YOSHINO *et al.*, 1994).

Para ocorrer a metástase é necessário um processo complexo de passos. A teoria existente é que quatro destes passos seriam os mais importantes: a) perda do contato com as células tumorais vizinhas; b) adesão da célula tumoral no epitélio celular; c) secreção pela célula tumoral de enzimas proteolíticas que degradam localmente a parede do vaso; d) migração da célula tumoral para o local onde houve a destruição do epitélio. A proteína produzida pelo oncogene c-erbB-2 aumentaria a adesão da célula tumoral no endotélio vascular, amplificando assim a destruição do mesmo, que pode ser demonstrado *in vitro* com dosagens de gelatinase IV, um produto da degradação do endotélio (YU *et al.*, 1994).

A formação de metástases também requer células tumorais com aptidão para crescer em um meio ambiente menos favorável. A p185^{neu} aumentaria o potencial de adaptação a este novo meio para a célula (YU *et al.*, 1994).

Estudos com proteínas produzidas pelo oncogene c-erbB-2 parecem ser o caminho de algumas pesquisas para uma vacina anti-tumoral ou sensibilização para subsequente imunoterapia, para a identificação de pacientes com potencial de gravidade maior, principalmente quando relacionado ao aparecimento de metástases à distância (YOSHINO *et al.*, 1994; YU *et al.*, 1994) e para o diagnóstico precoce em pacientes de risco, com a identificação da p185^{neu} no sangue (BRANDT-RAUF *et al.*, 1994).

Na literatura não existe ainda a delimitação conclusiva do papel deste importante oncogene no prognóstico da neoplasia pulmonar.

1.5. Ki-67

Ki-67 é uma proteína do núcleo presente em toda célula que está em processo de duplicação, porém ausente nas outras células. Este fato faz este marcador ser muito usado em tumores para estimar a fração de crescimento que existe na população celular (VIBERTI *et al.*, 1997). Desta maneira, o Ki-67 é importante na avaliação do prognóstico da evolução clínica (SITTEL *et al.*, 1999; STEM *et al.*, 2000) e resposta ao tratamento, principalmente à quimioterapia (VIBERTI *et al.*, 1997, MANGILI *et al.*, 1998; SITTEL *et al.*, 1999).

A expressão da proteína Ki-67 no homem está associada com a proliferação celular (DICTOR *et al.*, 1999). Durante a interfase celular, o antígeno pode ser detectado exclusivamente dentro do núcleo; entretanto, na mitose, a maioria da proteína é encontrada na superfície dos cromossomos. Portanto, o Ki-67 está presente durante todas as fases ativas do ciclo celular (G1, S, G2 e mitose), mas ausente na fase G0, possibilitando ser um excelente marcador para o crescimento celular de uma população de células neoplásicas (MEHDI *et al.*, 1998).

O uso deste marcador não se limita ao controle da resposta terapêutica ou prognóstico. Existem estudos que mostram a possibilidade de uso deste marcador de proliferação celular no diagnóstico precoce de tumores, principalmente nas neoplasias de mama e próstata (MEHDI *et al.*, 1998). Porém, a literatura apresenta controvérsias (DAVIDSON *et al.*, 2000).

Por outro lado, achamos na literatura poucos trabalhos conclusivos sobre o papel desta proteína na neoplasia pulmonar. DEMARCHI *et al.* (2000) mostraram significância dos níveis de Ki-67 e prognóstico em adenocarcinoma de pulmão. ISHIDA *et al.* (1998) estudando 114 adenocarcinomas e pesquisando o Ki-67 pelo método imuno-histoquímico, encontraram significância estatística entre o marcador e pior prognóstico. MEHDI *et al.* (1998) encontraram resultados diferentes em significância entre os diversos tipos histológicos, com maior correlação entre os tumores epidermóides do que entre os adenocarcinomas. Estes mesmos autores referem que o Ki-67 poderia estar relacionado ao tempo livre de doença, necessitando porém estudos mais extensos (MEHDI *et al.*, 1998). Por outro lado, PUJOL *et al.* (1996) não encontraram em seus estudos resultados significantes estatisticamente para relacionar o Ki-67 e o prognóstico de tumores pulmonares operados, somente encontraram ligação entre anormalidades do conteúdo do DNA e Ki-67.

Vamos estudar, neste trabalho, o papel do Ki-67 em nossos pacientes com neoplasia de pulmão.

1.6. β -HCG

A presença de gonadotrofina em um tumor humano não germinativo foi primeiramente descrito por Reeves em um hepatoma (WILSON *et al.*, 1981).

O hormônio gonadotrofina coriônica humana (HCG) é uma glicoproteína composta por duas subunidades α e β (JAMESON & HOLLENBER, 1993). Este hormônio é normalmente produzido pelo tecido trofoblástico de mulheres grávidas e excretado normalmente pelo fígado e rim. A produção de HCG é regulada pela síntese de α e β

proteínas codificada em diferentes genes. A proteína (β -HCG), que será objeto deste estudo, é codificada por múltiplos genes, localizados no cromossomo 19 (JAMESON & HOLLENBER, 1993; YOKOTANI *et al.*, 1997). Existe a sugestão de que a expressão dos genes para β -HCG está presente normalmente no tecido pulmonar, porém permanece desativado após a idade fetal (WALOP *et al.*, 1990; YOKOTANI *et al.*, 1997). A presença de alterações celulares, como a neoplasia, possibilitaria a ativação por transcrição aumentada dos receptores de β -HCG. Outra hipótese seria que as células neoplásicas estariam mais parecidas com células fetais ou primitivas, escapando assim dos mecanismos de controle genético (WALOP *et al.*, 1990).

Ao contrário do gene para o β -HCG, que normalmente só é encontrado no tecido neoplásico, a fração α e seu gene foram apenas encontrados em tecido normal (YOKOTANI *et al.*, 1997).

Índices anormais do HCG ou da fração β (β -HCG) já foram localizados em vários tumores trofoblásticos e não-trofoblásticos (WILSON *et al.*, 1981; YOSHIMURA *et al.*, 1994; YOKOTANI *et al.*, 1997), assim como nos grandes fumantes (WALOP *et al.*, 1990).

Estudos com linhagens celulares de neoplasias brônquicas mostraram a síntese *in vitro* do β -HCG (WILSON *et al.*, 1981).

A presença de um marcador tumoral como o β -HCG pode ter utilidade para o diagnóstico precoce, seguimento, prognóstico e até para o estabelecimento de terapêutica mais específica (BRODER, WEINTRAUB, ROSEN, 1978; WILSON *et al.*, 1983; WALOP *et al.*, 1990), bem como a produção de vacinas (TRIOZZI & STEVENS, 1999).

Na literatura existente há controvérsia sobre a presença deste hormônio na neoplasia pulmonar (YOSHIMURA *et al.*, 1994; YOKOTANI *et al.*, 1997; WALOP *et al.*, 1990; SLODKOWSKA *et al.*, 1998). Entretanto, YOSHIMURA *et al.* (1994) encontraram positividade tanto nos carcinomas epidermóides como nos adenocarcinomas. WALOP *et al.* (1990) relataram somente 4% de positividade, e concluíram ser um marcador ruim. SNYDER, PICKENS, KUKORA, (1998) estudaram duas pacientes com carcinoma

brônquico e ginecomastia, com teste para gravidez positivo decorrente da produção hormonal anormal pela neoplasia. YOSHIMOTO *et al.* (1987) descreveram um paciente em que a presença do β -HCG estava alta no linfonodo à época do diagnóstico e que na necropsia os níveis estavam ainda maiores, mostrando relação entre o nível e a progressão da doença. WILSON *et al.* (1981) sugeriram que muitos, talvez todos os carcinomas de pulmão, contenham β -HCG, porém só demonstrável por radioimunoensaio.

Há duas hipóteses para explicar esta disparidade. A maioria dos tumores produz HCG, mas não podem secretar para fora da célula. Os métodos utilizados até então só dosariam o hormônio circulante. Estudos *in vitro* conseguiram, com o uso de teofilina, a secreção do β -HCG para o extra-celular (WILSON *et al.*, 1981). A segunda explicação seria que o β -HCG produzido pela célula tumoral seria um β -HCG desglicosilado, o que resultaria em uma meia-vida de 1% do β -HCG glicosilado, dificultando a identificação (WILSON *et al.*, 1981).

Existem relatos de que a presença da proteína β -HCG seria um fator de mau prognóstico em carcinomas pulmonares (YOSHIMOTO *et al.*, 1987; YOSHIMURA *et al.*, 1994; SZTURMOWICZ *et al.*, 1995; YOKOTANI *et al.*, 1997) como em outras neoplasias como melanomas, câncer gástrico, hepatomas (YOSHIMOTO *et al.*, 1987; WEBB *et al.*, 1995; SNYDER *et al.*, 1998).

Estudaremos neste trabalho a presença do β -HCG no citoplasma das células neoplásicas e a relação entre esse achado e o prognóstico dos pacientes da pesquisa, com a pretensão de tentar entender o papel deste marcador nos nossos pacientes.

2. OBJETIVOS

Serão objetivos deste estudo:

1) Analisar a média de sobrevida dos pacientes operados de neoplasia pulmonar nos estádios até III-A, assim como os percentuais de sobrevida.

2) Estudar isoladamente a influência na sobrevida do tipo histológico, tipo de cirurgia realizada, presença das proteínas c-erbB-2, Ki-67, do beta-HCG e do número de mitoses nos pacientes operados de neoplasia de pulmão.

3) Estudar, por análise multifatorial, a inter-relação entre tipo histológico, estadiamento, tipo de cirurgia realizada, presença da proteína c-erbB-2, Ki-67, número de mitoses e beta-HCG em comparação com a sobrevida dos pacientes operados de neoplasia de pulmão.

3. PACIENTES E MÉTODOS

Foram analisados, após aprovação do projeto pelo comitê de ética em pesquisa da FCM-UNICAMP, todos os pacientes operados por neoplasia pulmonar no serviço de Cirurgia Torácica do Hospital de Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, no período de 1989 a 1996, cujo diagnóstico anátomo-patológico mostrasse ser carcinoma não de pequenas células e o estágio estivesse entre I-A e III-A, baseado na classificação de 1997 da Organização Mundial de Saúde (MOUNTAIN, 1997).

Todos os pacientes tiveram seus dados levantados de anotações dos prontuários do Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas, das fichas de seguimento da Onco-Pneumologia da Disciplina de Pneumologia da FCM/UNICAMP e das anotações do livro de cirurgia da Disciplina de Cirurgia Torácica da FCM/UNICAMP.

Todos os pacientes em que não havia seguimento por mais de seis meses foram chamados pelo serviço social ou pessoalmente pelo autor por telefone. Este método foi utilizado para 11 pacientes, porém somente em quatro oportunidades foram localizados familiares.

Os dados de tempo de sobrevida e evolução foram coletados com referência a 31 de dezembro de 1999, para efeito de contagem de tempo (ponto final da pesquisa).

3.1. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram incluídos todos os pacientes operados por neoplasia pulmonar do tipo histológico carcinoma não de pequenas células (carcinoma epidermóide, carcinoma indiferenciado de grande células, adenocarcinoma) no período acima, que apresentavam estágio cirúrgico e resultado do exame anátomo-patológico até III-A, que tiveram cirurgia considerada radical do ponto de vista de margens e que não faleceram nos primeiros 30 dias após a cirurgia.

3.2. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídos todos os pacientes falecidos nos primeiros 30 dias ou que apresentaram metástases neste período.

Os pacientes onde não houve possibilidade de serem recuperadas as informações clínicas por meio do prontuário ou ficha de controle do Serviço de Onco-Pneumologia do Hospital de Clínicas da UNICAMP tiveram seus nomes retirados da pesquisa.

Não fizeram parte da pesquisa os pacientes em que não foi possível localizar os blocos parafinados da neoplasia pulmonar, ou naqueles casos que os blocos não estavam satisfatórios por deficiência na fixação do tecido, após análise de cortes corados por hematoxilina-eusina por docente do Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP.

3.3. CARACTERIZAÇÃO DOS PACIENTES

Os pacientes restantes foram analisados quanto a:

- sexo
- idade
- hábito tabágico
- avaliação de “status” físico (índice de Karnofsky)
- tipo histológico do tumor
- cirurgia realizada
- estadiamento
- tempo de sobrevida
- óbito

A idade foi considerada em anos; o hábito tabágico em positivo e negativo; a avaliação da condição física foi classificada de 0 a 100, pela escala proposta por Karnofsky (Anexo 2), usando o pré-operatório como ponto de medição.

As cirurgias sofreram a divisão em lobectomias, bi-lobectomias e pneumonectomias. Pacientes com segmentectomias não estiveram incluídos neste trabalho.

Para estadiamento utilizou-se os critérios do American Joint Committee on Cancer e da International Union Against Cancer (MOUNTAIN, 1997) e considerado o resultado anátomo-patológico da cirurgia.

O tempo de sobrevida foi contado em meses e para efeito de algumas análises foi agrupado em períodos de 12 meses (ano).

3.4. MATERIAL ANÁTOMO-PATOLÓGICO

Os blocos parafinados e as lâminas histológicas correspondentes aos pacientes selecionados, realizadas com as peças anátomo-patológicas retiradas durante as cirurgias, encontravam-se arquivadas no Serviço de Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP. Após separadas, analisou-se todas as lâminas para estabelecer a escolha das amostras mais representativas da neoplasia pulmonar.

Dos blocos selecionados, confeccionou-se nove lâminas histológicas de cada bloco, para posterior análise por hematoxilina-eusina e para as reações imuno-histoquímicas.

Todos os pacientes tiveram seu laudo histológico confirmado por um docente do Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP.

Foram analisadas as lâminas coradas pelo método imuno-histoquímico (técnica no Anexo 3) para a presença de proteínas do oncogene c-erbB-2, do fator de duplicação do núcleo K-67 e pesquisados também receptores celulares para β -HCG. Cada reação imuno-histoquímica foi realizada em uma lâmina separada.

Nas lâminas coradas com c-erbB-2, além da análise da oncoproteína, contou-seas células com mitose em relação ao número total de células do campo pesquisadas. Analisou-se no mínimo três campos, sendo realizada média entre os campos. Havendo discordância, foram revisadas pelos observadores para homogeneização do resultado.

As lâminas para identificação do c-erbB-2 foram vistas por dois observadores e realizada quantificação das positivas ou negativas em relação à presença do anticorpo primário anti-c-erbB-2 (que confere cor marrom claro à parede celular do tecido neoplásico) sobre o número total de células do campo pesquisadas. Foram analisados no mínimo três campos, sendo realizada média entre os campos. Havendo discordância, revisou-se as lâminas pelos observadores para homogeneização do resultado.

As lâminas para identificação do Ki-67 e β -HCG foram vistas por dois observadores e quantificadas (presença dos anticorpos primário anti-Ki-67 e anti- β -HCG) em relação ao número total de células do campo pesquisadas. Analisou-se no mínimo três campos, sendo realizada média entre os campos. Havendo discordância, revisaram-se o material pelos observadores, para homogeneização do resultado.

3.5. INFORMÁTICA E ESTATÍSTICA

Os programas utilizados para banco de dados e textos foi o Excel 97 e Word 97 para Windows/Microsoft.

Para os cálculos estatísticos, analisou-se os resultados com auxílio do SSPS for Windows, 7.5.1 e do Winstat para Windows/Microsoft.

Utilizou-se os testes U de Mann-Whitney, de regressão de Cox e a curva de sobrevida atuarial foi calculada através do método de Kaplan-Meier (LEVINE *et al.*, 1991).

As curvas de sobrevida sofreram comparação pelo teste de Cox-Mantel.

As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100

4. RESULTADOS

Inicialmente foram separados os arquivos de 124 pacientes consecutivos tratados com cirurgia para neoplasia de pulmão, que constavam no arquivo da cirurgia com estágio até III-A, entre os anos de 1989 e 1996, que não haviam sido submetidos a nenhum tratamento neoadjuvante.

Depois de aplicados os critérios de exclusão, ficaram válidos, para efeito desta pesquisa, 78 pacientes (62,9%).

Os critérios para exclusão foram: falta de dados para seguimento ou não comparecimento (13,6%); ausência dos blocos parafinados ou blocos sem condições técnicas para imuno-histoquímica (11,1%); mudança de estágio durante a revisão de prontuário (6,2%); óbito nos primeiros 30 dias de pós-operatório (6,4 %).

Os dados dos 78 pacientes pesquisados foram separados quanto a: caracterização dos pacientes (dados gerais) e dados referentes a doenças neoplásicas (dados específicos).

4.1. CARACTERIZAÇÃO DOS PACIENTES

Analisando os 78 pacientes, foram encontrados 64 homens (82,1%) e 14 mulheres (17,9%), sendo 69 brancos e nove não brancos. Não foi referido nenhum paciente de origem asiática.

A idade dos pacientes variou entre 39 e 73 anos, com média de 59,19 e mediana de 60,0 anos.

O tabagismo estava presente em 76,9% dos pacientes (60 pacientes), havia 10,2% de não fumantes (oito pacientes) e em 12,8% não havia informação no prontuário (10 pacientes).

4.2. DADOS ESPECÍFICOS REFERENTES À NEOPLASIA

4.2.1. Diagnóstico Histológico

O carcinoma epidermóide estava presente em 46 pacientes (59,0%); adenocarcinoma em 27 pacientes (34,6%); quatro pacientes tinham carcinoma indiferenciado de grandes células (5,1%) e um paciente apresentava carcinoma adenoescamoso (1,3%).

4.2.2. Estadiamento

Quanto ao estadiamento, três pacientes estavam no estágio I-A (3,8%), 16 estavam no estágio I-B (20,5%), três foram classificados no estágio II-A (3,8%), 28 no estágio II-B (35,9%) e também 28 pacientes estavam no estágio III-A (35,9%).

4.2.3. “Status” Físico (índice de Karnofsky)

Todos os pacientes estavam com o índice de Karnofsky entre 60 e 100, com média de 85,19, com 72 pacientes com 80 ou mais de índice.

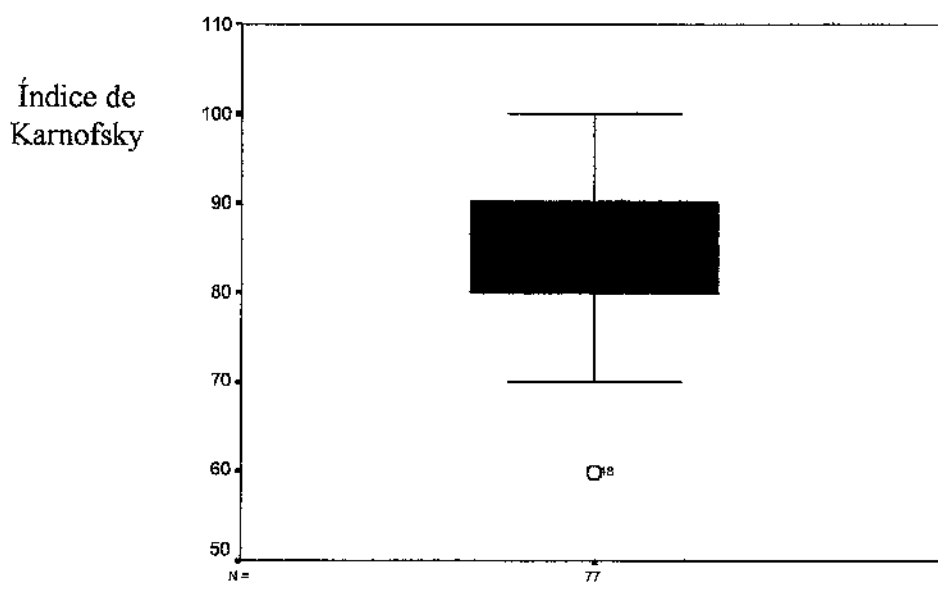


Figura 1: Gráfico da distribuição do índice de Karnofsky

4.2.4. Tipo de Cirurgia

Em relação ao tipo de cirurgia, 46,2% dos pacientes (36 pacientes) foram submetidos a lobectomia; 11,5% foram tratados com bi-lobectomia (nove pacientes) e 33 pacientes foram submetidos a pneumonectomias.

4.2.5. Sobrevida

A sobrevida dos pacientes teve uma mediana de 25,9 meses, com sobrevida mínima de dois meses e máxima de 100 meses (em relação ao ponto final da pesquisa).

