

1UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL (UFRGS)
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS PNEUMOLÓGICAS

**Relação da depleção linfocitária, após irradiação torácica com a
sobrevida, em pacientes com tumores de pulmão localmente avançados**

JULIANA MATIELLO

Porto Alegre

2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL (UFRGS)
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS PNEUMOLÓGICAS

Relação da depleção linfocitária, após irradiação torácica com a sobrevida, em pacientes com tumores de pulmão localmente avançados

JULIANA MATIELLO

Orientador: Prof. Dr. Danilo Cortozi Berton

Tese apresentada como requisito para obtenção de título de Doutora em Ciências Pneumológicas junto ao programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Porto Alegre

2020

Ficha cartográfica

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1	EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER DE PULMÃO NÃO DE PEQUENAS CÉLULAS	14
2.2	FORMAÇÃO DA NEOPLASIA	16
2.2.1	<i>Fatores de risco</i>	17
2.3	ESTADIAMENTO DO CÂNCER DE PULMÃO	19
2.4	DADOS MOLECULARES NO CPNPC	22
2.5	SISTEMA IMUNE HUMANO	23
2.5.1	<i>Sistema Imune Inato</i>	24
2.5.2	<i>Sistema Imune Adaptativo</i>	24
2.5.3	<i>Ativação do sistema imune pelas células tumorais</i>	25
2.5.4	<i>Receptores do sistema imune presentes no microambiente tumoral</i>	26
2.6	PILARES DO TRATAMENTO DA NEOPLASIA PULMONAR	27
2.6.1	<i>Cirurgia</i>	28
2.6.2	<i>Radioterapia</i>	31
2.6.3	<i>Quimioterapia</i>	34
2.6.4	<i>Imunoterapia</i>	35
2.6.5	<i>Imunoterapia e radioterapia combinadas contra o câncer</i>	37
3	JUSTIFICATIVA	39
4	OBJETIVOS	40
4.1	OBJETIVO GERAL	40
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	40
5	BIBLIOGRAFIA DO REFERENCIAL TEÓRICO	41
6	ARTIGO CIENTÍFICO	49
7	CONCLUSÕES	66
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS/PERSPECTIVAS FUTURAS	67
9	APÊNDICE	72

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AJCC:	<i>American Joint Commission on Cancer</i> (Comissão Conjunta Americana sobre Câncer)
EC:	Estádio Clínico
Gy:	<i>Gray</i> , unidade de medida de irradiação
GTV:	<i>Gross Tumoral Volume</i> (volume tumoral macroscópico)
PD-1:	<i>Programed cell death 1</i> (morte celular programada 1)
PDL1:	<i>PD-1 ligant</i> (ligante do PD-1)
PTV:	<i>Planned Tumoral Volume</i> (volume de irradiação)
CPCNP:	carcinoma pulmonar de células não pequenas.
CPPC:	carcinoma pulmonar de células pequenas
V5%:	volume recebido por órgão na dose de 5 <i>Grays</i>
V20%:	Volume recebido por órgão na dose de 20 <i>Grays</i>
α/β :	razão alfa/beta é a dose onde a morte celular por dano linear e dano quadrático é a mesma.
PFS:	<i>Progression Free Survival</i> (Tempo Livre de Progressão)
OS:	Overall Survival (Sobrevida Global)
TNM:	<i>Tumor, Nodes, Metastases</i> (sigla utilizada para definir tamanho tumoral, linfonodos e presença de metástase) da <i>AJCC</i> .
RTOG:	Radiation Therapy Oncology Group

LISTA DE TABELAS

Referencial teórico

Tabela 1. Descritores de TNM.....	21
Tabela 2. Categorização TNM.....	22
Tabela 3. Drogas presentes no mercado com função de bloqueio da via PD-1/PD-L1.....	37

Artigo Científico

Tabela 1. Baseline characteristics of included patients.....	61
Tabela 2. Results of multivariate Cox regression analysis for factors associated with progression and death.....	63