Dos pacientes, 21,8% sobreviveram 60 meses e cinco pacientes (6,4%) desapareceram do seguimento, mas apresentavam seguimento mínimo de 12 meses.

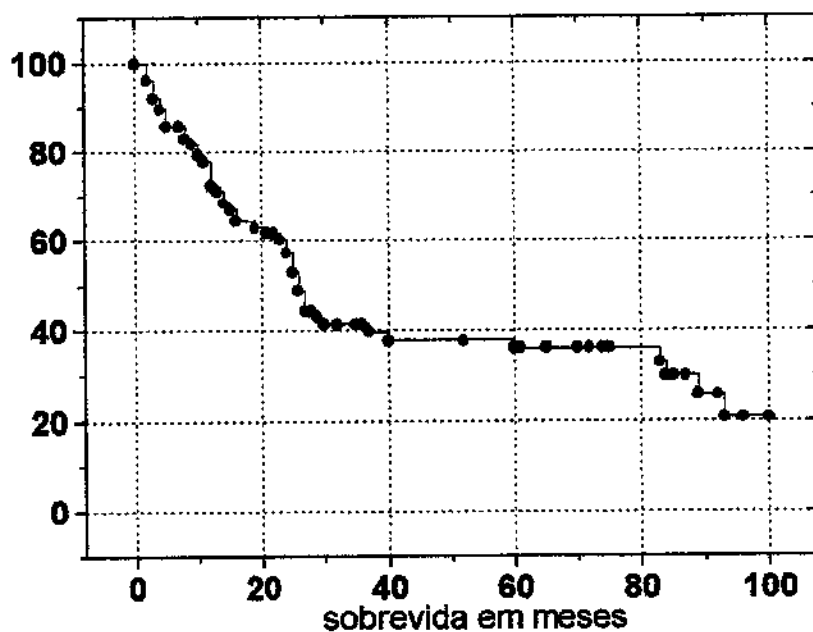


Figura 2: Curva de sobrevida global

4.2.6. c-erbB-2

A pesquisa imuno-histoquímica das lâminas parafinas mostrou alguma positividade em 35 pacientes para a proteína do oncogene c-erbB-2. Em 43 pacientes houve resultados não reagentes. Nos pacientes com neoplasia, positivos para c-erbB-2 (fig. 7), a média de células coradas foi de 19,7%, com 95% do intervalo de confiança entre 10,2% e 29,3%.

4.2.7. Ki-67

A pesquisa do Ki-67, por meio do método imuno-histoquímico, mostrou resultados negativos em 31 pacientes e coloração nuclear positiva em 47 (fig. 9 e 10). A média das células coradas foi de 11,17% e intervalo de confiança entre 8,83% e 13,51%.

4.2.8. β -HCG

Em relação à presença do receptor para β -HCG na membrana citoplasmática (fig. 8) os resultados foram positivos em 32 pacientes e negativos em 46 pacientes. Nos pacientes positivos, a média foi de 17,81% das células dos campos pesquisados e com intervalo de confiança entre 12,44% e 23,14%.

4.2.9. Mitoses

Analisando o índice mitótico, encontramos média de 0,039% e intervalo de confiança entre 0,031% e 0,045%. Em oito pacientes não foi encontrada atividade mitótica, com 70 pacientes apresentando de uma a 11 mitoses.

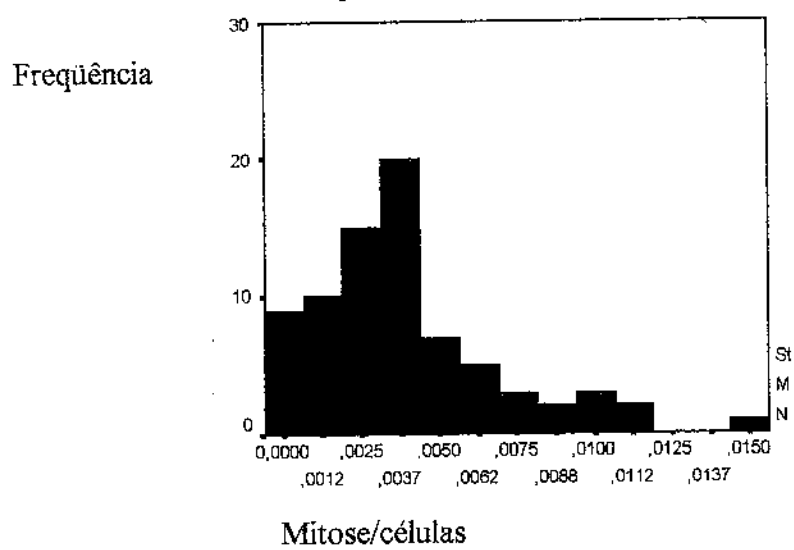


Figura 3: Gráfico de índice de mitoses

4.3. RELAÇÃO ENTRE OS DADOS PESQUISADOS

A curva de sobrevida de Kaplan-Meier, para os pacientes divididos por resultado histológico, mostrou significância estatística, com $p=0,04543$ quando utilizado o teste de Cox-Mantel.

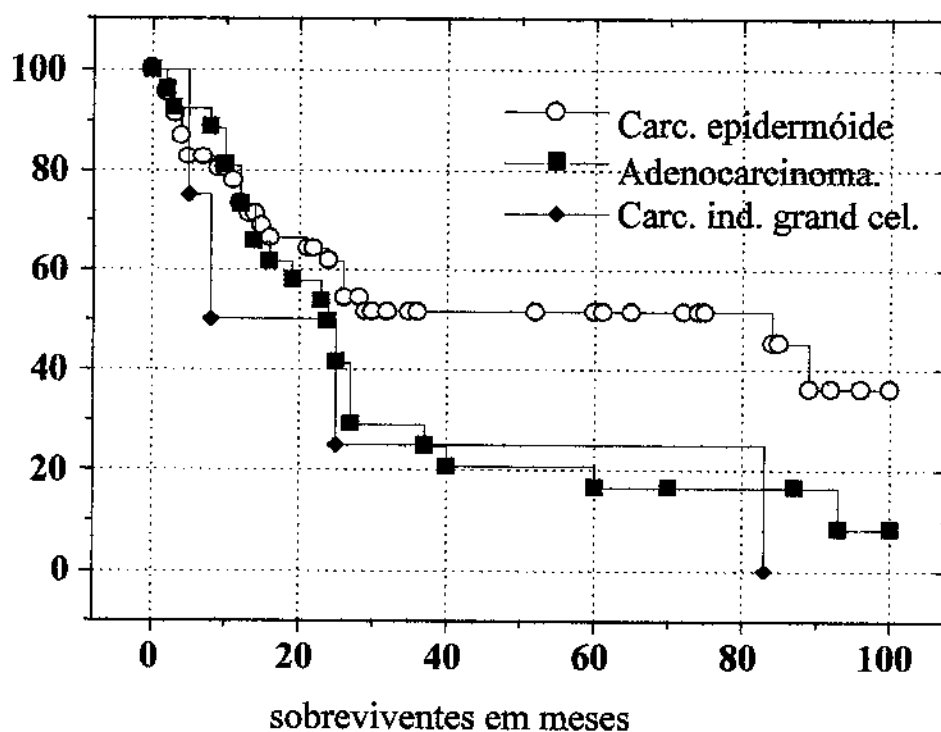


Figura 4: Curva de sobrevida por tipo histológico $p=0,04543$

A mediana de três anos foi de 51,6% para carcinoma epidermóide, 28,5% para adenocarcinoma e 24,5% em carcinoma indiferenciado de grandes células.

Outro dado significativo foi quando analisamos os diversos estádios e sua relação com a sobrevida. O teste de Cox-Mantel mostrou $p=0,01797$.

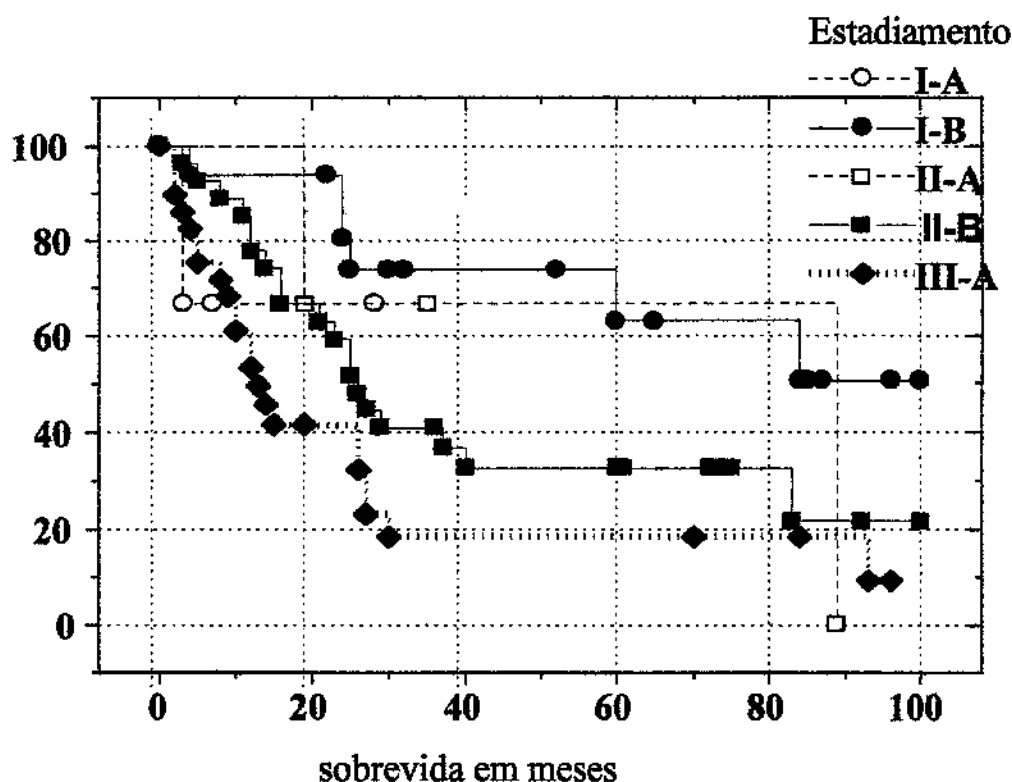


Figura 5: Curva de sobrevida por estadiamento $p=0,01797$

A sobrevida mediana de três anos e de cinco anos foi, respectivamente, de 73,4% e 63,8% no estágio I-B; 66,7% e 66,7% no II-A; 40,6% e 33,0% no estágio II-B e 18,5% no estágio III-A, tanto para três e cinco anos. O estágio I-A não teve pacientes suficientes para os cálculos.

Já quando comparamos diagnóstico histológico e estadiamento, notamos que 77,7% dos adenocarcinomas estavam nos estádios II-B e III-A. Os tumores epidermóides, na mesma faixa de estadiamento, apresentavam-se em 65,2% dos pacientes.

As sobrevidas medianas de 36 meses para diferentes tipos histológicos foram de 51,6% para carcinoma epidermóide, 28,5% para adenocarcinoma e 24,5% para carcinoma indiferenciado de grandes células.

Em relação ao tipo de cirurgia versus sobrevida (Tab. 3), não houve diferença estatística ($p>0,05$) entre lobectomia e pneumonectomia, porém a bi-lobectomia foi a que apresentou pior resultado, não havendo nenhum paciente vivo após três anos.

Em 36 e 60 meses, respectivamente, a sobrevida mediana para cirurgia foi de 52% e 41% para lobectomia; 20% e 20% para bi-lobectomia e 37,5% e 37,5% para pneumonectomia.

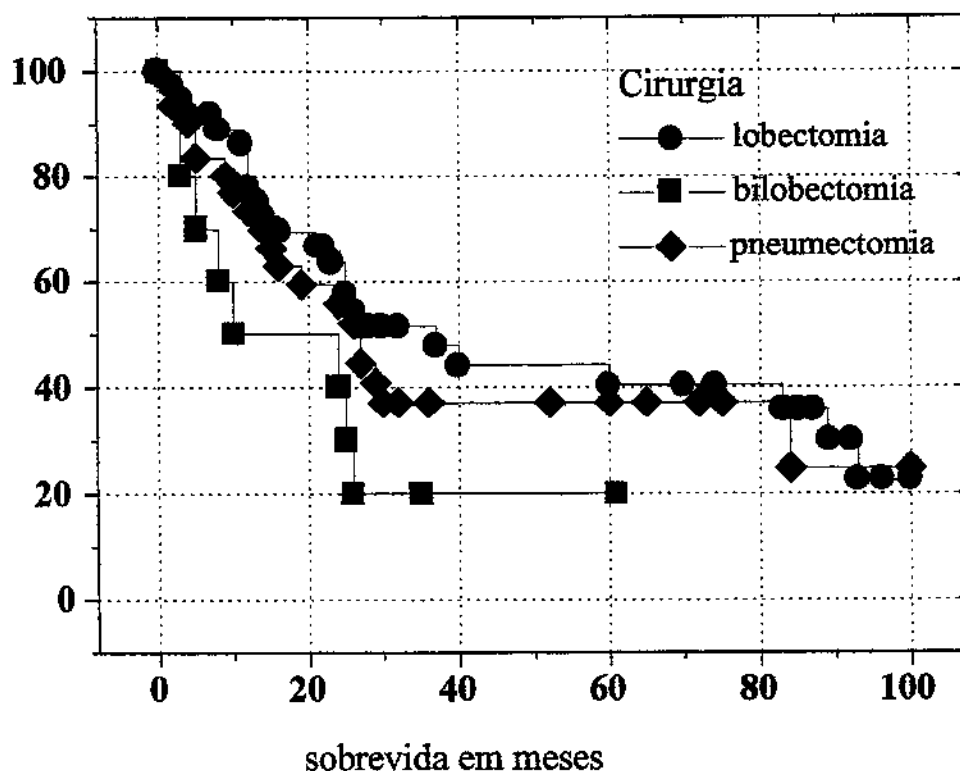


Figura 6: Curva de sobrevida por tipo de cirurgia

Ao analisarmos as cirurgias utilizadas em relação ao estadiamento, encontramos que a pneumonectomia foi mais utilizada em pacientes com estadiamento maior (57,1% das cirurgias do estágio III-A). Da mesma forma, 82,7% dos pacientes que estavam mortos na coleta dos dados estavam no estágio II-B e III-A.

Na comparação entre o estadiamento e a idade, havia 78,6% dos pacientes com idade entre 50 e 59 anos com estágio II-B e III-A, contra 61,1% dos pacientes com idade entre 60 e 69 anos nos mesmos estadiamentos. Interessante notar que 100% dos pacientes com menos de 49 anos estavam também nestes dois estádios.

Quando estudamos a relação entre a presença do anti-c-erbB-2 e o tipo histológico, verificamos a presença do oncogene em todos os tipos histológicos, sem predominância de aparecimento no adenocarcinoma em relação ao carcinoma epidermóide.

O número de óbitos ocorreu igualmente nos pacientes positivos ou negativos para este oncogene.

Já em relação ao estadiamento, encontramos diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) da positividade do oncogene c-erbB-2 nos estádios II-B e III-A, em relação aos estágios iniciais (I-A, I-B, II-A).

O estadiamento e a condição clínica do paciente foram os únicos resultados relevantes na sobrevida.

A porcentagem de células positivas para c-erbB-2 não demonstrou relação com a sobrevida no teste univariado de Cox, com $p > 0,05$.

Quando analisados os índices de proliferação (Ki-67 e mitoses) em relação à sobrevida, utilizando o teste de Cox, para análise multivariada, não houve significância estatística.

O mesmo ocorreu na análise sobre o papel do β -HCG na sobrevida, quando usado o teste de Cox, com $p > 0,05$.

Utilizando o modelo multifatorial de Cox e separando os dois tipos histológicos principais, encontramos na neoplasia epidermóide influência somente do estágio ($p = 0,0756$) e índice de Karnofsky ($p = 0,0354$). Já nos adenocarcinomas, somente o estágio foi importante ($p = 0,0165$).

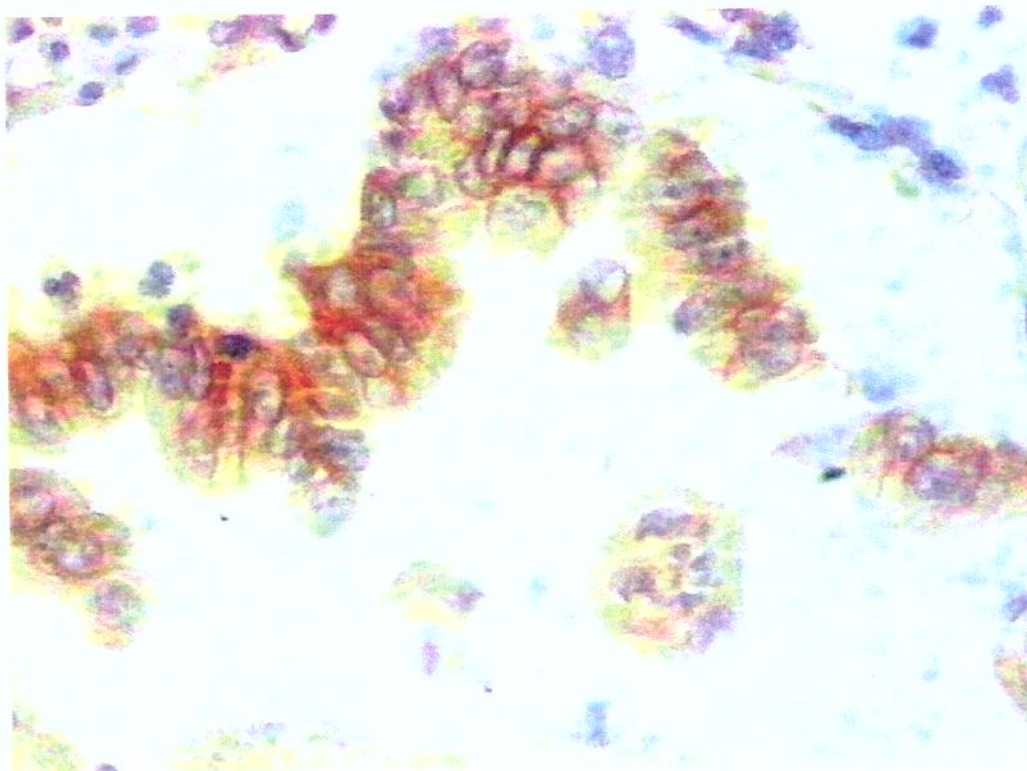


Figura 7: Paciente com adenocarcinoma, com imunohistoquímica para c-erbB-2 positiva (corado em marrom) em membrana citoplasmática.

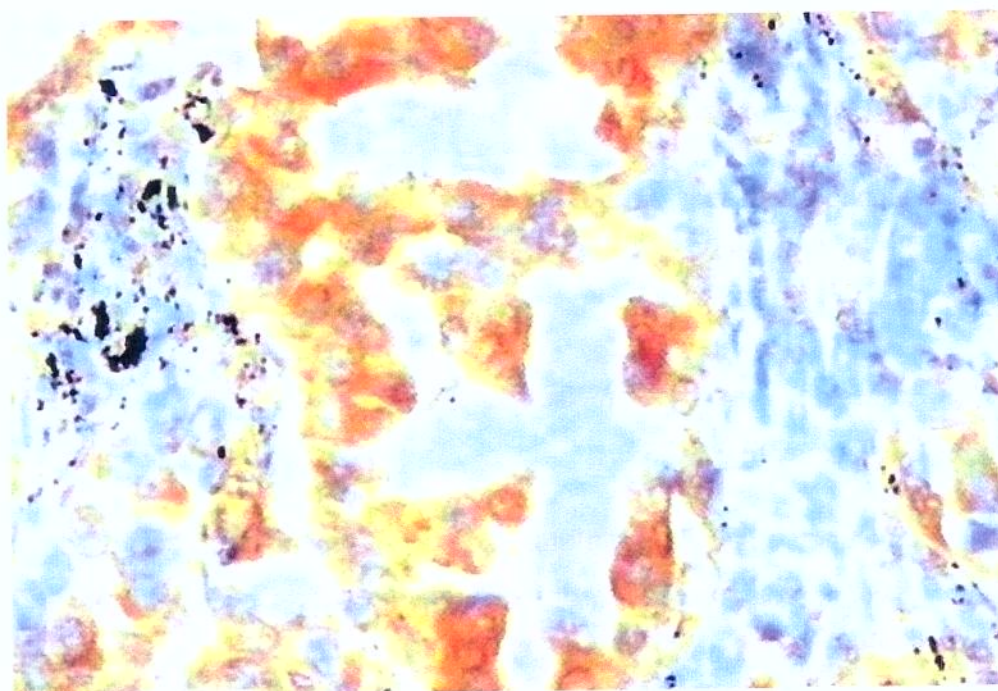


Figura 8: Paciente com adenocarcinoma, e imuno-histoquímica para β -Hcg positivo (corado em marrom) em citoplasma.

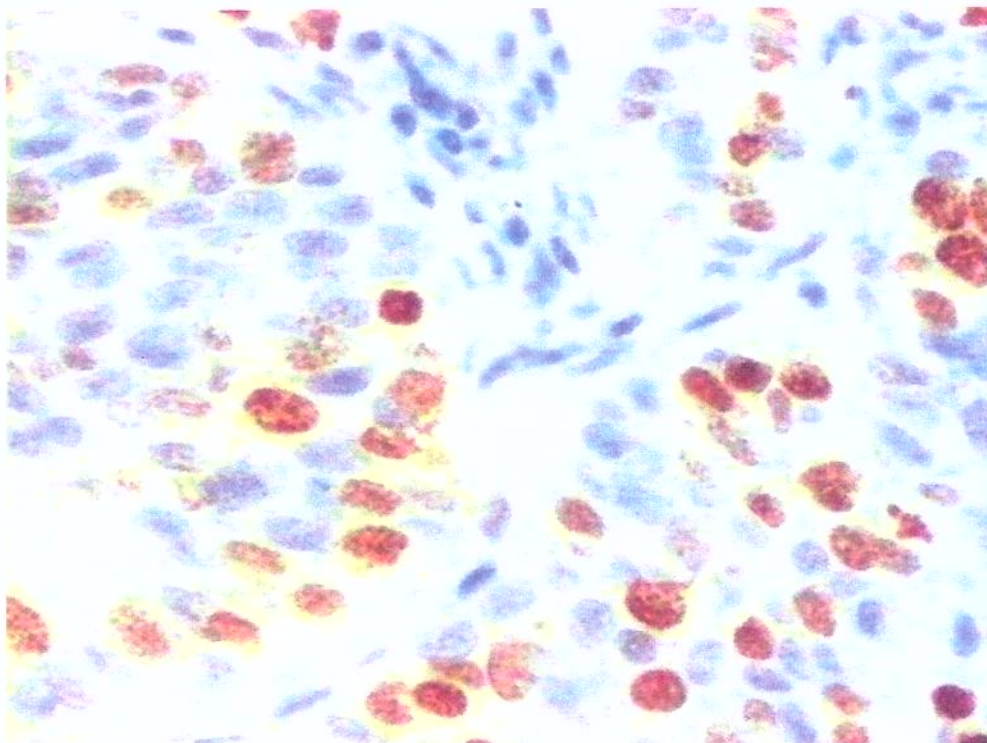


Figura 9: Paciente com adenocarcinoma, e imunohistoquímica para ki-67 positivo (corado em marrom) em núcleo. Pequeno aumento.

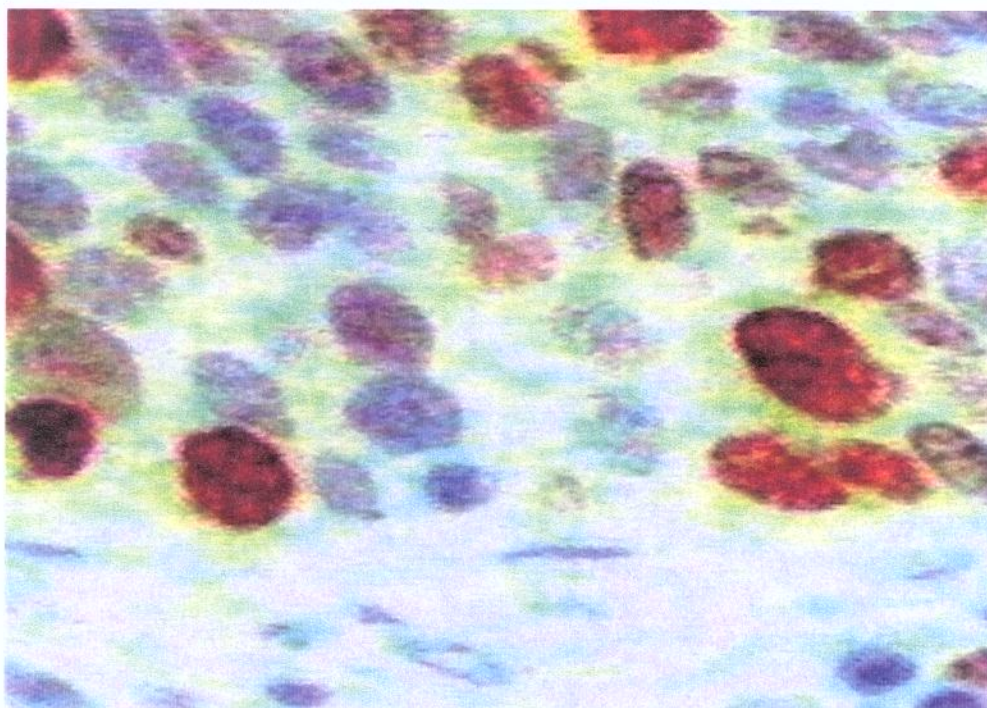


Figura 10: Paciente com adenocarcinoma, e imunohistoquímica para Ki-67 positivo (corado em marrom) em núcleo. Grande aumento.

5. DISCUSSÃO

A neoplasia de pulmão é reconhecida em nossa época como o mais importante câncer em homens no que se refere à incidência e mortalidade e, apesar de não ser o de maior incidência em mulheres, é uma das suas principais causas de óbito por neoplasia (HARPOLE, 1995).

Este trabalho estudou pacientes com esta importante neoplasia, que tiveram sua tentativa de tratamento centrada principalmente na cirurgia radical, reconhecida por vários autores como o tratamento mais eficaz (MILLER, 1995; BUCCHERI & FERRIGNO, 2000).

Por este motivo, foram excluídos todos os pacientes cujo estadiamento anátomo-patológico estivesse acima de III-A, ou aqueles em que a doença foi operada de maneira incompleta, seja por margens insuficientes, seja por aparecimento de metástase ou recidiva da doença no período per-operatório.

Como um dos objetivos deste trabalho foi estudar a sobrevida dos pacientes tratados, os óbitos ocorridos nos primeiros 30 dias resultaram na exclusão dos pacientes do protocolo, por acreditar-se que as causas do óbito estariam mais ligadas ao procedimento cirúrgico e às condições clínicas dos pacientes do que propriamente à neoplasia (GINSBERG *et al.*, 1983).

Na nossa casuística, dos 124 pacientes operados consecutivamente com estágio entre I-A e III-A, no período de janeiro de 1989 a dezembro de 1996, foram excluídos 46. Este número importante deve-se, principalmente, a erros no arquivamento e manutenção dos prontuários médicos (17 pacientes) e má qualidade dos blocos parafinados para a realização do estudo imuno-histoquímico (14 pacientes).

O número de óbitos nos primeiros 30 dias ficou em 6,4 % (oito pacientes), o que está aparentemente acima do relatado na literatura (GINSBERG *et al.*, 1983; MARTINI & GINSBERG, 1995). IZBICKI *et al.* (1995), tiveram uma mortalidade nos primeiros 30 dias de 7,5%, mas trataram pacientes com tumores localmente avançado.

GINSBERG *et al.* (2000), relataram que a mortalidade de pneumonectomias para neoplasias ficou em torno de 6,7% e lobectomias em 2%, porém fizeram a ressalva de que o estado nutricional e a idade dos pacientes podiam aumentar estes índices. UEHARA, JAMNIK, SANTORO, (1998) referem um estudo com mais de 2.000 pacientes e mortalidade média de 3,7%, com 6,2% quando analisadas somente pneumonectomias.

A opção pelo estudo imuno-histológico dos marcadores celulares deve-se a ser este método o que mais se adapta para o estudo retrospectivo no material neoplásico, pois os blocos formalizados ficam conservados durante vários anos, dependente apenas do processo de formalização da peça cirúrgica, do armazenamento e da organização do blocário. Além disso, a imuno-histoquímica é o processo mais barato, facilmente reproduzível e o mais utilizado em todo o mundo (GAZDAR *et al.*, 1983; CARNEY, 1989; SABÁS *et al.*, 1994; GUINEE JR. *et al.*, 1995; WEBB *et al.*, 1995; HABER *et al.*, 1998).

5.1. SOBRE OS RESULTADOS DA CASUÍSTICA E A LITERATURA

Analisando os 78 pacientes que foram objeto desta pesquisa, a divisão entre homens (82,1%) e mulheres (17,9%) corresponde aos achados de ZAMBON (1994), que analisou 261 pacientes com neoplasia de pulmão e encontrou uma relação de quatro homens para cada mulher com a doença. Este dado também é concordante como os resultados de DUARTE, (1995); com os dados publicados pelo Ministério da Saúde em 1991 (ZAMBON, 1994; PERERA *et al.*, 1991) e com resultados da Inglaterra (MUERS *et al.*, 1996) e Taiwan (KUO *et al.*, 2000). A diminuição entre a relação homem/mulher encontrada em alguns trabalhos na literatura americana (IZBICKI, PASSLICK, HOSCH, 1996; OKADA *et al.*, 1999) não se confirmou no estudo dos pacientes desta série.

A idade média foi de 59,19 anos, com mediana de 60 anos, variando entre 39 e 73 anos. Estes dados são semelhantes à literatura nacional (YOUNES; GROSS; DEHEINZELIN, 1999; ZAMBON, 1994; TORO, 1991) e internacional (IZBICKI *et al.*, 1995; OKADA *et al.*, 1999 ; SUZUKI *et al.*, 1999; ADEBONOJO *et al.*, 1999; SCHOTTENFELD *et al.*, 2000; MARTINI & GINSBERG, 1995).

Em relação à raça, o achado de 88% de brancos reflete dois fatores. Este tipo de informação não é confiável, sendo a padronização da cor para fins de registro inexistente na Unicamp. Trabalho de ZAMBON (1994), já havia apresentado este tipo de problema. Na literatura encontramos números mais próximos entre as diferentes raças, porém ainda com forte predomínio da raça branca (AL-KATTAN *et al.*, 1996). Por outro lado, a dificuldade de acesso dos pacientes negros ao sistema de saúde nos Estados Unidos foi citada como fator de pior prognóstico dos pacientes da raça negra por BACH *et al.* (1999).

O tabagismo, sem dúvida o fator etiológico mais importante e estudado em todos os trabalhos (MINNA *et al.*, 1991; SCHOTTENFELD, 2000; CARBONE, 1992), em nosso trabalho esteve presente em 76,9% dos pacientes, sendo que este número certamente está subestimado por faltar informação em 12,8% dos pacientes e por não computar os fumantes passivos. JETT *et al.* (1997) referiram 80% de tabagistas na sua casuística; ZAMBON (1994), 88,9%; TORO (1991), 80,7%; DIAZ PLASENCIA (1998), 75%; SCHOTTENFELD (2000), 85%.

O índice de Karnofsky, desenvolvido por David A. Karnofsky em 1948, é uma escala para avaliação da condição física do paciente, baseada na sintomatologia, atividade física, cuidados requeridos e condição geral do paciente. É um método de fácil execução e reproduzível, seja entre membros da mesma equipe (médicos, enfermeiras, psicóloga, etc.) ou entre diferentes grupos (LASACA *et al.*, 1998; RIKKERT *et al.*, 1999; FALLER *et al.*, 1999; PEASMAN *et al.*, 2000).

Em relação ao índice de Karnofsky, utilizado aqui como medida única com relação direta à época da cirurgia, encontramos em nossos pacientes média de 85,19%. A variação foi de 100 a 60%, porém somente cinco pacientes apresentavam o índice abaixo de 80%, o que é compatível com a literatura (MARTINEZ *et al.*, 1994; IANNETTONI, 1998). Pacientes com índice de Karnofsky abaixo de 60 raramente são candidatos a tratamento cirúrgico mais agressivo (LASACA *et al.*, 1998; RIKKERT *et al.*, 1999; FALLER *et al.*, 1999; PAINE, 2000). GAIL *et al.*, (1984), analisando 392 pacientes em estágio I, encontraram melhor sobrevida em pacientes com índice de Karnofsky acima de 80, com significância estatística.

A cirurgia é sem dúvida o único tratamento efetivamente curativo (PINTO FILHO *et al.*, 1993; DESLAURIERS & GREGOIRE, 2000). Em relação ao tipo de cirurgia, encontramos a presença de 42,3% de pneumonectomias, o que possivelmente reflete o estágio avançado da doença tratada (IZBICKI *et al.*, 1995; JASSEM *et al.*, 2000). Em 57% dos pacientes que apresentavam estágio III-A foi utilizado este método cirúrgico. AL-KATAAN *et al.* (1996) mostraram 34% de pneumonectomias e na análise dos fatores que afetariam a sobrevida concluíram que o tipo de cirurgia não influenciou, mas a cirurgia completa (sem margens comprometidas) seria fator decisivo, dados comprovados por

XAVIER *et al.* (1995); SUZUKI *et al.* (1999) e RENS *et al.* (2000). GINSBERG (1997) afirma que a lobectomia deve ser a menor cirurgia de escolha, pois as ressecções econômicas aumentam em três vezes a chance de recorrência local.

Do nosso ponto de vista, confirmado por SUZUKI *et al.* (1999) e GINSBERG & PORT (2000), está claro que a ressecção incompleta diminui a chance de cura do paciente e somente o cirurgião, com a ajuda do exame de congelação das margens tumorais, pode decidir qual é o método escolhido, seja ele lobectomia, bi-lobectomia ou pneumonectomia (DOWNEY, 1999). Utilizamos, portanto, os princípios oncológicos cirúrgicos clássicos (FORTE, 1988; MARTINI, 1995; GINSBERG & PORT, 2000): a) o tumor e a drenagem linfática intrapulmonar devem ser retirados em bloco; b) o tumor deve ser retirado completamente íntegro, sem abertura da peça ou por partes; c) toda a estrutura invadida deve ser retirada em bloco; d) dissecação completa dos linfonodos do mesmo lado da doença ou pelo menos amostras de todas as cadeias linfáticas. A cirurgia vídeo-assistida tem um papel ainda a ser delimitado no futuro da cirurgia oncológica de pulmão (LOSSO, GHEFTER, IMAEDA, 1994).

Em relação a dissecação e retirada completa dos linfonodos, existem algumas controvérsias (CAMARGO, 1991; DESLAURIERS & GREGOIRE, 2000; TAKAMOUCHI *et al.*, 2000). MARTINEZ, CHIFFLET, DELBENE, (1994) consideraram que poucos pacientes iriam se beneficiar do esvaziamento radical, pois o mesmo aparentemente não altera a sobrevida e sim o estágio, e que as complicações do esvaziamento não são desprezíveis. Já MARTINI & GINSBERG (1995); GINSBERG (1997); TAKAMOUCHI *et al.*, 2000, referiram ser de suma importância o esvaziamento completo, tanto mais radical quanto possível, podendo em combinação com radioterapia e quimioterapia aumentar a sobrevida. HOYO *et al.* (1993), analisando 70 pacientes com carcinoma pulmonar não de pequenas células, encontraram 38,7% de linfonodo com menos de 5mm de tamanho acometidos pela neoplasia, falando favoravelmente ao esvaziamento mediastinal.

GINSBERG (1996), refere que 20% pacientes com tumores com menos de 2 centímetros apresentam de linfonodos N2 positivos.

IZBICK *et al.* (1996), avaliaram 93 pacientes e 471 linfonodos, utilizando imuno-histoquímica, encontraram 27% de micrometástase em linfonodos considerados anteriormente como N0 ou N1, demonstrando a importância da ressecção dos vários níveis de linfonodos e da utilização de outras técnicas de histologia além da hematoxilina-eusina.

O tipo histológico, fator prognóstico reconhecido por muitos autores, foi analisado neste trabalho obedecendo-se à classificação da Organização Mundial da Saúde de 1999 (METZE, 1998; TRAVIS, 2000).

Na nossa casuística, o carcinoma epidermóide ou espinocelular (CEC) foi o mais freqüente, com 59% dos casos. TADOKORO, (1992); AL-KATTAN *et al.* (1996) e YOUNES *et al.* (1999) referem resultados semelhantes. Adenocarcinoma, que ocorreu em 34,6 % dos casos, foi semelhante ao que ocorreu em outros países (ZAMAN, 1995; ADEBONOJO *et al.*, 1999; TRAVIS, 2000). ZAMBON (1994), analisou pacientes da Unicamp de 1988 a 1990, encontrou resultado da estratificação histológica semelhante a este trabalho.

Carcinomas indiferenciados de grandes células ocorreram em 5,1% dos nossos casos, semelhante aos dados de ZAMBON (1994), ZAMAN (1995) e RENS *et al.* (2000), e menos freqüente que os 9% relatados por TRAVIS (2000).

Apenas um paciente apresentou diagnóstico histológico de carcinoma adenoescamoso. TAKAMORI *et al.* (1991) relataram a incidência de 0,6% a 2,3% na literatura e conferem mal prognóstico a este tipo de tumor. Já ISHIDA (1992) relatou não haver diferença prognóstica entre o adenoescamoso e outros tipos de neoplasias não de pequenas células. Nosso único paciente com este tipo histológico, operado com estágio III-B, sobreviveu 30 meses, com óbito devido à disseminação da doença.

O estadiamento é de grande importância na padronização dos diversos tratamentos, comparação de resultados, na pesquisa clínica e acaba sendo o padrão áureo para comparação em toda comunicação científica (MOUNTAIN, 1997; NARUKE *et al.*, 1997). Como era de se esperar, o paciente com a neoplasia pulmonar foi operado, na maioria dos casos, no seu estágio mais avançado (ZUKIN & LILENBAUM, 1997). Somente

3,8% dos pacientes estavam no estágio I-A, que apresentam prognóstico de sobrevida de cinco anos ao redor de 75% . No estágio I-B ocorreram 16 diagnósticos; três estavam no estágio II-A; 28 (35,9%) no estágio II-B e 28 (35,9%) no estágio III-A. ZUKIN & LILENBAUM (1997) evidenciaram 35% no estágio III, com sobrevida menor que 20%.

Mais de 75% dos pacientes estavam na cirurgia a doença apresentando invasão linfática, com perspectiva de sobrevida abaixo de 35%, e a maioria necessitou de tratamento adjuvante (quimioterapia ou radioterapia). FRIEDBERG (1999) referiu aumento estatístico de sobrevida nos pacientes que utilizaram tratamento neoadjuvante. SHEPHERD (1996) refere que 80% dos pacientes serão submetidos à quimioterapia em algum momento da sua doença. Uma das explicações possíveis seria, conforme trabalho de PASSLICK *et al.* (1996), que mesmo em pacientes com histologia comum compatível com N0 ou N1, a imuno-histoquímica mostra invasão linfonodal em até 80% no linfonodo N2.

A sobrevida dos pacientes apresentou mediana de 25,9 meses, o que reflete o mau prognóstico desta neoplasia. No primeiro ano da doença 30% dos pacientes morreram e ao redor de 47% até o final do segundo ano. HOLMES (1986), tratando de pacientes com cirurgia completa e tratamento adjuvante, obteve uma média de sobrevida de 23 meses. Em seus pacientes, 30 % estavam mortos no primeiro ano, 59% no segundo e todos tinham morrido até o terceiro ano. SUZUKI *et al.* (1999), observou 7% de sobrevida em cinco anos no estágio III-A (com N2).

NARUKE *et al.* (1997), analisou 1819 pacientes e usando o sistema de estágio de 1987, encontrou sobrevida de 5 anos de 68% para o estágio I, 46% para o estágio II e 39% para o estágio III-A .