LISTA DE FIGURAS

Referencial teórico

- Figura 1. Estimativa de novos casos de câncer de pulmão no Brasil para 202014
- Figure 2. Taxas de mortalidade pelas neoplasias mais comuns no Brasil nas últimas 4 décadas.....15
- Figure 3. Gráficos comparativos sobre os tipos histológicos das neoplasias pulmonares mais incidentes entre homens e mulheres durante o tempo.....16
- Figura 4. Desenho representativo da localização celular do PD1- PDL1 e forma de adesão drogas anti PD-1 e antiPDL1.....27
- Figura 5. Infográfico sobre interação de tratamento na neoplasia pulmonar....28

Artigo Científico

- Figura 1: Total lymphocytes count versus post-irradiation time.....65
- Figura 2: Pearson's correlation between biologic dose and total lymphocytes..65

Considerações Finais

- Figura 1: Sobrevida global dos pacientes do estudo, não anexada ao artigo.....67
- Figura 2: Sobrevida livre de progressão dos pacientes do estudo.....68
- Figura 3: Representação gráfica do comportamento dos CD4 pelo tempo decorrido pós-irradiação.....68
- Figura 4: Representação gráfica do comportamento dos linfócitos totais e dos linfócitos CD4 durante o tempo.....69
- Figura 5: Gráfico da variação do índice CD4/CD8 aos dois meses e variação de linfócitos totais aos 6 meses.....69

Figura 6: Representação gráfica de uma análise de correlação de Pearson da razão CD4/Linfócitos totais e volume de pulmão recebendo 5Gy.....71

RESUMO

Neste estudo foi avaliado o impacto da radiação torácica em pacientes com câncer de pulmão de células não pequenas (NSCLC), considerando a depleção de linfócitos totais, uso ou não de quimioterapia e doses de radiação em tecido pulmonar saudável. Quarenta e seis pacientes com NSCLC estágio III, ECOG 1 e 2, recebendo radioterapia com ou sem quimioterapia, foram avaliados prospectivamente de abril de 2016 a agosto de 2019, com um seguimento médio de 13 meses (intervalo interquartil, 1-39 meses). Todos os pacientes foram tratados com radioterapia tridimensional e receberam doses biologicamente eficazes ($BED_{10\alpha/\beta}$) de 48 a 80 Gy. A contagem total de linfócitos do sangue periférico foi medida no início da radioterapia e 2, 6 e 12 meses após a irradiação torácica. Junto com os linfócitos, PTV e doses de 5 Gy e 20 Gy em tecido pulmonar saudável, também, foram avaliados como fatores potenciais que influenciam a sobrevida global (OS) e a sobrevida livre de progressão (PFS). A mediana da OS foi de 22,8 meses (IC 95% 17,6 a 28,1) e a PFS mediana foi de 19,5 meses (IC 95%: 14,7 a 24,2). A maioria dos pacientes recebeu quimioterapia concomitante ou neoadjuvante (43; 93,4%). Nenhum paciente recebeu imunoterapia adjuvante. Quanto menor a perda de linfócitos em 6 meses após a radioterapia (a cada 100 linfócitos/mcL), maior a chance de PFS (HR, 0,44; IC de 95%, 0,25-0,77; $p = 0,004$) e OS (HR, 0,83; 95% CI, 0,70-0,98; $p = 0,025$; $p = 0,025$). BED foi um fator de proteção para ambos PFS (HR, 0,52; IC 95% 0,33-0,83; $p = 0,0006$) e OS (HR, 0,73; IC 95% 0,54-0,97; $p = 0,029$). Os resultados desta pesquisa sugerem que a depleção de linfócitos, após a radioterapia, reduz o controle do tumor e a sobrevida em pacientes com câncer de pulmão em estágio III.

Palavras-chave: contagem de linfócitos; câncer de pulmão de células não pequenas; irradiação torácica; sobrevivência; sobrevivência sem progressão.