A presença da doença no sistema linfático parece ter grande impacto na sobrevida (MARTINI & GINSBERG, 1995; MOUNTAIN & DRESLER, 1997). NARUKE *et al.* (1997) já havia referido que o N2 poderia ser fator decisivo do prognóstico e levantou a hipótese do local do linfonodo como um fator importante. Com linfonodos sub-carinais comprometidos, a sobrevida foi de 9,1% e com somente linfonodos paraaórticos, a sobrevida subiria para 29%. OKADA *et al.* (1999); SUZUKI *et al.* (1999) e PARK; LOUIE; ALTORKI (2000), relatam que a localização do N2, a quantidade de cadeias acometidas, o tamanho do tumor e a realização de cirurgia completa, seriam os fatores mais importantes para o resultado de sobrevida.

Relacionando sobrevida com o tipo histológico do tumor, notamos pior prognóstico do adenocarcinoma, que foi estatisticamente significante ($p < 0,05$). AL-KATTAN *et al.* (1996) relatou 69,4% de sobrevida para o carcinoma epidermóide e 52,6% para adenocarcinoma, porém a diferença não foi significativa. RENS *et al.* (2000), analisando 2361 pacientes com tumores em estágio até III-A, encontrou melhor sobrevida para o carcinoma epidermóide, com diferença estatisticamente significativa.

SUZUKI *et al.* (1999) e MERRILL *et al.* (1999) não encontraram diferença entre os tipos histológicos dos tumores não de pequenas células.

Os carcinomas indiferenciados de grandes células e o carcinoma misto não foram por nós analisados, em função do pequeno número de casos (quatro e um, respectivamente).

Ao analisarmos a relação entre o tipo de cirurgia e a sobrevida, notamos que não houve diferença estatística entre lobectomia e pneumonectomia, o que ao nosso ver reflete a obrigatoriedade de sempre realizarmos cirurgias completas, mesmo necessitando de procedimentos mais extensos, como a pneumonectomia. Já IZBICKI *et al.* (1995) constataram que todos os pacientes submetidos a pneumonectomias morreram em no máximo três anos.

GINSBERG *et al.* (1983) relataram que a pneumonectomia apresenta maior mortalidade, principalmente quando realizada em pacientes acima de 70 anos ou em qualquer faixa etária com desnutrição associada.

5.2. c-erbB-2

O c-erbB-2 é um oncogene expressado em diversos tumores humanos (KERN *et al.* 1994; YOSHINO *et al.*, 1994; HARPOLE *et al.*, 1995; GUREL *et al.*, 1999), especialmente em neoplasias de mama (BERGER *et al.*, 1988; TATEISHI *et al.*, 1991) onde pode ser encontrado em até 40% dos casos (KERN *et al.* 1994). Geralmente é relacionado a mau prognóstico (TATEISHI *et al.*, 1991; KERN *et al.* 1994; YOSHINO *et al.*, 1994; YU *et al.*, 1994; WEBB *et al.*, 1995; BRIEN *et al.*, 2000).

O c-erbB-2, também chamado de HER-2/neu, é um oncogene semelhante ao que produz neuroblastomas em ratos, após indução (SCHNEIDER *et al.*, 1989; RICHARDSON & JOHNSON, 1993; YU *et al.*, 1994). Está localizado no locus cromossomal 17q21 e produz uma proteína de membrana de peso molecular de 185.000, com atividade tirosina-quinase e sequência semelhante ao receptor de fator de crescimento epitelial celular (SCHNEIDER *et al.*, 1989; KERN *et al.* 1994).

Na nossa casuística, o c-erbB-2 apresentou positividade em 51,5% dos pacientes (41 pacientes), semelhante aos dados de JOHNSON, (1995). KERN *et al.* (1994) encontraram c-erbB-2 em 37% dos seus pacientes; HARPOLE *et al.* (1995) encontraram 21%. KERR *et al.* (1994) encontraram somente 7%. PASTORINO *et al.* (1997), analisando pacientes de estágio I, encontraram apenas 4%. TATEISHI *et al.*(1991), encontraram 28% de resultados positivos, analisando somente adenocarcinomas de pulmão.

Esta maior positividade pode ser explicada pelo fato de termos optado por analisar cerca de 500 células em cada paciente e considerado positivo a presença de qualquer quantidade de células coradas, estabelecendo assim um índice de positividade, o que permite o uso de dados contínuos (com maior poder estatístico), enquanto outros autores consideraram como positivo somente a partir de 5 a 10% de positividade, optando por dados categorizados (com menor poder estatístico). PAAKO (1992), também encontrou positividade alta (64%). Outro fator é que as técnicas laboratoriais têm melhorado, como o uso de microondas, o que aumenta a efetividade da imuno-histoquímica (KERR *et al.*, 1994), podendo explicar a diferença. Além disso, fatores genéticos inerentes à população estudada (PERERA *et al.*, 1991; GIATROMANOLAKI *et al.*, 1996) podem ser a causa da disparidade de alguns resultados. Outra possibilidade, segundo YU *et al.* (1994), seria que os nossos pacientes tinham tumores mais avançados, pois o c-erbB-2 tem maior expressão nos estádios II-B e III-A.

GUINEE JR. *et al.* (1995) escreveram que c-erbB-2 seria mais freqüente em mulheres, possivelmente devido ao maior nível de estrógeno circulante. Em nossas pacientes não encontramos diferença estatisticamente relevante.

Na casuística desta tese não houve diferença estatística entre os pacientes que apresentavam carcinoma epidermóide e adenocarcinoma, dados iguais ao de KERN *et al.* (1994), 36% e 38%, respectivamente. HARPOLE *et al.* (1995) encontraram 14% nos adenocarcinomas e 26% nos carcinomas epidermóides. TATEISHI *et al.* (1991) encontraram somente 2% em carcinoma epidermóide e 28% em adenocarcinoma. KERR *et al.* (1994) encontraram 67% em adenocarcinoma e índices desprezíveis em epidermóide. CANTERO *et al.* (2000), encontraram pior prognóstico em pacientes com carcinoma epidermóide e com positividade para o c-erbB-2.

O resultado do estadiamento da neoplasia pulmonar relacionado com a presença da reação positiva para o c-erbB-2 demonstra, estaticamente, o referido por grande parte da literatura: o oncogene c-erbB-2 estaria ligado a tumores avançados. Em 80% dos nossos pacientes positivos, os estádios II-B e III-A foram relacionados. SHI *et al.* (1992) possuem resultados semelhantes, assim como TATEISHI *et al.* (1991), que encontraram o estágio IV como o mais prevalente.

Em relação a óbito e sobrevida, não conseguimos encontrar nenhuma diferença conclusiva. YU *et al.* (1994) referem que o oncogene está relacionado à diminuição de sobrevida. TATEISHI *et al.* (1991), analisando 203 pacientes, encontraram pior prognóstico nos pacientes positivos que tinham adenocarcinoma. KERN *et al.* (1994) e HARPOLE *et al.* (1995), confirmaram a pior sobrevida principalmente em relação ao adenocarcinoma.

Por outro lado, em trabalho de FONTANINI *et al.* (1998), estudando 195 pacientes com estágio entre I-A e III-A, não foi encontrada alteração de sobrevida com a presença do c-erbB-2. SLEBOS *et al.* (1989) concluíram em seu trabalho que o oncogene estudado não teria nenhuma relação com o prognóstico.

5.3. ÍNDICE MITÓTICO

O índice de proliferação celular é um importante e sensível determinador de prognóstico de muitos tipos de neoplasias, principalmente em câncer de mama, leiomiossarcomas, neoplasias gástricas, melanomas e linfomas (DONHUIJSEN, 1986;

HAAPSLO, PESONEN, COLLAN, 1989; HILSENBECK & ALLRED, 1992; DIEST *et al.*, 1992; O'LEARY & STEFFES, 1996). Apresenta também, segundo alguns autores, relação com a diferenciação neoplásica (DONHUIJSEN, 1986; HAAPSALO *et al.*, 1989; DONHUIJSEN *et al.*, 1990) e taxas de crescimento tumoral (CAMPOS *et al.*, 1987).

Um dos problemas do método é a sua subjetividade, pois o método é essencialmente observador dependente (DONHUIJSEN, 1986; GOING, 1993; O'LEARY & STEFFES, 1996).

Neste trabalho utilizamos o índice mitótico, que consistiu em contagem, nas zonas de infiltrações celulares mais representativas, do número de mitoses e do número total de células neoplásicas, de pelo menos três campos diferentes.

Foram encontrados oito pacientes no quais não foi possível identificar nenhuma mitose e a média do índice mitótico ficou em 0,039%. PAGE, DUTT, SIMPSON (1993), referem que 10% a 20% das neoplasias sólidas apresentam raras mitoses.

DONHUIJSEN *et al.* (1990) relataram que o intervalo entre a coleta do espécime anátomo-patológico e sua fixação podem alterar o índice mitótico, pois as mitoses se completariam em até três horas, dependendo das condições hormonais, concentração de oxigênio, capacidade de síntese protéica (DONHUIJSEN, 1986), não sendo mais possível identificar a cromatina condensada.

Também não conseguimos relacionar a sobrevida de nossos pacientes com o índice mitótico, porém outros estudos com material mais controlado se fazem necessários.

5.4. Ki-67

No planejamento deste trabalho, ficou delineada a necessidade de acrescentar marcadores que pudessem nos responder rapidamente a respeito da agressividade da doença neoplásica pulmonar.

O Ki-67, realizado por método imuno-histoquímico, é um marcador de atividade do núcleo celular, que só está presente na célula em divisão, nas fases G1, S, G2 e M, e mostrou-se, pela análise da literatura, de fácil execução e reproduzível nos diversos trabalhos (RUDOIPH *et al.*, 1998; LAU *et al.*, 2000). Vários autores têm associado a presença deste marcador a um prognóstico adverso (PENCE *et al.*, 1993; HARPOLE *et al.*, 1995; PUJOL *et al.*, 1996).

Em nossos pacientes, encontramos positividade em 31 deles. Nos pacientes em que o resultado foi positivo, a média de células coradas foi de 17,81%.

ISHIDA *et al.* (1997) encontraram média de 27,1% de células coradas, porém não houve nenhum caso onde houvesse negatividade do método. A explicação para os nossos quase 60% de negatividade talvez seja, como explicado por HEIDEBRECHT *et al.* (1996), que a meia vida da proteína Ki-67 é de somente 90 minutos, e portanto a demora na fixação com formol ou a formalização inadequada possa ter subestimado o resultado neste trabalho.

VILBERTI *et al.* (1997) encontraram 44,7% de neoplasias de pulmão com Ki-67 positivo, com predominância de neoplasia epidermóide. ISHIDA *et al.* (1997) relacionaram altos índices deste marcador com piora do prognóstico em adenocarcinomas. Nos nossos pacientes encontramos 40,2% de positividade, resultado muito próximo aos autores, porém sem diferença estatística entre os tipos histológicos ($p>0,05$).

5.5. β -HCG

O β -HCG foi escolhido por apresentar incidência crescente na literatura em tumores sólidos extra-gonadais, principalmente em neoplasias pulmonares.

Trabalho de ACEVEDO, TONG, HARTSOCK, (1995), referia que, independente da etiologia da transformação maligna, em todas as linhagens de tumores analisados pelos autores (carcinoma de cólon, bexiga, mama, epidermóide de pulmão, melanoma, linfomas e neuroblastoma) sempre ocorria ativação dos genes produtores das proteína das sub-unidades alfa e beta.

A dosagem do β -HCG pode ser feita no tecidos neoplásicos (WILSON *et al.*, 1981; YOSHIMOTO *et al.*, 1987; SZTURMOWICZ *et al.*, 1995; WEBB *et al.*, 1996; YOKOTANI *et al.*, 1997) como na urina e no sangue (YOSHIMURA *et al.*, 1994; YOKOTANI *et al.*, 1997).

Nos pacientes analisados neste trabalho, encontramos 31 pacientes com algum grau de positividade, visto que utilizamos o índice entre as células positivas e o total de células nos campos pesquisados.

WILSON *et al.* (1981) encontraram 84% de positividade analisando tecidos neoplásicos; WALOP *et al.* (1990) encontraram 2%, analisando sangue e urina dos pacientes; SZTURMOWICZ *et al.* (1995), analisando pacientes com carcinoma pulmonar de pequenas células, encontraram 14% de pacientes com positividade (maior de 5% de células coradas). YOKOTANI *et al.* (1997) encontraram 57,1% em pacientes com carcinomas não de pequenas células.

Existem três explicações para as disparidades de resultados. A primeira seria que a maioria dos tumores produz β -HCG, porém não secreta esta fração hormonal. A segunda explicação seria que, quando secretada, a maioria do β -HCG o seria em forma não glicosilada, o que diminuiria sua vida média para menos de 1% da vida média da forma glicosilada (WILSON *et al.*, 1981). A terceira seria que o nosso material, por ser antigo (1989-1996), não tenha sido fixado corretamente, alterando nossa positividade.

A literatura sugere um mau prognóstico aos pacientes que apresentam níveis aumentados de receptores para o β -HCG nas diversas neoplasias. SZTURMOWICZ *et al.* (1995), analisando pacientes com carcinoma pulmonar de pequenas células, encontraram níveis significantes de má resposta ao tratamento nos pacientes com níveis aumentados do β -HCG.

5.6. ANALISE MULTIFATORIAL

Ao analisarmos todos os fatores em relação à sobrevida dos pacientes, encontramos significância estatística (ALTMAN *et al.*, 1995) somente para o estadiamento ($p=0,0179$) e tipo histológico do tumor ($p=0,0454$).

Trabalho de GARCÍA-YUSTE *et al.* (2000), estudaram, na Espanha, 500 pacientes com características semelhantes aos nossos, e encontraram significância no estadiamento, porém a diferenciação entre os adenocarcinomas, carcinoma epidermóide e carcinoma indiferenciado de grandes células não foi importante.

GUEVARA & TELJEIRO, (1997), analisando somente 34 pacientes, concluíram haver relação apenas entre estadiamento e sobrevida. XAVIER *et al.*, (1995), realizaram análise entre os diversos fatores, perceberam que somente o estadiamento foi conclusivo, não importando tipo histológico ou tipo de cirurgia realizada. MARTINI *et al.*, (1992), analisando somente estágio II, não encontrou diferença de sobrevida entre os diversos tipos histológicos de carcinomas não de pequenas células do pulmão. Além disso, estes autores enfatizam que o tratamento com cirurgia e terapia adjuvante (quimioterapia e/ou radioterapia), não levou a melhora na sobrevida, fato também presente em nossos resultados (anexo 4). Talvez uma das explicações possa ser que este tipo de tratamento complementar à cirurgia é utilizado preferencialmente nos pacientes com estádios mais avançados. Neste trabalho, a casuística era pequena para subdividir mais ainda os grupos.

Separando somente os pacientes com carcinoma epidermóide, o índice de Karnofsky foi significativo ($p=0,0354$), assim como o estadiamento. GROSS *et al.*, (2000), analisando 103 pacientes com neoplasia pulmonar, encontraram pior sobrevida nos pacientes com Karnofsky mais baixo, porém sua amostragem mesclou pacientes cirúrgicos e não cirúrgicos. Não encontramos na literatura nenhum trabalho que pudesse servir para comparação com este nosso achado.

Em relação aos adenocarcinomas, somente o estágio continuou importante estatisticamente.

Apesar da nossa expectativa de conseguir, no presente estudo, acrescentar algum fator que pudesse prever a sobrevida dos portadores da neoplasia pulmonar não de pequenas células, o c-erbB-2, o Ki-67, o beta-HCG e o índice mitótico não mostraram significância. CANTERO *et al.* (2000), analisando a presença da proteína p185, referente ao oncogene c-erbB-2, encontraram pior prognóstico em pacientes com carcinoma epidermóide.

HARPOLE *et al.*, (1996), pesquisando 275 pacientes com carcinoma não de pequenas células concluíram que tanto o Ki-67 como o c-erbB-2 tiveram significância na sobrevida. D'AMICO *et al.*, (1999), estudando somente estágio I, encontraram o Ki-67 e o c-erbB-2 como válidos para estimar piora no prognóstico.

GREATENS *et al.* (1998), analisando também o c-erbB-2, o índice de crescimento e mais dois oncogenes, não conseguiram resultados consistentes. Somente o estadiamento e o tipo histológico, amplamente confirmado pela literatura e que ainda não satisfaz inteiramente no trabalho diário, serviram para a finalidade proposta neste trabalho.

O caminho está aberto para novas pesquisas, com oncogenes e outros marcadores, com novas subdivisões do estadiamento, nos diversos tipos histológicos, no campo morfométrico das células neoplásicas, para que possamos melhor entender o comportamento desta importante doença.

6. CONCLUSÃO

1. A mediana de sobrevida dos pacientes estudados foi de 25,9 meses, não havendo diferença por sexo.
2. A mediana de sobrevida de três anos por estágio foi de 73,4% para estágio I-B; 66,7% para II-A; 40,6% para II-B e 18,5 % para o estágio III-A.
3. A sobrevida mediana de três anos por tipo histológico foi de 51,6% nos carcinomas epidermóides; 28,5% nos adenocarcinomas; 24,5% nos carcinomas de grandes células e 0,0% no carcinoma adenoescamoso.
4. A sobrevida mediana de três anos por tipo de cirurgia foi de 52,0,2 % para lobectomia; 20,0 % para bi-lobectomia e 37,5% para pneumectomia.
5. Não houve relação do achado do c-erbB-2 com sexo, tipo de cirurgia, faixa etária, óbitos ou sobrevida.
6. Em pacientes com estadiamentos avançados das neoplasias pulmonares (II-B e III-A), o c-erbB-2 foi mais positivo, com diferença estatística em relação aos estádios I-A, I-B e II-A.
7. Não houve relação do marcador Ki-67 com sexo, tipo histológico, tipo de cirurgia, faixa etária, óbitos ou sobrevida.
8. Não houve relação do receptor para β -HCG com sexo, tipo histológico, tipo de cirurgia, faixa etária, óbitos ou sobrevida.
9. A curva de sobrevida de Kaplan-Meier, quando utilizado o teste de Cox-Mantel, mostrou nível de significância para tipo histológico do tumor ($p=0,04543$) e para estadiamento ($p=0,0179$).
10. Na análise multifatorial de Cox, levando em conta os tipos histológicos, encontramos significância de estadiamento ($p=0,0756$) e índice de Karnofsky ($p=0,0354$) para o carcinoma epidermóide; e de estágio oncológico ($p=0,01658$) para adenocarcinomas.



7. SUMMARY

Lung cancer is the leading cause of cancer mortality in the occident. In spite of the advances in lung cancer diagnosis and treatment, little has changed with respect to survival expectations.

Molecular biology and oncogenes show a new way regarding the lung cancer subject.

Seventy-eight patients with non-small cell lung cancer, who underwent thoracotomy for lung resection and survived more than one month after this procedure were reviewed.

Immunohistochemical staining for c-erb-2, Ki-67 and β -HCG was performed on dewaxed, formalin-fixed, paraffin sections of resected lung tumor utilizing microwave antigen retrieval. Mitosis was counted.

The median survival was 25.9 months. At the time the patients underwent the surgical procedure 3.8% were in stage I-A, 20.5% in stage I-B, 3.8% in stage II-A, 35.9% in stage II-B and 35.9% in stage III-A.

Lobectomy was performed in 46.2% of the patients and pneumectomy was performed in 42.3% percent of them.

The pathologic findings were: epidermoid carcinoma with 59% cases, adenocarcinoma with 34.6% cases, undifferentiated carcinoma with 5.1% cases and adenosquamous carcinoma in one patient.

C-erbB-2 immunohistochemical staining was more frequently identified in the advanced clinical stage of the disease.

C-erbB-2, Ki-67, mitosis and β -HCG were not important in Kaplan-Meier survival curves. Only stage group and histological type were statistically important in the same test.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACEVEDO, H.F.; TONG, J.Y.; HARTSOCK, R.J. – Human chorionic gonadotropin-beta subunit gene expression in cultured human fetal and cancer cells of different types and origins. **Cancer**, **76**: 1467-75, 1995.
- ADEBONOJO, S.A.; BOWSER, A.N.; MORITZ, D.M.; CORCORAN, P.C. - Impact of revised stage classification of lung cancer on survival: a military experience. **Chest**, **115(6)**: 1507-13, 1999.
- AL-KATTAN, K.; SEPSAS, E.; TOWNSEND, E.R.; FOUNTAIN, S.W. - Factors affecting long term survival following resection for lung cancer. **Thorax**, **51**: 1266-9, 1996.
- ALTMAN, D.G.; DE STAVOLA, B.L.; LOVE S.B.; STEPNIEWSKA, K.A. - Review of survival analyses published in cancer journals. **British Journal of Cancer**, **72**: 511-18, 1995.
- ANDERSON, M.L.M. & SPANDIDOS, D.A. - Oncogenes and onco-suppressor genes in lung cancer. **Respiratory Medicine**, **87**: 413-20, 1993.
- BACH, P.B.; CRAMER, L.D.; WARREN, J.L.; BEGG, C.B. - Racial differences in the treatment of early-stage lung cancer. **N. Engl. J. Med.**, **14**: 1198-205, 1999.
- BARRET, J.C. - Relationship between mutagenesis and carcinogenesis. In: BRUGGE, J.; CURRAN, T.; HARLOW, E.; McCORMICK, F. - **Origins of human cancer**. 3.ed. New York, 1991. p.101-12.
- BERGH, J.G.S. - Gene amplification in human lung cancer. **Am. Rev. Resp. Dis.**, **142**: S20-6, 1990.
- BIRRER, M.J. & BROWN, P.H. - Application of molecular genetics of the early diagnosis and screening of lung cancer. **Cancer Research (Suppl)** **52**: 2658s-64s, 1992.
- BIRRER, M.J. & MINNA, J.D. - Molecular genetics of lung cancer. **Semin. Oncol.**, **15(6)**: 226-35, 1988.

- BRANDT-RAUF, P.W.; LUO, J.C.; CARNEY, W.P.; SMITH, S.; DEVIVO, I.; MILLING, C.; KEMMINKI, K.; KOSKINEN, H.; VAINIO, H.; NEUGUT, A.I. - Detection of increased amounts of the extracellular domain of the c-erbB-2 oncoprotein in serum during pulmonary carcinogenesis in humans. **Int. J. Cancer**, **56**: 383-6, 1994.
- BRIEN, T.P.; ODZE, R.D.; SHEEHAN, C.E.; MCKENNA, B.J.; ROSS, J.S. - HER-2/neu gene amplification by FISH predicts poor survival in Barrett's esophagus-associated adenocarcinoma. **Hum. Pathol.**, **31**: 35-9, 2000.
- BRODER, L.E.; WEINTRAUB, B.D.; ROSEN, S.W. - Influence of chemotherapeutic agents on chorionic gonadotropin-alpha subunit secretion in a human lung cancer cell line (Cha-Go): discordance of cytotoxic and secretory effects. **J. Natl. Cancer Inst.**, **61**(2): 349-51, 1978.
- BUCCHERI, G. & FERRIGNO, D. - Prognostic value of stage grouping and TNM descriptors in lung cancer. **Chest**, **117** (5): 1247-55, 2000.
- BUNN JR, P.A.; SORIANO, A.; JOHNSON, G.; HEASLEY, L. - New therapeutic strategies for lung cancer: biology and molecular biology come of age. **Chest**, **117** Suppl 1 (4): 163S-8S, 2000.
- CALDAS, C. & PONDER, B.A.J. - Cancer genes and molecular oncology in the clinic. **Lancet**, **349**: S16-8, 1997.
- CAMARGO, J.J. - Abordagem cirúrgica do cancer de pulmão. **Rev.Méd. St. Casa**, **2** (4): 359-366, 1991.
- CAMPOS, K.N.; XIMENES NETTO, M.; SILVA, R.O.; FREITAS, L.A.M.; BERGER, R.; VIEIRA, L.F.; SCHIARINI, L.H. - Taxas de crescimento como fator prognóstico no câncer de pulmão / Growth rates as prognostic value in lung cancer. **J. Pneumol.**, **13**(2): 59-65, 1987.
- CANTERO, R.; TORRES, A.J.; MAESTRO, M.L.; HERNANDO, F.; SANZ, M.T.; BARCO, V.; GÓMEZ, A.; FERNÁNDEZ, C.; BALIBREA, J.L. - Prognostic value of the quantified expression of p185^{c-erbB2} in non-small cell lung cancer. **J. Thorac. Cardiovasc. Surg.**, **119**: 1119-25, 2000.

- CARBONE, D. - Smoking and cancer. *Am. Journ. of Med.*, **93** (Suppl 1A): 15-6, 1992.
- CARNEY, D.N. - Lung cancer biology. *Eur. J. Cancer*, **27**(3): 366-9, 1991.
- CHAN, V.T.W. & MCGEE, J.O'D. - Cellular oncogenes in neoplasia. *J. Clin. Pathol.*, **40**: 1055-63, 1987.
- CLINE, M.J. & BATTIFORA, H. - Abnormalities of protooncogenes in non-small cell lung cancer. *Cancer*, **60**: 2669-74, 1987.
- CORNIANU, M. & TUDOSE, C.M. - Immunohistochemical markers in the morphological diagnosis of lung carcinoma. *Rom. J. Morphol. Embryol.*, **43**(3-4): 181-91, 1997.
- D'AMICO, T.A.; MASSEY, M.; HERNDON II, J.E.; MOORE, M.B.; HARPOLE JR, D.H. - A biologic risk model for stage I lung cancer: immunohistochemical analysis of 408 patients with the use of ten molecular markers. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **117**: 736-43, 1999.
- DAVIDSON, B.; GOLDBERG, I.; LERNER-GEVA, L.; GOTTIEB, W.H.; BEN-BARUCH, G.; NOVIKOW, I.; KOPOLOVIC, J. - Expression of topoisomerase II and Ki-67 in cervical carcinoma-clinicopathological study using immunohistochemistry. *APMIS*, **108**(3): 209-15, 2000.
- DEMARCHI, L.M.; REIS, M.M.; PALOMINO, S.A.; FARHAT, C.; TAKAGAKI, T.Y.; BEYRUTI, R.; SALDIVA, P.H.; CAPELOZZI, V.L. - Prognostic values of stromal proportion and PCNA, Ki-67, and p53 proteins in patients with resected adenocarcinoma of the lung. *Mod. Pathol.*, **13**(5): 511-20, 2000.
- DESLAURIERS, J. & GREGOIRE, J. - Clinical and surgical staging of non-small cell lung cancer. *Chest*, **117**: 96s-103s, 2000.
- DESLAURIERS, J. & GREGOIRE, J. - Surgical therapy of early non-small cell lung cancer. *Chest*, **117**: 104s-9s, 2000.

- DIAZ PLASENCIA, J.; GRADOS MÉNDEZ, J.; POMATANTA PLASENCIA, J.; FONSECA RISCO, G.; CISNEROS INFANTAS, L. - Carcinoma de pulmón: aspectos epidemiológicos, clínicos-patológicos y de sobrevida a largo plazo / Lung neoplasms: aspects epidemiologics, clinical-pathologics and survival a longterm. **Bol. Soc. Peru. Med. Interna**, 11(2): 65-73, 1998.
- DICTION, M.; EHINGER, M.; MERTENS, F.; AKERVALL, J.; WENNERBERG, J. - Abnormal cell cycle regulation in malignancy. **Am. J. Clin. Pathol.**, 112 (Suppl 1): S40-S52, 1999.
- DIEST, P.J.; BAAK, J.P.A.; WILLIG, A.W.P.M.; KWEE, W.S.; AKERVALL, J.; ARIENS, A.T. - Reproducibility of mitosis counting in 2469 breast cancer specimens. **Hum. Pathol.**, 23: 603-7, 1992.
- DOWNEY, R.J. - Follow-up of patients with completely resected lung cancer. **Chest**, 115: 1487-9, 1999.
- DONHUIJSEN, K. - Mitosis counts: reproducibility and significance in grading of malignancy. **Hum. Pathol.**, 17: 1122-5, 1986.
- DONHUIJSEN, K.; SCHMIDT, U.; HIRCHE, H.; BEUNINGEN, D. - Changes in mitosis rate and cell cycle fractions caused by delayed fixation. **Hum. Pathol.**, 21: 709-14, 1990.
- DUARTE, H. - Câncer do pulmão: relação com tipo histológico, idade, sexo e tabagismo. São Paulo, 1995 (Tese Mestrado, Escola Paulista de Medicina).
- ENDL, E. & GERDES, J. - Postranslational modifications of the KI-67 protein coincide with two major checkpoints during mitosis. **J. Cell Physiol.**, 182(3): 371-80, 2000.
- FALLER, H.; BULZEBRUCK, H.; DRINGS, P.; LANG, H. - Coping, distress, and survival among patients with lung cancer. **Eu. J. Cancer**, 47(8): 193-7, 1999.

- FORTE, V.& SUCCI, J.C. – Cirurgia na neoplasia de pulmão. *J. Pneumol.*, 14(3): 87-91, 1988.
- FRAUMENI JR, J.F. - Epidemiology of cancer. In: BRUGGE, J.; CURRAN, T.; HARLOW, E.; McCORMICK, F. - **Origins of human cancer**. New York, 1991. p.171-181.
- FRIEDBERG, J.S. - Clinical Presentation of stage IIIA (N2) non-small cell lung cancer. **Chest**, 116(6): 497S-9S, 1999.
- GAIL, M.H.; EAGAN, R.T.; FELD, R.; GINSBERG, R.; GOODELL, B.; HILL, L.; HOLMES, C.; LUKEMAN, J.M.; MOUNTAIN, C.F.; OLDHAM, R.K.; PEARSON, F.G.; WRIGHT, P.W.; LAKE, W.H.; THE LUNG CANCER STUDY GROUP – Prognostic factors in patients with resected stage I non-small cell lung cancer: a report from the Lung Cancer Study Group. **Cancer**, 54: 1802-13, 1984.
- GARCÍA-YUSTE, M.; MATILLA, J.M.; DUQUE, J.L.; HERAS, F.; CEREZAL, L.J.; RAMOS, G. – Tratamiento quirúrgico del cáncer de pulmón: evaluación comparativa de los sistemas de estadificación de 1986 y 1997. Resultados en 500 pacientes consecutivos. *Arch. Bronconeumol.*, 36: 245-50, 2000.
- GAZDAR, A.F. - Molecular markers for the diagnosis and prognosis of lung cancer. **Cancer Suppl.**, 15(69): 6-9, 1992.
- GAZDAR, A.F.; CARNEY, D.N.; MINNA, J.D. - The biology of non-small cell lung cancer. **Seminars in Oncology**, (10): 123-35, 1983.
- GIACCONE, G. - Oncogenes and antioncogenes in lung tumorigenesis. **Chest**, 109: 130S-4S, 1996.
- GIATROMANOLAKI, A.; KOUKOURAKIS, M.I.; O'BYRNE, K.; KAKLAMANIS, L.; DICOGLLOU, C.; TRICHIA, E.; WHITEHOUSE, R.; HARRIS, A.L.; GATTER, K.C. - Non-small cell lung cancer: c-erbB-2 overexpression correlates with low angiogenesis and poor prognosis. **Anticancer Res.**, 16(6B): 3819-25, 1996.

- GINSBURG, R.J. – Lymph node involvement, recurrence, and prognosis in resected small, peripheral, non-small-cell lung carcinomas. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **111**: 1123-4, 1996.
- GINSBURG, R.J. – Resection of non-small cell lung cancer: how much and by what route. *Chest*, **112**: 203S-5S, 1997.
- GINSBURG, R.J.; HILL, L.D.; EAGAN, R.T.; THOMAS, P.; MOUNTAIN, C.F.; DESLAURIERS, J.; FRY, W.A.; BUTZ, R.O.; GOLDBERG, M.; WATERS, P.F.; JONES, D.P.; PAIROLERO, P.; RUBINSTEIN, L.; PEARSON, F.G. – Modern thirty-day operative mortality for surgical resections in lung cancer. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **86**: 654-8, 1983.
- GINSBURG, R.J. & PORT, J.L. – Surgical therapy of stage I and non-T3NO stage II non-small cell lung cancer. In: PASS, H.I.; MITCHELL, J.B.; JOHNSON, D.H.; TURRISI, A.T.; MINNA, J.D. - *Lung cancer*. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p.682-93.
- GOING, J.J. - Techniques of mitosis counting. *Hum. Pathol.*, **24**: 113-4, 1993.
- GRAZIANO, S.L. - Non-small cell lung cancer: clinical value of new biological predictors. *Lung Cancer*, **17** (Suppl 1q): S37-S58, 1997.
- GREATENS, T.M.; NIEHANS, G.A.; RUBINS, J.B.; JESSURUN, J.; KRATZKE, R.A.; MADDAUS, M.A.; NIEWOEHNER, D.E. - Do molecular markers predict survival in non-small-cell lung cancer?
- GROSSI, J.L.; YOUNES, R.N.; BARBUTO, J.A.M.; HADDAD, F.J.; DEHENZELIN, D. – Aplicação clínica dos marcadores tumorais séricos em carcinoma não-pequenas células do pulmão. *J. Pneumol.*, **26**(4): 175-82, 2000.
- GUEVARA, E.A. & TEJEIRO, I. – Cancer de pulmon: clinica, epidemiologia, histologia y terapéutico. *Rev.Soc.Med.Quir.Hosp.Emerg.Perez de Leon*, **28**(1):15-27,1997.

- GUIMARÃES, C.A.; NEVES, A.; FRANCO, C.A.B.; MORTATTI, R.; BETHLEM, N. - Tumores broncopulmonares, pleurais e costais. In: BETHLEM, N. - **Pneumologia**. 3.ed. Rio de Janeiro, Atheneu Ltda., 1984. p.383- 423.
- GUINEE JR, D.G.; TRAVIS, W.D.; TRIVERS, G.E.; DE BENEDETTI, W.P.; JETT, J.; COLBY, T.V.; TAZELAAR, H.; ABBONDANZO, S.L.; PAIROLERO, P.; TRASTEK, V.; CAPORASO, N.E.; LIOTTA, L.A.; HARRIS, C.C. - Gender comparison in human lung cancer: analysis of p53 mutations, anti-p53 serum antibodies and c-erbB-2 expression. **Carcinogenesis**, 16(5): 993-1002, 1995.
- GUREL, S.; DOLAR, E.; YERCI, O.; SAMLI, B.; OZTURK, H.; NAK, S.G.; GULTEN, M.; MEMIK, F. - The relationship between c-erbB-2 oncogene expression and clinicopathological factors in gastric cancer. **J. Pat. Med. Res.**, 27(2):74-8, 1999.
- HAAPASLO, H.; PESONEN, E.; COLLAN, Y. - Volume corrected mitotic index: the standart of mitotic activity in neoplasms. **Pathol. Res. Pract.**, 185: 551-4, 1989.
- HABER, D.A. & FEARON, E.R. - The promise of cancer genetics. **Lancet**, 351: SII1-SII8, 1998.
- HALL, E.J. - From chimney sweeps to oncogenes: the quest for the causes of cancer. **Radiology**, 179: 297-306, 1991.
- HARPOLE JR, D.H. - Prognostic issues in non-small cell lung cancer. **Chest**, 107: 267S-9S, 1995.
- HARPOLE JR, D.H.; HERNDON II, J.E.; WOLFE, W.G.; IGLEHART, J.D.; MARKS, J.R. - A prognostic model of recurrence and death in stage I non-small cell lung cancer utilizing presentation, histopathology, and oncoprotein expression. **J. Cancer Research**, 55: 51-6, 1995.
- HARPOLE JR, D.H.; RICHARDS, W.G.; HERNDON, J.E.; SUGARBAKER, D.J. - Angiogenesis and molecular biologic substaging in patients with stage I non-small cell lung cancer. **Ann. Thorac. Surg.**, 61: 1470-6, 1996.

- HARRIS, C.C.; BENNETT, W.P.; GERWIN, B.I.; IMAN, D.S.; LEHMAN, T.A.; METCALL, R.A.; PFEIFER, A.M.A.; REDDEL, R.R.; SUGIMURA, H.; WESTON, A. - Oncogenes and tumor suppressor genes involved in human lung carcinogenesis. In: BRUGGE, J.; CURRAN, T.; HARLOW, E.; McCORMICK, F. - **Origins of human cancer**. New York, 1991. p.739-44.
- HEIDEBRECHT, H.J.; BUCK, F.; HAAS, K.; WACKER, H.H.; PARWARESCH, R. – Monoclonal antibodies Ki-S3 and Ki-S5 yield new data on the 'Ki-67' proteins. **Cell Prolif.**, **29**: 413-25, 1996.
- HENSCHKE, C.I.; MCCAULEY, D.I.; YANKELEVITZ, D.F.; NAIDICH, D.P.; MCGUINNESS, G.; MIETTINEN, O.S.; LIBBY, D.M.; PASMANTIER, M.W.; KOIZUMI, J.; ALTORKI, N.K. - Early lung cancer action project: overall design and findings from baseline screenong. **Lancet**, **354**: 99-105, 1999.
- HILSENBECK, S.G. & ALLRED, D.C. - Improved methods of estimating mitotic activity in solid tumors. **Hum. Pathol.**, **23**: 601-2, 1992.
- HOYO, E.H.; PEDERNEIRA, A.; SPIZZAMIGLIO, N.; GALMÉS, M.A.; GOMEZ, P.A.; DESIDERIO, W.A.; GONZÁLEZ, F. – Lung cancer: correlation between node size and neoplastic invasion in resected patients. **S. Am. J. Thorac. Surg.**, **1(1)**: 19-22 1993.
- IANNETTONI, M. – Prognostic analysis in patients of lung cancer under surgical removal. **Ann. Thorac. Surg.**, **79**: 114-6, 1998
- ISHIDA, H.; IRIE, K.; ITOH, T.; FURUKAWA, T.; TOKUNAGA, O. - The prognostic significance of p53 and bcl-2 expression in lung adenocarcinoma and its correlation with Ki-67 growth fraction. **Cancer**, **15;80(6)**: 1034-45, 1998.
- IZBICKI, J.R.; KNOEFE, W.T.; PASSLICK, B.; HABEKOST, M.; KARG, O.; THETTER, O. - Risk analysis and long-term survival in patients undergoing extended resection of locally advanced lung cancer. **J. Thorac. Cardiovasc. Surg.**, **110**: 386-95, 1995.

- IZBICKI, J.R.; PASSLICK, B.; HOSCH, S.B. - Mode of spread in the early phase of lymphatic metastasis in non-small-cell lung cancer: significance of nodal micrometastasis. **J. Thorac. Cardiovasc. Surg.**, **112**: 623-30, 1996.
- IZBICKI, J.R.; PASSLICK, B.; KARG, O.; BLOECHLE, C.; PANTEL, K.; KNOEFEL, W.T.; THETTER, O. - Impact of radical systematic mediastinal lymphadenectomy on tumor staging in lung cancer. **Ann. Thorac. Surg.**, **59**: 209-14, 1995.
- JAKLITSCH, M.T.; BUENO, R.; SUCANSON, S.J.; MENTZER, S.T.; LUKANICH, J.M.; SUGARBAKER, D.J. - New surgical options for elderly lung cancer patients. **Chest**, **116**(6): 480S-5S, 1999.
- JAMESON, J.L. & HOLLENBER, A. - Regulation of chorionic gonadotropin gene expression. **Endocrine Reviews**, **14**(2): 203-21, 1993.
- JASSEM, J.; SKOKOWSKI, J.; DZIADZIUSZKO, R.; JASSEM, E.; RZYMAN, W.; ROSZKIEWICZ, A. - Results of surgical treatment of non-small cell lung cancer: validation of the new postoperative pathologic TMN classification. **J. Thorac. Cardiovasc. Surg.**, **119**: 1141-6, 2000.
- JETT, J.; FEINS, R.; KVALE, P.; MCCOLD, T.; MILLER, Y.W.; PERRY, M.; SAUSE, W.; SILVESTRI, G.; STOVER, D.; SPIRO, S.; TRAVIS, W. - ATS guidelines: pretreatment evaluation of non-small cell lung cancer-I. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, **156**: 320, 1997.
- JETT, J.R.; CORTESE, D.A.; FONTANA, R.S. - Lung cancer: current concepts and prospects. **Ca-A Cancer Journal for Clinicians**, **33**(2): 4-16, 1983.
- JOHNSON, B.E. - Biologic and molecular prognostic factors: impact of treatment of patients with non-small cell lung cancer. **Chest**, **107**: 287S-90S, 1995.
- KAYE, F.J.; KRATZKE, R.A.; GERSTER, J.L.; LIN, P.S. - Recessive oncogenes in lung cancer. **Am. Rev. Respir. Dis.**, **142**: S44-7, 1990.