ABSTRACT

We evaluated the impact of thoracic radiation in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC), considering the depletion of total lymphocytes, use or not of chemotherapy, and radiation doses in healthy lung tissue. Forty-six patients with stage III NSCLC, ECOG 1 and 2, receiving radiotherapy with or without chemotherapy were prospectively evaluated from April 2016 to August 2019, with a median follow-up of 13 months (interquartile range, 1-39 months). All patients were treated with three-dimensional radiotherapy and received biologically effective doses (BED₁₀ α/β 10) of 48 to 80 Gy. Peripheral blood lymphocyte total counts were measured at the start of radiotherapy and at 2, 6 and 12 months after radiotherapy. Along with lymphocytes, PTV and doses of 5 Gy and 20 Gy in healthy lung tissue were also evaluated as potential factors influencing overall survival (OS) and progression-free survival (PFS). The median of OS of all cohort was 22,8 months (IC 95% 17,6 a 28,1) and the median PFS was 19,5 months (IC 95%: 14,7 a 24,2). Most patients received concurrent or neoadjuvant chemotherapy (43; 93.4%). No patient received adjuvant immunotherapy. The lower the lymphocyte loss at 6 months after radiotherapy (every 100 lymphocytes/mcL), the greater the chance of PFS (HR, 0.44; 95%CI, 0.25-0.77; $p=0.004$) and OS (HR, 0.83; 95%CI, 0.70-0.98; $p=0.025$; $p=0.025$). BED was a protective factor for both PFS (HR, 0.52; 95%CI 0.33-0.83; $p=0.0006$) and OS (HR, 0.73; 95%CI 0.54-0.97; $p=0.029$). Our results suggest that lymphocyte depletion after radiotherapy reduces tumor control and survival in patients with stage III lung cancer.

Keywords: lymphocyte count; non-small-cell lung cancer; thoracic irradiation; survival; progression-free survival.

RESUMO PARA LEIGOS

O câncer de pulmão é um dos tumores mais frequentes no Brasil e no mundo e, conquanto seja comum e muito estudado, os tumores pulmonares malignos acabam tendo alta mortalidade. Os motivos de tal ocorrência são, em primeiro lugar, em razão do diagnóstico tardio desses tumores e, em segundo, por ainda não haver tratamentos altamente eficazes para este grupo de pacientes.

Há mais de uma década o tratamento de escolha para os pacientes com tumores avançados de pulmão, mas sem metástase, foi estabelecido a partir de trabalhos científicos robustos e consiste na combinação de quimioterapia e radioterapia. A radioterapia é o tratamento local contemplando todo o tumor visível; e a quimioterapia é o tratamento sistêmico.

O tratamento radioterápico do tórax pode afetar a contagem de linfócitos no plasma, que são reconhecidamente importantes como parte do sistema imune de combate ao câncer. Assim, estabelecida a evidência de que a radioterapia deva ser utilizada como tratamento local do câncer de pulmão, na impossibilidade de cirurgia curativa (indicada para tumores pequenos), este trabalho se dedicou a analisar a queda e o tempo de diminuição das células de defesa ocasionados pela radioterapia.

Recentemente, um estudo mostrou potencial benefício em controle e prolongamento da vida em portadores desta doença que adicionavam, à radioquimioterapia, uma classe emergente de tratamento que modulava o sistema imunológico (imunoterapia). Também há dados recentes que indicam que esta classe de drogas com ação antitumoral baseada na amplificação da atividade imunológica age melhor quanto maior for o número das células linfócitos dos pacientes.

Este trabalho analisou pacientes submetidos à radioterapia por câncer de pulmão localmente avançado, tratamento esse associado, na grande maioria, à quimioterapia. Os resultados mostraram que pacientes submetidos à irradiação em grandes volumes têm redução do número de linfócitos, células

de defesa, atingindo praticamente 50% do valor basal nos primeiros dois meses após a radioterapia e, depois de 12 meses, o paciente ainda mantém seus linfócitos abaixo dos níveis basais. Essa alteração de linfócitos foi associada com pior controle local da doença e da sobrevida.

Dados deste estudo também evidenciaram que doses maiores de irradiação são importantes para o controle local do tumor e também para ampliar o tempo de vida dos pacientes. Não foram avaliados separadamente os pacientes que realizaram doses altas ou convencionais de radioterapia por fração, visto ter sido baixo o número de pacientes com doses não convencionais neste estudo. Entretanto ficou demonstrada a importância do tratamento radioterápico no tratamento desses pacientes, e que doses biológicas mais baixas tiveram piora da sobrevida. Doses inferiores de irradiação foram utilizadas em pacientes cujo dano em medula espinhal ou pulmão sadio trariam grande chance de seqüela grave, como paraplegia ou insuficiência respiratória limitante.