- KERN, J.A.; SCHWARTZ, D.A.; NORDBERG, J.E.; WEINER, D.B.; GREENE, M.I.; TORNEY, L.; ROBINSON, R.A. - p185^{neu} expression in human lung adenocarcinomas predicts shortened survival. **Cancer Research**, **50**: 5184-91, 1990.
- KERN, J.A.; SLEBOS, R.J.C.; TOP, B.; RODENHUIS, S.; LAGER, D.; ROBINSON, R.A.; WEINER, D.; SCHWARTZ, D.A. - c-erbB-2 expression and codon 12 K-ras mutations both predict shortened survival for patients with pulmonary adenocarcinomas. **J. Clin. Invest**, **93**: 516-20, 1994.
- KERR, K.M.; CAREY, F.A.; KING, G.; LAMB, D. - Atypical alveolar hyperplasia: relationship with pulmonary adenocarcinoma, p53, and c-erbB-2 expression. **Journal of Pathology**, **174**: 249-56, 1994.
- KOMAKI, R.; MILAS, L.; RO, J.Y.; FUJII, T.; PERKINS, P.; ALLEN, P.; SIKES, C.R.; MOUNTAIN, C.F.; ORDONEZ, N.G. - Prognostic biomarker study in pathologically staged N1 non-small cell lung cancer. **Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.**, **40(4)**: 787-96, 1998.
- KUO, C.W.; CHEN, Y.M.; CHAO, J.Y.; TSAI, C.M.; PERNG, R.P. - Non-small cell lung cancer in very young and very old patients. **Chest**, **117**: 354-7, 2000.
- LACASA, F.C.; BENAVIDES, M. A.; MATEU, M.L.; BASAGANAS, M. S.; RAMIREZ, C.M.; GRAU, S. - Índices de Karnofsky para medir calidad de vida. **Rev Enferm**, **21 (233)**: 18-20, 1998.
- LAZCANO PONCE, E.; TOVAR GUSMÁN, V.; MENESES GONZÁLEZ, F.; RASCÓN PACHECO, R.A.; HERNÁNDEZ AVILA, M. - Trends of lung cancer mortality in México. **Arch. Med. Res.**, **28(4)**: 556-70, 1997.
- LECHNER, J.F. & FUGARO, J.M. - Ras and erbb. In: PASS, H.I.; MITCHELL, J.B.; JOHNSON, D.H.; TURRISI, A.T.; MINNA, J.D. - **Lung cancer**. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p.89-97.

- LEERS, M.P.G.; THEUNISSEN, P.H.M.H.; RAMAEKERS, F.C.S.; SCHUTTE, B. - Multi-parameter flow cytometric analysis with detection of the Ki-67-Ag in paraffin embedded mammary carcinomas. **Cytometry**, 27: 283-9, 1997.
- LEONG, S.; LIMA, C.M.R.; SHERMAN, C.A.; GREEN, M.R. - The 1997 International Staging System for non-small cell lung cancer: have all the issues been addressed? **Chest**, 115: 242-8, 1999.
- LEVINE, M.N.; BROWMAN, G.P.; GENT, M.; ROBERTS, R.; GOODYEAR, M. - When is a prognostic factor useful?: a guide for the perplexed. **Journal of Clinical Oncology**, 9(2): 348-56, 1991.
- LINNOILA, I. - Pathology of non-small cell lung cancer: new diagnostic approaches. **Hem. Onc. Cl. of North America**, 4(6): 1027-1051, 1990.
- LOSSO, L.C.; GHEFTER, M.C.; IMAEDA, C.J. - Lobectomia pulmonar video-assistida: uma alternativa minimamente invasiva na cirurgia torácica para ressecção pulmonar. **J. Pneumol**, 20 (3): 117-121, 1994.
- MÄKELÄ, T.P.; MATTSON, K.; ALITALO, K. - Tumour markers and oncogenes in lung cancer. **Eu. J. Cancer**, 27(10): 1323-7, 1991.
- MANGILI, F.; CIGALA, C.; ARRIGONI, G.; ROVERE, R.; GATTUSO, C.; SANTAMBROGIO, G.; GARANCINI, P. - Cell loss and proliferation in non-small cell lung carcinoma: correlation with histological subtype. **Eur. J. Histochem.**, 42(4): 287-95, 1998.
- MARTINEZ, J.L.; CHIFFLET, J.; DELBENE, R. - Mediastinal dissection in staging and treatment of lung cancer. **S. Am. Thorac. Surgt.**, 2: 26-9, 1994.
- MARTINI, N.; BURT, M.E.; BAINS, M.S.; MCCORMACK, P.M.; RUSCH, V.W.; GINSBERG, R.J. - Survival after resection of stage II non-small cell lung cancer. **Ann. Thorac. Surg.**, 54: 460-6, 1992.

- MARTINI, N.& GINSBERG, R.J. - Surgical Management. In: PEARSON, F.G.; DESLAURIERS, J.; GINSBERG, R.J.; HIEBERT, C.A.; McKNEALLY, M.F.; URSCHER JR, H.C. - **Thoracic surgery**. New York, Churchill Livingstone, 1995. p.690-705.
- MEHDI, S.A.; ETZELL, J.E.; NEWMAN, N.B.; WEIDNER, N.; KOHMAN, L.J.; GRAZIANO, S.L. - Prognostic significance of Ki-67 immunostaining and symptoms in resected stage I and II non-small cell lung cancer. **Lung Cancer**, **20(2)**: 99-108, 1998.
- MERRILL, R.M.; HENSON, D.E.; BARNES, M. - conditional survival among patients with carcinoma of the lung. **Chest**, **116(3)**: 697-703, 1999.
- METZE, K. – Fatores prognósticos em carcinomas do pulmão. Curso de atualização em patologia cirúrgica, Campinas, Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP, 1998.
- MILLER, A.B. - Epidemiology. In: PEARSON, F.G.; DESLAURIERS, J.; GINSBERG, R.J.; HIEBERT, C.A.; McKNEALLY, M.F.; URSCHER JR, H.C. - **Thoracic surgery**. New York, Churchill Livingstone, 1995. p.648-61.
- MILLER, Y.E. - Growth factors, oncogenes, and lung cancer. **Am. Rev. Respir. Dis.**, **132**: 178-9, 1985.
- MINNA, J.D. - Genetic events in the pathogenesis of lung cancer. **Chest**, **96(1)**: 17S-23S, 1989.
- MINNA, J.; MANECKJEE, R.; D'AMICO, D.; BADER, S.; BODNER, S.; BROERS, J.; BUCHHAGEN, D.; CARBONE, D.; CHIBA, I.; CURIEL, D.; FEDORKO, J.; GERADTS, J.; JENSEN, S.; KNUTSEN, T.; LINNOILA, I.; MTSUDOMI, T.; NAU, M.; OIE, H.; PASS, H.; RUSSEL, R.; STEINBERG, S.; TAKAHASHI, T.; UNGER, T.; VIALLET, J.; WHANG-PENG, J.; GAZDAR, A. - Mutations in dominant and recessive oncogenes, and the expression of opioid and nicotine receptors in the pathogenesis of lung cancer. In: BRUGGE, J.; CURRAN, T.; HARLOW, E.; McCORMICK, F. - **Origins of human cancer**. New York, 1991. p.781-9.

- MOLDVAY, J.; SCHEID, P.; WIWLD, P.; NABIL, K.; SIAT, J.; BORRELY, J.; MARIE, B.; FARRE, G.; LABIB, T.; POTTIER, G.; SESBOUE, R.; BRONNER, C.; VIGNAUD, J.M.; MARTINET, Y.; MARTINET, N. - Predictive survival markers in patients with surgically resected non-small cell lung carcinoma. **Clin. Cancer Res.**, **6(3)**: 1125-34, 2000.
- MOUNTAIN C.F. - Regional lymph node classification for lung cancer staging. **Chest**, **111**: 1718-23, 1997.
- MOUNTAIN, C.F. - International staging system for lung cancer. In: PASS, H.I.; MITCHELL, J.B.; JOHNSON, D.H.; TURRISI, A.T.; MINNA, J.D. - **Lung cancer**. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p.591-601.
- MOUNTAIN, C.F. - Revisions in the international system for staging lung cancer. **Chest**, **111**: 1710-17, 1997.
- MUERS, M.F.; SHEVLIN, P.; BROWN, J. - Prognosis in lung cancer: physicians' opinions compared with outcome and a predictive model. **Thorax**, **51**: 894-902, 1996.
- MULSHINE, J.L. - Reducing lung cancer risk. **Chest**, **116(6) Suppl**: 493S-6S, 1999.
- NARUKE, T.; TSUCHIYA, R.; KONDO, H.; ASAMURA, H.; NAKAYAMA, H. - Implications of staging in lung cancer. **Chest**, **112**: 242S-8S, 1997.
- NEMUNAITIS, J.; KLEMOW, S.; TONG, A.; COURTNWY, A.; JOHNSON, W.; MACK, M.; TAYLOR, W.; SOLANO, M.; STONE, M.; MALLAMS, J.; MUES, G. - Prognostic value of K-ras mutations, ras oncoprotein, and c-erbB-2 oncoprotein expression in adenocarcinoma of the lung. **Am. J. Clin. Oncol.** **21(2)**: 155-60, 1998.
- NOGUCHI, M.; KUROKAWA, T.; MATSUNO, Y.; MIZUNO, S.; SHIMOSATO, Y. - Pathology of small adenocarcinoma of the lung. **Cancer**, **75(12)**: 2844-2852, 1995.

- OKADA, M.; TSUBOTA, N.; YOSHIMURA, M.; MIYAMOTO, Y.; MATSUOKA, H. - Prognosis of completely resected pN2 non-small cell lung carcinomas: what is the significant node that affects survival? **J. Thorac. Cardiovasc. Surg.**, **118(2)**: 270-5, 1999.
- O'LEARY, T.J. & STEFFES, M.W. – Can you count on the mitotic index? **Hum. Pathol.**, **27**: 147-51, 1996.
- PAESMANS, M.; SCULIER, J.P.; THIRIAUX, J.; LIBERT, P.; SERGYSELS, R.; DABOUI, G.; MOMMEN, P.; KLASTERSKY, J. – Prognostic factors for patients with small cell lung carcinoma: analysis of series of 763 patients with follow-up of 5 years. **Cancer**, **89(3)**: 522-533, 2000.
- PAGE, D.L.; DUTT, P.L.; SIMPSON, J. - Techniques of mitosis counting. **Hum. Pathol.**, **24**: 114, 1993.
- PARK, B.J.; LOUIE, O.; ALTORKI, N. – Staging and the surgical management of lung cancer. **Radiologic Clinics of North America**, **38(3)**: 545-561, 2000.
- PASSLICK, B.; IZBICKI, J.R.; KUBUSCHOK, B.; THETTER, O.; PANTER, K. - Detection of disseminated lung cancer cells in lymph nodes: impact on staging and prognosis. **Ann Thorac Surg.**, **61**: 177-83, 1996.
- PASTORINO, U.; ANDREOLA, S.; TAGLIABUE, E.; PEZZELA, F.; INCARBONE, M.; SOZZI, G.; BUYSE, M.; MENARD, S.; PIEROTTI, M.; RILKE, F. – Immunocytochemical markers in stage I lung cancer: relevance to prognosis. **J. Clin. Oncol.**, **15**: 2858-65, 1997.
- PEARSON, F.G. - Non-small cell lung cancer role of surgery for stages I-III. **Chest**, **116(6) Suppl.**: 500S-2S, 1999.

- PENCE, J.C.; KERNS, B.M.; DODGE, R.K.; IGLEHART, D. - Prognostic significance of the proliferation index in surgically resected non-small-cell lung cancer. **Arch. Surg.**, **128**: 1382-90, 1993.
- PEREIRA, J.R.; IKARI, F.K.; MINAMOTO, H.; CASSIOLI, J.C.G. - Fatores de retardo no diagnóstico do câncer de pulmão: um problema de saúde pública. / Delay factors in the diagnosis of cancer lung: a problem of public health. **Rev. Paul. Méd.**, **109**(3): 109-12, 1991.
- PERERA, F.P.; SANTELLA, R.; BRANDT-RAUF, P.; KAHN, S.; JIANG, W.; MAYER, J. - Molecular epidemiology of lung cancer. In: BRUGGE, J.; CURRAN, T.; HARLOW, E.; McCORMICK, F. - **Origins of human cancer**. New York, 1991. p.219-36.
- PIERRE, R.; PETERS, J.; LORENZ, D.; SCHMIDT, D.; PARWARESCH, R. - Correlation between mitotic and Ki-67 labeling indices in paraffin-embedded carcinoma specimens. **Human Pathology**, **29**: 11, 1998.
- PINTO FILHO, D.R.; SPIANDORELLO, W.P.; VERDI, V.H.; LEONCIO, C.L. - Câncer de pulmão em Caxias do Sul: análise de 60 casos operados. / Lung cancer in Caxias do Sul: analysis of 60 operated cases. **Rev. Cient. AMECS**, **2**(2): 129-32, 1993.
- PROLLA, J.C.; FLORES, L.F.C.; DIETZ, J. - Mortalidade por câncer de pulmão (CID 162) no Rio Grande do Sul, Brasil, 1970-1982. **Jornal de Pneumologia**, **11**(3): 135-40, 1986.
- PUJOL, J.L.; SIMONY, J.; JOLIMOY, G.; JAFFUEL, D.; DEMOLY, P.; QUANTIN, X.; MARTY-ANE, C.; BOHER, J.M.; CHARPENTIER, R.; MICHEL, F.B. - Hypodiploidy, Ki-67 growth fraction and prognosis of surgically resected lung cancers. **Br. J. Cancer**, **74**(6): 964-70, 1996.
- RENS, M.T.M.; RIVIÈRE, A.B.; ELBERS, H.R.J.; BOSCH, J.M.M. - Prognostic assessment of 2,361 patients who underwent pulmonary resection for non-small cell lung cancer, stage I, II, and IIIA. **Chest**, **117**: 374-9, 2000.

- RICHARDSON, G.E. & JOHNSON, B.E. - The biology of lung cancer. **Seminars in Oncology**, 20(2): 1105-127, 1993.
- RIKKERT, M.G. & DIEPSTRATEN, A. M. - Performance status and comorbidity in elderly cancer patients compared with young patients with neoplasia and elderly patients without neoplastic conditions. **Cancer**, 82(4): 760-765, 1998.
- RUDOLPH, P.; PETERS, J.; LORENZ, D.; SCHMIDT, D.; PARWARESCH, R. - Correlation between mitotic and Ki-67 labeling indices in paraffin-embedded carcinoma specimens. **Human Pathology**, 29: 1216-22, 1998.
- SABÁS, A.A.; ABDALA, J.; ASSAF, A.R.; CISELLA, Y.; ROSAS, J.M.; CAPÓ, A.; ANGELIS, R.L.; ESTEVEZ, M.; ZAJUR, F.; VARGAS, L.; CIOCCA, D. - Cancer de pulmón: biología molecular. Experiencia inicial. **Rev. Argent. Cirug.**, 67: 163-7,, 1994.
- SCHNEIDER, P.M.; HUNG, M.C.; CHIOCCA, S.M.; MANNING, J.; ZHAO, X.; FANG, K.; ROTH, J.A. - Differential expression of the c-erbB-2 gene in human small cell and non-small cell lung cancer. **Cancer Research**, 49: 4968-71, 1989.
- SCHOLZEN, T. & GERDES, J. - The Ki-67 protein: from the known and the unknown. **J. Cell Physiol.**, 182(3): 311-22, 2000.
- SCHOTTENFELD, D. - Etiology and epidemiology of lung cancer. In: PASS, H.I.; MITCHELL, J.B.; JOHNSON, D.H.; TURRISI, A.T.; MINNA, J.D. - **Lung cancer**. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p.365-88.
- SHIELDS, P.G. & HARRIS, C.C. - Cancer risk and low-penetrance susceptibility genes in gene-environment interactions. **J. Clin. Oncol.**, 18: 2309-15, 2000.
- SHIELDS, T.W. - Carcinoma of the lung: a review. **Brasília Méd.**, 30(3/4): 25-42, 1993.
- SHIRAISHI, M.; NOGUCHI, M.; SHIMOSATO, Y.; SEKIYA, T. - Amplification of protooncogenes in surgical specimens of human lung carcinomas. **J. Cancer Research**, 49: 6474-9, 1989.

- SIMPSON, J. F.; DUTT, P. L.; PAGE, D.L. – Expression of mitosis per thousand cells and cell density in breast carcinomas. *Hum. Pathol.*, 23: 608-611, 1992.
- SITTEL, C.; RUIZ, S.; VOLLING, P.; KVASNICKA, H.M.; JUNGEHULSING, M.; ECKEL, H.E. - Prognostic significance of Ki-67 (MIBI), PCNA and p53 in cancer of the oropharynx and oral cavity. *Oral Oncol*, 35(6): 583-9, 1999.
- SLEBOS, R.J.C.; EVERS, S.G.; WAGENAAR, S.S.; RODENHUIS, S. - Cellular protooncogenes are infrequently amplified in untreated non-small cell lung cancer. *Br. J. Cancer*, 59: 76-80, 1989.
- SLEBOS, R.J.C. & RODENHUIS, S. - The molecular genetics of human lung cancer. *Eur. Respir. J.*, 2: 461-9, 1989.
- SLODKOWSKA, J.; SZTURMOWICZ, M.; RUDZINSKI, P.; GIEDRONOWICZ, D.; SAKOWICZ, A.; ANDROSIUK, W.; ZAKRZEWSKA-ROWINSKA E. - Expression of CEA and trophoblastic cell markers by lung carcinoma in association with histological characteristics and serum marker levels. *Eur. J. Cancer Prev.*, 7(1): 51-60, 1998.
- SMIT, E.F.; GROEN, H.J.M.; SPLINTER, T.A.W.; EBELS, T.; POSTMUS, P.E. - New prognostic factors in respectable non-small cell lung cancer. *Thorax*, 51: 638-46, 1996.
- SMITH, R.A. & GLYNN, T.J. – Epidemiology of lung cancer. *Radiologic Clinics of North America*, 38(3): 453, 2000.
- SMYTH, J.F. - Cancer genetics and cell and molecular biology. *Chest*, 109(5): Suppl. 125S-9S, 1996.
- SNYDER, R.W.; PICKENS, P.V.; KUKORA, J.S. - Breast engorgement, false positive pregnancy tests, and ectopic gonadotrophin production with bronchogenic carcinoma. *HCG Production in Brochogenic Carcinomas*, 4: 328-9, 1998.

- STEM, Y.; HEFFELFINGER, S.C.; WALNER, D.L.; COTTON, R.T. - Expression of Ki-67, tumor suppressor proteins, growth factor, and growth factor receptor in juvenile respiratory papillomatosis: Ki-67 and p53 as predictors of aggressive disease. **Otolaryngol. Head Neck Surg.**, **122(3)**: 378-86, 2000.
- SUZUKI, K.; NAGAI, K.; YOSHIDA, J.; NISHIMURA, M.; TAKAHASHI, K.; NISHIWAKI, Y. - The prognosis of surgically resected N2 non-small cell lung cancer: the importance of clinical n status. **The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery**: 145-53, 1999.
- SZABO, E. & SHAW, G.L. - Intermediate markers and molecular genetics of lung carcinogenesis. **Cancer Control JMCC**, **4(2)**: 109-17, 1997.
- SZABO, E.; BIRNER, M.J.; MULSHINE, J.L. - Early detection of lung cancer. **Seminars in Oncology**, **20(4)**: 374-82, 1993.
- SZTURMOWICZ, M.; WIATR, E.; SAKOWICZ, A.; SLODKOWSKA, J.; ROSZKOWSKI, K.; FILIPECKI, S.; ROWINSKA-ZAKRZEWSKA, E.R. - The role of human chorionic gonadotropin beta subunit elevation in small-cell lung cancer patients. **J. Cancer Res. Clin. Oncol.**, **121(5)**: 309-12, 1995.
- TAKADORO, H. - Câncer de pulmão: considerações sobre 300 casos. São Paulo, 1992. (Tese Doutorado – Escola Paulista de Medicina).
- TAKAMUCHI, K.; NAGAI, K.; SUZUKI, K.; YOSHIDA, J.; OHDE, Y.; NISHIWAKI, Y. - Clinical predictors of N2 disease in non small cell lung cancer. **Chest**, **117**: 1577-82, 2000.
- TATEISHI, M.; ISHIDA, T.; MITSUDOMI, T.; KANEKO, S.; SUGIMACHI, K. - Prognostic value of c-erbB-2 protein expression in human lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma. **Eur. J. Cancer**, **27(11)**: 1372-5, 1991.
- TEICH, N.M. - Oncogenes e câncer. In: FRANKS, L.M.; TEICH, N. - **Introdução à biologia celular e molecular do câncer**. São Paulo, Roca, 1990. p.193-219.

- THURER, R.L. - The definition of survival. *Chest*, **116(3)**: 593-4, 1999.
- TORO, I.F.C. - O valor da broncofibroscopia no diagnóstico conclusivo dos tumores visíveis. Campinas, 1991. (Tese Mestrado – Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP).
- TRAVIS, W.D.; LINDER, J.; MACKAY, B. - Classification, histology, cytology, and electron microscopy. In: PASS, H.I.; MITCHELL, J.B.; JOHNSON, D.H.; TURRISI, A.T.; MINNA, J.D. - **Lung cancer**. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p.453-95.
- TRIOZZI, P.L. & STEVENS, V.C. - Human chorionic gonadotropia as a target for cancer vaccines. *Oncol. Rep.*, **6(1)**:7-17, 1999.
- UEHARA, C.; JAMNIK, S.; SANTORO, I.L. - Câncer de pulmão. / Lung cancer. *Medicina (Ribeirão Preto)*, **31(2)**: 266-76, 1998.
- VIBERTI, L.; PAPOTTI, M.; ABBONA, G.C.; CELANO, A.; FILOSSO, P.L.; BUSSOLATI, G. - Value of Ki-67 immunostaining in preoperative biopsies of carcinomas of the lung. *Hum. Pathol.*, **28(2)**: 189-92, 1997.
- WALOP, W.; CHRÉTIEN, M.; COLMAN, N.C.; FRASER, R.S.; GILBERT, F.; HIDVEGI, R.S.; HUTCHINSON, T.; KELLY, B.; LIS, M.; SPITZER, W.O.; SUISSA, S. The use of biomarkers in the prediction of survival in patients with pulmonary carcinoma. *Cancer*, **65**: 2033-46, 1990.
- WEBB, A.; SCOTT-MARCKIE, P.; CUNNINGHAM, D.; NORMAN, A.; ANDREYEV, J.; O'BRIEN, M.; BENTESD, J. - The prognostic value of CEA, beta HGG, AFP, CA125, CA19-9 and c-erbB-2, beta HCG immunohistochemistry in advanced colorectal cancer. *Ann. Oncol.*, **6(6)**: 581-7, 1995.
- WEINBERG, R.A. - Oncogenes, tumor suppressor genes, and cell transformation: trying to put it all together. In: BRUGGE, J.; CURRAN, T.; HARLOW, E.; McCORMICK, F. - **Origins of human cancer**. New York, 1991. p.1-16.

- WILSON, T.S.; MCDOWELL, E.M.; MCINTIRE, R.; TRUMP, B.F. - Elaboration of human chorionic gonadotropin by lung tumors. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, **105**: 169-73, 1981.
- WÜNSCH Fº, V. - Riscos ocupacionais e câncer de pulmão. *J. Pneumol.*, **21(1)**: 34-42, 1995.
- XAVIER, F.; HENN, L.A.; OLIVEIRA, M.; ORLANDINE, L. - Comparação dos resultados dos diferentes tratamentos do câncer primário de pulmão: comparação da sobrevida após os diferentes tratamentos curativos / Results comparison of different treatments of primary cancer of the lung: survival compariosn after different curative treatments. *J. Bras. Med.*, **68(5)**: 64-80, 1995.
- YOKOTANI, T.; KOIZUMI, T.; NAKAGAWA, T.; ISOBE, T.; YOSHIMURA, M.; TSUBOTA, N.; KASEGAWA, K.; OHSAWA, N.; BABA, S.; YASUI, H.; NISHIMURA, R. - Expression of α and β genes of human chorionic gonadotropin in lung cancer. *Int. J. Cancer*, **71**: 539-44, 1997.
- YOSHIMOTO, T.; HIGASHINO, K.; HADA, T.; TAMURA, S.; NAKANISHI, N.; MITSUNOBU, M.; UEMATSU, K.; MATSUOKA, T.; TAKETA, K. - A primary lung carcinoma producing alpha-fetoprotein, carcinoembryonic antigen, and human chorionic gonadotropin. *Lung Carcinoma Producing AFP, CEA, and hCG*, **11**, 27442750, vol. 60.
- YOSHIMURA, M.; NISHIMURA, R.; MUROTANI, A.; MIYAMOTO, Y.; NAKAGAWA, T.; HASEGAWA, K.; KOIZUMI, T.; SHII, K.; BABA, S.; TSUBOTA, N. - Assessment of urinary β -core fragment of human chorionic gonadotropin as a new tumor marker of lung cancer. *Cancer*, **73(11)**: 2745-52, 1994.
- YOSHINO, I.; GOEDEGEBUURE, P.S.; PEOPLES, G.E.; PARIKH, A.S.; DIMAIO, J.M.; LYERLY, H.K.; GAZDAR, A.F.; EBERLEIN, T.J. - HER2/neu-derived peptides are shared antigens among human non-small cell lung cancer and ovarian cancer. *Cancer Research*, **54**: 3387-90, 1994.

- YOUNES, R.N.; GROSS, J.L.; DEHEINZELIN, D. - Follow-up in lung cancer. how often and for what purpose? **Chest**, **115(6)**: 1494-99, 1999.
- YU, D.; WANG, S.S.; DULSKI, K.M.; TSAI, C.M.; NICOLSON, G.L.; HUNG, M.C. - c-erbB-2/neu overexpression enhances metastatic potencial of human lung cancer cells by induction of metastasis-associated properties. **Cancer Research**, **54**: 3260-66, 1994.
- ZAMBON, L. - Carcinoma brônquico: análise de uma série de casos atendidos no ambulatório de oncopneumologia das disciplinas de pneumologia e cirurgia torácica da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP. Campinas, 1994. (Tese Doutorado – Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP).
- ZUKIN, M. & LILENBAUM, R. - Abordagem atual no tratamento da neoplásica de pulmão não-pequenas células avançada: revisão. **J. Pneumol**, **23(4)**: 193-6, 1997.



9. ANEXOS

Revisão da Classificação TMN para Estadiamento da Neoplasia Pulmonar

(traduzido de: Mountain, C.F. - Revisions in the Internacional System for Staging Lung Cancer.

Chest, (111): 1710-17, 1997

Tumor Primário (T)

Tx Tumor não visível por exame de imagens ou broncoscopia, com achado de células malignas no escarro ou lavado bronco-alveolar.

Tis Tumor in situ.

T0 Sem evidência do tumor primário.

T1 Tumor com até 3 cm, em parênquima pulmonar ou brônquio lobar, sem invasão da pleura visceral.

T2 Tumor com >3cm ou envolvendo brônquio principal (a mais de 2cm da carina); ou invadindo pleura visceral; ou com atelectasia ou pneumonia obstrutiva que não envolve todo o pulmão.

T3 Tumor de qualquer tamanho que invade: parede torácica, diafragma, pleura mediastinal, pericárdio, a menos de 2 cm da carina; atelectasia ou pneumonia obstrutiva que envolve todo o pulmão.

T4 Tumor de qualquer tamanho que invade: mediastino, coração, esôfago, carina, corpo vertebral, grandes vasos, traquéia; ou presença de nódulo satélite do tumor no mesmo lobo do tumor primário; derrame pericárdico ou pleural com células neoplásicas.

Nódulos Linfáticos

Nx	Linfonodos regionais não pesquisados.
N0	Linfonodos regionais sem metástase.
N1	Metástase nos linfonodos intrapulmonar ipsilateral.
N2	Metástase para linfonodos mediastinais ipsilateral ou subcarinais.
N3	Metástase para linfonodos contra-laterais, região escalênica ou supraclavicular.

Metástases à Distância

Mx	Metástase não pesquisada.
M0	Sem metástases à distância.
M1	Presença de metástases à distância.

Estádios	T	N	M
0	Tis	N0	M0
I-A	T1	N0	M0
I-B	T2	N0	M0
II-A	T1	N1	M0
II-B	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
III-A	T3	N1	M0
	T1-3	N2	M0
III-B	T4	Nq	M0
	Tq	N3	M0
IV	Tq	Nq	M1

Obs: q significando “qualquer” .

ESCALA DE KARNOFSKY

100	Normal, sem evidência da doença ou limitações.
90	Sintomas pouco importantes. Atividade normal.
80	Atividades normais com algumas restrições. Sintomas da doença.
70	Inábil para cuidar de si mesmo e sem condições de trabalhar.
60	Requer assistência ocasional.
50	Requer considerável assistência e cuidados médicos freqüentes.
40	Inválido, requerendo assistência especial e constante.
30	Severamente inválido. Geralmente hospitalizado. Morte não iminente.
20	Muito doente, hospitalização obrigatória.
10	Moribundo. Morte iminente.
0	Óbito.

Traduzido da padronização do Burznski Research Institute, Houston, USA.

Imuno-histoquímica

Cortes Histológicos: os blocos parafinados foram cortados no micrótomo em seções de 4µm foram colocadas em lâminas previamente lavadas e desengorduradas, tratadas em solução de organosilano a 25% em acetona (3-Aminopropil-trietoxi-silano-SIGMA cód. A3648). As lâminas com os cortes são deixadas a 110°C por 1 hora e em seguida é feita a reação de imunohistoquímica.

Técnica de Imunohistoquímica

Foram usados anticorpos primários de coelho anti-oncoproteína para c-erbB-2, da marca DAKO, lote A0485, com diluição de 1/300. A diluição foi realizada com BSA (Soro Albumina Bovina).

Reação de Imunoperoxidase:

Etapa I: desparafinização

1. Colocar o xilol na estufa a 110°C por +- 30 minutos. Fazer várias lavagens.
2. Xilol II e III em temperatura ambiente. Fazer várias lavagens.
3. Álcool absoluto I, II, III em temperatura ambiente. Fazer várias lavagens.
4. Lavagem em água corrente e destilada.
5. Bloqueio da peroxidase endógena: Incubar por 15 minutos em temperatura ambiente, em solução 3%: H₂O₂ (30%). 15ml
Metanol 135ml
6. Colocar em tampão citrato pH 6,0, em panela de vapor a +- 95°C por 30 min. Deixar esfriar por 15 minutos.

7. Lavagem em água corrente e destilada
8. Colocar em tampão PBS (phosphate buffer saline, pH 7,6)
9. Pingar os anticorpos primários específicos. Incubar em câmara úmida por 30 minutos a 37°.
10. Colocar na geladeira toda à noite

ETAPA II: Coloração

11. Retirar as lâminas da incubação com anticorpos primários e fazer 3 lavagens, no agitador, em PBS de 5 minutos cada a temperatura ambiente.
12. Secar com papel de filtro e pingar os anticorpos secundário biotinilado anti mouse a anti-rabbit LSAB2, kit Dako, Cód. K 0675 (este anticorpo é capaz de ligar-se ao primário e conjugar-se a biotina, e o complexo de peroxidase liga-se a estreptavidina e a bitoina), seguido de incubação por 30 minutos na estufa a 37° C.
13. Terminada a incubação, fazer 3 lavagens, em PBS de 5 minutos cada à temperatura ambiente.
14. Secar com papel filtro e pingar o strepto ABC-HRP LSAB-2 cod. K0675. Incubar por 30 minutos à 37°C em estufa.
15. Terminado o tempo, colocar as lâminas em tampão PBS e preparar o DAB (3,3 tetrahidrocloro de diamino-benzidina, SIGMA D5637), cromógeno de cor marrom que impregna o local onde ocorre reação. Sendo que:

DAB 60mg

PBS 100mg

H2O2 (30%) 500ug

DMSO 1ml (Dimethilsulfoxide)

Misturar a solução e colocar as lâminas para corar por 5 minutos.

16. Lavar em água corrente e passar em água destilada.

17. Contracorar com Hematoxilina de Mayer por 30 a 60 segundos. Lavar novamente.

18. Passar por alguns segundos em água amoniacal, por água corrente e destilada.

19. Desidratar por 3 passagens em álcool absoluto e 3 em xilol e montar as lâminas.

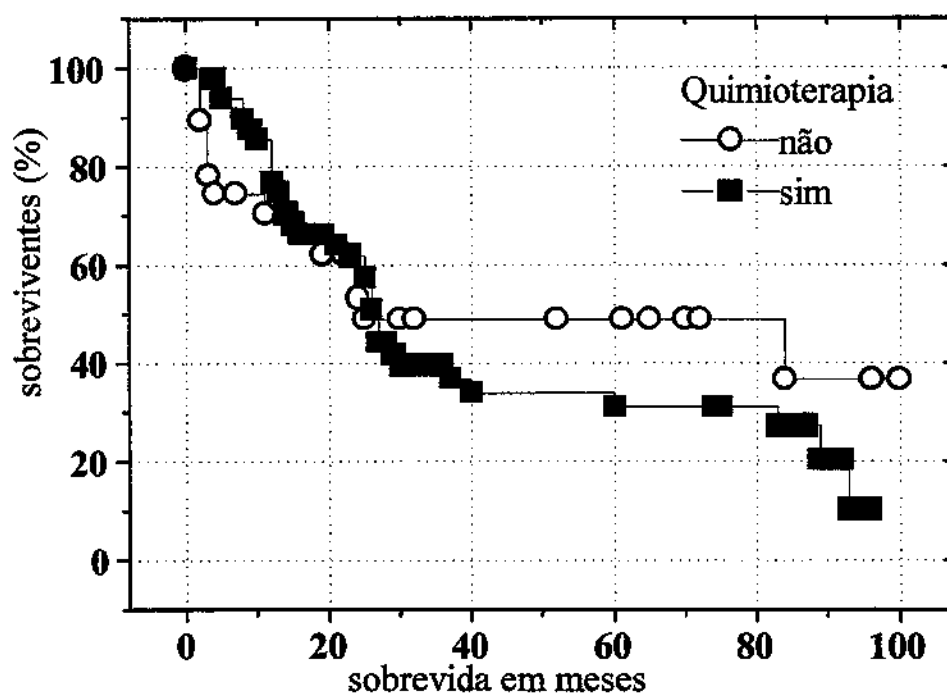


Figura 1: Curvas de sobrevida com relação ao tratamento quimioterápico

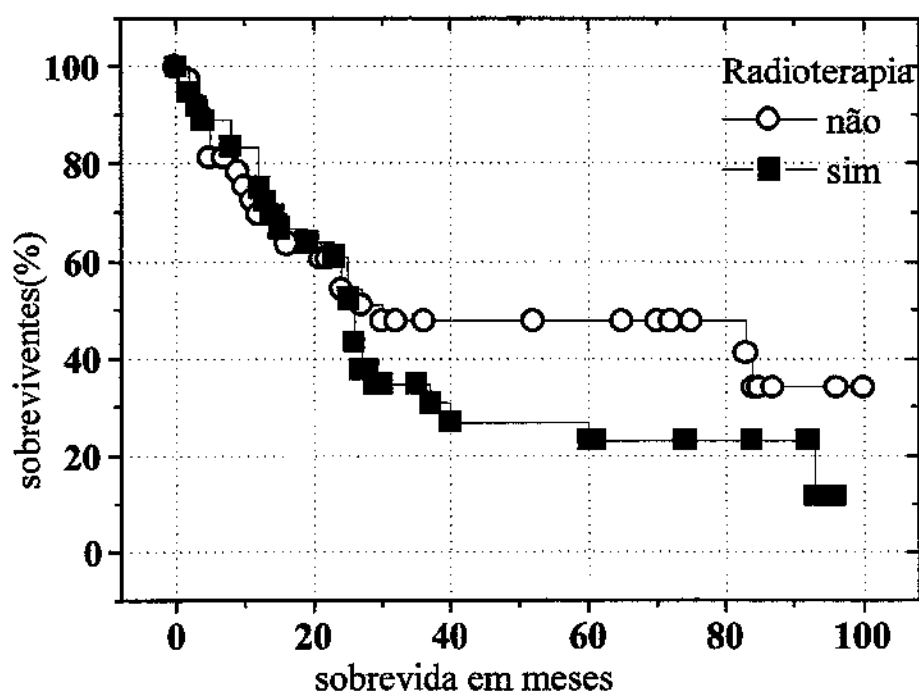


Figura 2: Curvas de sobrevida com relação ao tratamento radioterápico

Nome	Registro Hospitalar	KI-67 Posit./Campo	Núm. de Cél./Campo(ki-67)	Índice de KI-67	B-Hcg Posit./Campo	Núm. de Cél./Campo(B-Hcg)	Índice de B-Hcg
AC	3085958	18	113	0,159282035	1	110	0,009090909
AQL	380347-7	12	135	0,088888889	27	85	0,317647059
AOJ	26.95.61-3	0	0	0	2	100	0,02
ASML	26.33.34-8	0	0	0	10	40	0,25
ASS	31.68.71-4	38	188	0,191919192	12	14	0,857142857
AMG	282202-6	0	0	0	1	140	0,007142857
ABO	317197-9	49	222	0,220720721	6	75	0,08
ADD	244269-6	0	0	0	0	0	0
AD	200935-7	22	187	0,117647059	122	395	0,308860759
AG	371650-1	29	164	0,176829268	50	65	0,769230769
AJR	299849-1	87	288	0,302083333	20	98	0,208333333
ALD	24.42.68-6	37	214	0,172897196	0	0	0
AMM	314975-2	0	0	0	47	175	0,268571429
AP	185613-1	0	0	0	29	127	0,228346457
ARF	27.84.10-9	33	170	0,194117647	2	200	0,01
AAL	321431-3	28	165	0,16969697	30	107	0,280373832
BF	328397-0	50	268	0,186567164	2	140	0,014285714
BIV	24.68.19-1	13	81	0,160493927	3	90	0,033333333
BP	26.82.93-			0			0
BP	309397-4	0	0	0	35	135	0,259259259
BA	358679-0	44	255	0,17254902	1	180	0,00625
CB	32.00.92-6	35	188	0,186170213	13	27	0,481481481
CFS	28.69.98-7	41	307	0,133550489	40	145	0,275662059
CJO	353366-0	81	385	0,21038961	0	0	0
FBR	26.15.86-7	0	0	0	12	40	0,3
FSN	20.63.42-	0	0	0	41	81	0,50617284
GCR	01.81.55-5	0	0	0	5	180	0,027777778
GM	377865-0	0	0	0	0	0	0
JLS	363651-1	11	268	0,041044776	2	260	0,007692308
JTR	35.33.57-9	57	403	0,141439206	0	0	0
JAP	275330-2	20	89	0,202020202	36	165	0,218181818
JSP	28.12.34-2	0	0	0	1	115	0,008695652
JD	26.36.83-5	0	0	0	0	0	0
JFF	438580-6	10	63	0,158730159	0	0	0
JG	37.78.73-7	75	382	0,196335079	71	285	0,249122807
JLF	372809-1	0	0	0	0	0	0
JPN	45.00.51-5	16	95	0,168421053	13	170	0,076470588
LM	29.27.35-1	0	0	0	2	65	0,030769231
LCF	330462-3	19	195	0,087435897	17	28	0,607142857

NOME	Registro hospitalar	sexo	Idade (em anos)	diagnóstico anat.patol.
AC	3085958	masc.	60	adenocarcinoma
AOL	380347-7	masc.	61	epidermóide
AOJ	26.95.61-3	masc.	66	epidermóide
ASML	26.33.34-6	masc.	54	cel.mista
ASS	31.68.71-4	masc.	70	epidermóide
AMG	282202-6	fem.	60	epidermóide
ABO	317197-9	masc.	53	epidermóide
ADD	244269-6	masc.	56	adenocarcinoma
AD	200935-7	masc.	70	epidermóide
AG	371650-1	masc.	56	adenocarcinoma
AJR	299849-1	masc.	55	epidermóide
ALD	24.42.69-6	masc.	59	epidermóide
AMM	314975-2	masc.	53	ind.gde.cel.
AP	185613-1	masc.	61	epidermóide
ARF	27.84.10-9	masc.	56	epidermóide
AAL	321431-3	masc.	52	epidermóide
BF	328397-0	masc.	59	epidermóide
BFV	24.68.19-1	masc.	43	epidermóide
BP	26.82.93-	masc.	66	adenocarcinoma
BP	309397-4	masc.	63	epidermóide
BA	358679-0	masc.	59	epidermóide
CB	32.00.92-6	masc.	65	adenocarcinoma
CFS	28.69.96-7	masc.	45	adenocarcinoma
CJO	353386-0	masc.	55	epidermóide
FBR	26.15.86-7	masc.	66	epidermóide
FSN	20.63.42-	masc.	73	adenocarcinoma
GCR	01.81.55-5	fem.	58	adenocarcinoma
GM	377865-0	masc.	63	adenocarcinoma
JLS	363651-1	masc.	50	epidermóide
JTR	35.33.57-9	masc.	69	epidermóide
JAP	275330-2	masc.	60	epidermóide
JSP	28.12.34-2	masc.	47	adenocarcinoma
JD	26.36.83-5	masc.	59	epidermóide
JFF	438580-6	masc.	62	ind.gde.cel.
JG	37.78.73-7	masc.	61	epidermóide
JLF	372809-1	masc.	57	adenocarcinoma
JPN	45.00.51-5	masc.	67	adenocarcinoma
LM	29.27.35-1	masc.	49	epidermóide
LCF	330462-3	masc.	46	epidermóide

Nome	Registro Hospitalar	Estadiamento	Tipo de Cirurgia	Sobrevida (meses)	Óbito
AC	3085958	III-A	lobectomia	93	morto
AQL	380347-7	II-B	lobectomia	16	morto
AOJ	26.95.61-3	I-B	lobectomia	4	morto
ASML	26.33.34-6	III-A	pneumectomia	30	morto
ASS	31.68.71-4	II-A	lobectomia	89	morto
AMG	282202-6	I-B	lobectomia	96	vivo
ABO	317197-9	I-B	pneumectomia	84	morto
ADD	244269-6	II-B	lobectomia	37	morto
AD	200936-7	II-B	pneumectomia	100	vivo
AG	371650-1	II-B	pneumectomia	16	morto
AJR	299849-1	III-A	pneumectomia	9	morto
ALD	24.42.69-6	III-A	lobectomia	13	morto
AMM	314975-2	II-B	lobectomia	83	morto
AP	185613-1	I-B	pneumectomia	65	não conhecido
ARF	27.84.10-9	III-A	pneumectomia	5	morto
AAL	321431-3	II-B	lobectomia	12	morto
BF	328397-0	II-B	pneumectomia	60	não conhecido
BFV	24.68.19-1	II-B	lobectomia	11	morto
BP	26.82.93-	III-A	bilobectomia	10	morto
BP	308397-4	II-B	lobectomia	92	vivo
BA	358679-0	II-B	pneumectomia	26	morto
CB	32.00.92-6	III-A	lobectomia	27	morto
CFS	28.69.96-7	II-B	lobectomia	25	morto
CJO	353366-0	II-B	pneumectomia	75	vivo
FBR	26.15.86-7	II-B	lobectomia	21	morto
FSN	20.63.42-	III-A	pneumectomia	19	não conhecido
GCR	01.81.55-5	II-A	pneumectomia	19	morto
GM	377865-0	I-B	lobectomia	87	vivo
JLS	363651-1	I-B	lobectomia	22	não conhecido
JTR	35.33.57-9	II-B	bilobectomia	3	morto
JAP	275330-2	I-B	pneumectomia	24	morto
JSP	28.12.34-2	III-A	pneumectomia	2	morto
JD	26.36.83-5	III-A	pneumectomia	2	morto
JFF	438580-6	III-A	lobectomia	8	morto
JG	37.78.73-7	III-A	pneumectomia	10	não conhecido
JLF	372809-1	III-A	lobectomia	70	vivo
JPN	45.00.51-5	II-B	lobectomia	12	morto
LM	29.27.35-1	III-A	lobectomia	96	vivo
LCF	330462-3	III-A	pneumectomia	84	vivo

Nome	Registro Hospitalar	Núm. Mitoses	C-erbB-2	Núcleos	Índice de Mitose	Índice de C-erbB-2
AC	3085958	5	100	1260	0,0039683	0,079365079
AQL	380347-7	6	912	920	0,0065217	0,991304348
AQJ	26.95.61-3	10	0	1060	0,0094340	0
ASML	26.33.34-6	2	280	350	0,0057143	0,8
ASS	31.68.71-4	2	660	680	0,0029412	0,970588235
AMG	282202-6	5	1030	1140	0,0043860	0,903508772
ABO	317197-9	4	85	1210	0,0033058	0,070247934
ADD	244269-6	0	220	780	0,0000000	0,282051282
AD	200935-7	8	40	1100	0,0072727	0,036363636
AG	371650-1	3	75	890	0,0033708	0,084269663
AJR	299849-1	6	315	410	0,0146341	0,768292683
ALD	24.42.69-6	0	220	780	0,0000000	0,282051282
AMM	314975-2	1	0	260	0,0038462	0
AP	185613-1	6	70	1230	0,0048780	0,056910569
ARF	27.84.10-9	7	60	2000	0,0035000	0,03
AAL	321431-3	3	200	1250	0,0024000	0,16
BF	328397-0	4	290	1190	0,0033613	0,243697479
BFV	24.68.19-1	5	192	1160	0,0043103	0,165517241
BP	26.82.93-	777777777				
BP	309397-4	10	0	930	0,0107527	0
BA	358679-0	4	150	1400	0,0028571	0,107142857
CB	32.00.92-6	3	460	1190	0,0025210	0,386554622
CFS	28.69.96-7	4	0	770	0,0051948	0
CJO	353366-0	3	1	1850	0,0016216	0,000540541
FBR	26.15.86-7	6	160	970	0,0061856	0,164948454
FSN	20.63.42-	1	135	760	0,0013158	0,177631579
GCR	01.81.55-5	1	150	690	0,0014493	0,217391304
GM	377865-0	1	11	990	0,0010101	0,011111111
JLS	363651-1	4	6	1120	0,0035714	0,005357143
JTR	35.33.57-9	4	90	520	0,0076923	0,173076923
JAP	275330-2	4	17	1920	0,0020833	0,008854167
JSP	28.12.34-2	3	0	1050	0,0028571	0
JD	26.36.83-5	4	0	1750	0,0022857	0
JFF	438580-6	2	17	880	0,0022727	0,019318182
JG	37.78.73-7	1	15	900	0,0011111	0,016666667
JLF	372809-1	3	147	870	0,0034483	0,168965517
JPN	45.00.51-5	3	0	700	0,0042857	0
LM	29.27.35-1	1	0	314	0,0031847	0
LCF	330462-3	8	0	760	0,0105263	0

Nome	Registro Hospitalar	Ind. De Karnofsky	Quimioterapia	Radioterapia
AC	3085958	90	sim	sim
AQL	380347-7	70	não	não
AOJ	26.95.61-3	70	não	não
ASML	26.33.34-6	80	sim	não
ASS	31.68.71-4	90	sim	sem dados
AMG	282202-6	90	não	não
ABO	317197-9	80	não	não
ADD	244269-6	90	sim	sim
AD	200935-7	90	não	não
AG	371650-1	80	sim	não
AJR	299848-1	80	sim	não
ALD	24.42.69-6	70	sim	sim
AMM	314975-2	90	sim	não
AP	185613-1	100	não	não
ARF	27.84.10-9	100	sem dados	não
AAL	321431-3	80	sim	não
BF	328397-0	80	sim	sem dados
BFV	24.68.19-1	80	não	não
BP	26.82.93-		sem dados	
BP	309397-4	90	sim	sim
BA	358679-0	80	sim	sim
CB	32.00.92-6	80	sim	sim
CFS	28.69.96-7	90	sim	sim
CJO	353366-0	90	sim	não
FBR	26.15.86-7	80	sim	não
FSN	20.63.42-	80	sim	sim
GCR	01.81.55-5	90	não	sim
GM	377885-0	80	sim	não
JLS	363651-1	80	não	não
JTR	35.33.57-9	80	não	não
JAP	275330-2	90	não	não
JSP	28.12.34-2	90	não	sim
JD	26.36.83-5	80	não	sim
JFF	438580-6	80	sim	sim
JG	37.78.73-7	90	sim	não
JLF	372809-1	90	não	não
JPN	45.00.51-5	90	sim	sim
LM	29.27.35-1	80	sim	sim
LCF	330462-3	90	sim	sim

Nome	Registro Hospitalar	KI-87 Posit./Campo	Núm. de Cél./Campo(KI-87)	Índice de KI-87	B-Hcg Posit./Campo	Núm. de Cél./Campo(B-Hcg)	Índice de B-Hcg
LM	32.97.68-0	0	0	0	0	0	0
LRS	333577-5	14	163	0,08588571	0	0	0
MUQO	38.06.00-9	88	455	0,193406593	1	110	0,006090909
MGC	299849-1	0	0	0	21	81	0,259259259
MGC	28.22.14-9	17	88	0,193181818	3	42	0,071428571
MF	05.66.74-9	60	168	0,357142857	11	145	0,075662069
MRS	377615-3	13	85	0,152941176	22	78	0,282051282
NTC	402488-6	76	316	0,240506329	13	170	0,076470588
OSG	37.70.10-7	35	295	0,118644068	6	27	0,222222222
OB	369636-9	28	162	0,172839506	9	30	0,3
RMIMQ	38.45.28-3	0	0	0	0	0	0
SPC	401735-0	0	0	0	76	243	0,312757202
STL	320041-7	51	415	0,122891566	10	155	0,064516129
SG	32.14.22-2	30	108	0,277777778	80	140	0,571428571
TC	352626-1	0	0	0	30	57	0,526315789
TP	23.91.02-9	0	0	0	0	0	0
WS	41.21.78-1	0	0	0	5	105	0,047619048
WPJ	42.06.96-7	0	0	0	16	44	0,363636364
ZRO	23.88.69-2	60	278	0,215827338	0	0	0
ZM	236211-5	0	0	0	10	280	0,035714286
ZSL	473332-4	0	0	0	0	0	0
JME	473402-5	0	0	0	10	115	0,086956522
CLF	436760-4	50	352	0,142045455	0	0	0
JGR	482952-1	98	527	0,182163188	0	0	0
PLS	496810-3	0	0	0	0	0	0
JFG	522233-4	73	250	0,292	0	0	0
AIM	483587-8	98	308	0,318181818	0	0	0
EF	525541-0	0	0	0	16	34	0,470588235
MASR	515121-8	50	238	0,210084034	0	0	0
JCS	508142-5	26	275	0,094545455	80	80	1
ACS	530111-4	29	178	0,162921348	2	80	0,025
LIB	543440-2	31	220	0,140909091	11	110	0,1
ES	557800-2	85	325	0,261538462	15	34	0,441176471
CC	572722-5	0	0	0	18	48	0,375
ENS	544831-2	74	236	0,313559322	5	195	0,025641026
MACJ	528541-1	58	362	0,160220994	0	0	0
BNS	488861-8	0	0	0	15	35	0,428571429
OS	552966-7	108	800	0,135	8	83	0,086385542
TPG	525553-3	29	138	0,210144928	80	66	0,909090909

NOME	Registro hospitalar	sexo	idade (em anos)	diagnóstico anat.patol.
LM	32.97.68-0	masc.	64	epidermóide
LRS	333577-5	masc.	65	epidermóide
MJQO	38.08.00-9	fem.	63	epidermóide
MGC	299849-1	masc.	48	adenocarcinoma
MGC	28.22.14-9	masc.	62	adenocarcinoma
MF	05.66.74-9	masc.	62	ind.gde.cel.
MRS	377615-3	masc.	57	epidermóide
NTC	402488-6	fem.	63	epidermóide
OSG	37.70.10-7	masc.	55	epidermóide
OB	359536-9	masc.	52	epidermóide
RMMQ	38.45.26-3	fem.	54	adenocarcinoma
SPC	401735-0	fem.	62	epidermóide
STL	320041-7	masc.	60	epidermóide
SG	32.14.22-2	masc.	55	adenocarcinoma
TC	352626-1	masc.	57	adenocarcinoma
TP	23.91.02-9	masc.	64	epidermóide
WS	41.21.78-1	masc.	67	adenocarcinoma
WPJ	42.06.96-7	masc.	55	adenocarcinoma
ZRO	23.88.69-2	masc.	68	epidermóide
ZM	236211-5	masc.	65	adenocarcinoma
RSL	473332-4	masc.	64	epidermóide
JME	473402-5	masc.	53	epidermóide
CLF	436760-4	fem.	49	epidermóide
JGR	482952-1	masc.	65	epidermóide
PLS	496810-3	masc.	55	epidermóide
JFG	522233-4	masc.	72	epidermóide
AIM	483587-9	fem.	39	ind.gde.cel.
EF	525541-0	masc.	61	epidermóide
MASR	515121-8	fem.	53	epidermóide
JCS	508142-5	masc.	58	adenocarcinoma
ACS	530111-4	masc.	61	adenocarcinoma
IJB	543440-2	fem.	47	adenocarcinoma
ES	557800-2	masc.	67	epidermóide
CC	572722-5	masc.	70	adenocarcinoma
ENS	544831-2	masc.	65	adenocarcinoma
MACJ	528541-1	fem.	67	epidermóide
BNS	488861-8	fem.	58	epidermóide
OS	552966-7	masc.	64	adenocarcinoma
TPG	525553-3	fem.	67	adenocarcinoma

Nome	Registro Hospitalar	Estadiamento	Tipo de Cirurgia	Sobrevida (meses)	Óbito
LM	32.97.68-0	III-A	pneumectomia	5	morto
LRS	333577-5	I-B	lobectomia	85	vivo
MJQO	38.08.00-9	III-A	lobectomia	2	morto
MGC	299849-1	II-B	pneumectomia	14	morto
MGC	28.22.14-9	I-B	bilobectomia	25	morto
MF	05.66.74-9	II-B	bilobectomia	5	morto
MRS	377615-3	II-B	pneumectomia	72	vivo
NTC	402488-6	I-B	pneumectomia	32	não conhecido
OSG	37.70.10-7	III-A	lobectomia	26	morto
OB	359636-9	II-B	lobectomia	74	vivo
RMMQ	38.45.26-3	III-A	lobectomia	3	morto
SPC	401735-0	III-A	bilobectomia	26	morto
STL	320041-7	II-B	pneumectomia	29	morto
SG	32.14.22-2	II-B	lobectomia	40	morto
TC	352626-1	II-B	lobectomia	23	morto
TP	23.91.02-9	I-B	pneumectomia	52	não conhecido
WS	41.21.78-1	I-B	lobectomia	60	morto
WPJ	42.06.96-7	III-A	pneumectomia	10	morto
ZRO	23.88.69-2	I-A	lobectomia	28	vivo
ZM	236211-5	I-B	lobectomia	100	vivo
RSL	473332-4	III-A	lobectomia	12	morto
JME	473402-5	III-A	pneumectomia	4	morto
CLF	436760-4	II-B	bilobectomia	47	morto
JGR	482952-1	I-A	lobectomia	7	não conhecido
PLS	496810-3	I-A	bilobectomia	3	morto
JFG	522233-4	III-A	lobectomia	14	não conhecido
AIM	483567-9	II-B	lobectomia	25	morto
EF	525541-0	II-B	pneumectomia	36	vivo
MASR	515121-8	II-A	bilobectomia	35	vivo
JCS	508142-5	II-B	pneumectomia	27	morto
ACS	530111-4	III-A	pneumectomia	2	não conhecido
IJB	543440-2	III-A	pneumectomia	27	morto
ES	557800-2	I-B	lobectomia	32	vivo
CC	572722-5	I-B	bilobectomia	24	morto
ENS	544831-2	III-A	pneumectomia	12	morto
MACJ	528541-1	III-A	pneumectomia	15	morto
BNS	488861-8	I-B	lobectomia	30	vivo
OS	552966-7	II-B	bilobectomia	8	morto
TPG	525553-3	III-A	lobectomia	14	morto

Nome	Registro Hospitalar	Num. Mitoses	C-erbB-2	Núcleos	Índice de Mitose	Índice de C-erbB-2
LM	32.97.68-0	4	355	460	0,0086957	0,77173913
LRS	333577-5	2	0	1020	0,0019608	0
MJQO	38.08.00-9	8	0	1460	0,0054795	0
MGC	299849-1	4	0	800	0,0050000	0
MGC	28.22.14-9	4	500	1040	0,0038462	0,480769231
MF	05.66.74-9	6	0	1730	0,0034682	0
MRS	377615-3	4	0	1070	0,0037383	0
NTC	402488-6	6	570	570	0,0105263	1
OSG	37.70.10-7	0	664	1660	0,0000000	0,4
OB	359536-9	7	0	1550	0,0045161	0
RMMQ	38.45.26-3	3	720	1620	0,0018519	0,444444444
SPC	401735-0	2	180	750	0,0026667	0,24
STL	320041-7	7	100	750	0,0093333	0,133333333
SG	32.14.22-2	4	640	690	0,0057971	0,927536232
TC	352626-1	5	1	1330	0,0037594	0,00075188
TP	23.91.02-9	0	0	430	0,0000000	0
WS	41.21.78-1	8	0	1090	0,0073394	0
WPJ	42.06.96-7	1	0	520	0,0019231	0
ZRO	23.88.69-2	2	15	1140	0,0017544	0,013157895
ZM	236211-5	0	40	350	0,0000000	0,114285714
RSL	473332-4	0	0	760	0,0000000	0
JME	473402-5	4	0	1660	0,0024096	0
CLF	436780-4	0	5	1450	0,0000000	0,003448276
JGR	482952-1	8	1560	1830	0,0043716	0,852459016
PLS	496810-3	5	0	1200	0,0041667	0
JFG	522233-4	10	0	890	0,0112360	0
AIM	483587-9	2	220	1140	0,0017544	0,192982456
EF	525541-0	11	0	2560	0,0042969	0
MASR	515121-8	8	5	1730	0,0046243	0,002890173
JCS	508142-5	2	110	1120	0,0017857	0,098214286
ACS	530111-4	2	225	660	0,0030303	0,340909091
IJB	543440-2	4	667	980	0,0040816	0,680612245
ES	557800-2	4	5	700	0,0057143	0,007142857
CC	572722-5	0	450	800	0,0000000	0,5625
ENS	544831-2	3	95	770	0,0038961	0,123376623
MACJ	528541-1	1	0	3240	0,0003086	0
BNS	488861-8	1	420	810	0,0012346	0,518518519
OS	552966-7	3	240	1390	0,0021583	0,172661871
TPG	525553-3	1	210	520	0,0019231	0,403846154

Nome	Registro Hospitalar	Ind. De Karnofsky	Quimioterapia	Radioterapia
LM	32.97.68-0	80	sim	não
LRS	333577-5	90	sim	não
MJQO	38.08.00-9	90	não	não
MGC	299849-1	90	sim	sem dados
MGC	28.22.14-9	80	não	sim
MF	05.66.74-9	80	sim	não
MRS	377615-3	90	não	não
NTC	402488-6	80	não	não
OSG	37.70.10-7	60	sim	sim
OB	359536-9	90	sim	sim
RMMQ	38.45.26-3	80	não	não
SPC	401735-0	100	sim	sim
STL	320041-7	80	sim	sim
SG	32.14.22-2	90	sim	sim
TC	352626-1	90	sim	sim
TP	23.91.02-9	80	não	não
WS	41.21.78-1	90	sim	sim
WPJ	42.06.96-7	90	sim	não
ZRO	23.88.69-2	80	sim	sim
ZM	236211-5	80	não	não
RSL	473332-4	90	sim	sim
JME	473402-5	70	sim	sim
CLF	436760-4	100	não	sim
JGR	482952-1	100	não	não
PLS	496810-3	90	não	sim
JFG	522233-4	90	não	não
AIM	483587-9	80	sim	sim
EF	525541-0	90	sim	não
MASR	515121-8	90	sim	sim
JCS	508142-5	90	sim	sim
ACS	530111-4	80	não	não
IJB	543440-2	90	sim	não
ES	557800-2	90	sim	não
CC	572722-5	90	não	não
ENS	544831-2	80	sim	sim
MACJ	528541-1	80	sim	sim
BNS	488861-8	100	não	sim
OS	552966-7	80	sim	sim
TPG	525553-3	80	sim	sim