Estudos prévios relatam que volumes pequenos de irradiação (doses altas em áreas pequenas) em pacientes com tumores menores, em substituição a doses fracionadas baixas ao dia, tem revelado melhora no controle local e sobrevida e ainda podem poupar as células de defesa.

Observou-se que a queda pronunciada das células de defesa ocasionadas pela irradiação foi associada com pior controle local e sobrevida desses pacientes, mas a radioterapia com doses biológicas altas indicou resultados de melhor sobrevida. Estratégias de irradiação com tempo mais curto e doses mais altas diárias, em substituição das doses convencionais, isto é, tratamento protraído, podem ser uma opção a ser analisada em momento sequencial e breve para tentativa de manutenção das células de defesa. Outra possibilidade em aberto é, ao saber que radioterapia diminui linfócito – e este é importante para a imunoterapia –, avaliar a postergação da irradiação para momento ulterior ao tratamento sistêmico com drogas imunológicas.

1 INTRODUÇÃO

A radioterapia é amplamente utilizada nos tratamentos oncológicos. Faz parte do arsenal de cura de grande parte das neoplasias, mas não sem adicionalmente causar efeitos tóxicos. As células saudáveis, assim como as tumorais, podem entrar em apoptose pelo dano em DNA ocasionado pela irradiação, sendo que, dentre tais células, os linfócitos estão entre as que apresentam maior sensibilidade à irradiação.

Assim, embora a irradiação possa ter um efeito deletério máximo sobre as células tumorais, o número de linfócitos circulantes também diminui e, conseqüentemente, a imunidade.

Dados clínicos mostram que a manutenção das imunidades celular e humoral é parte necessária para a eliminação de tumores, e, diante da diminuição da imunidade causada pela redução de linfócitos, há comprometimento dos mecanismos responsáveis pela eliminação das células neoplásicas. Além disso, uma gama de novas drogas da classe dos imunoterápicos está em franco desenvolvimento e estudo, com algumas medicações rapidamente consolidadas no tratamento do câncer pulmonar e de células não pequenas (CPNPC). Dados iniciais mostram que seu funcionamento depende também do número e efetividade de linfócitos do paciente.

A irradiação torácica por neoplasia pulmonar localmente avançada e não metastática pode reduzir a contagem de linfócitos plasmáticos durante e após a aplicação e comprometer a sobrevida global e sobrevida livre de doença. Por sua vez, o volume de irradiação pulmonar, dose e dias de tratamento, também, é um parâmetro importante que influencia esses desfechos. Nesse contexto, visou-se investigar prospectivamente os efeitos da dose de irradiação torácica efetiva e redução da contagem de linfócitos pós-radioterapia na sobrevida de pacientes com câncer de pulmão não de pequenas células localmente avançados.

Os resultados desta pesquisa poderão indicar a necessidade de adição de cuidados com a população de linfócitos dos pacientes irradiados, seja por alterações em planejamento radioterápico, dose, volume ou dias de irradiação, seja por drogas que possam permitir a manutenção deles. Outra possibilidade é de que o momento da irradiação possa ser adiado para após o início da imunoterapia.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER DE PULMÃO NÃO DE PEQUENAS CÉLULAS

Aproximadamente 30 mil novos casos de câncer de pulmão são esperados no Brasil por ano (1) (Figura 1). Embora esteja em quarta posição de frequência entre os tumores mais comuns entre as mulheres, e o terceiro entre os homens, desconsiderando tumores de pele, o câncer de pulmão é o responsável pela maioria dos óbitos por neoplasia maligna no Brasil. No mundo, o câncer de pulmão encabeça a lista da incidência de novos casos e da mortalidade (2). Na Figura 2 é possível perceber o comportamento da mortalidade por câncer nas quatro últimas décadas, restando evidenciado, de forma inequívoca, de que o câncer de pulmão é responsável pela maior mortalidade por câncer (1). Conforme dados do Instituto Nacional do Câncer (Inca), apenas 16% das neoplasias de pulmão dos brasileiros são diagnosticadas em estágio inicial, todos os demais engrossam o percentual de pacientes que diagnosticam seus tumores já nos estádios clínicos (EC) III e IV.

Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2020 por sexo, exceto pele não melanoma*

Localização primária	Casos	%			Localização primária	Casos	%
Próstata	65.840	29,2%	Homens  Mulheres 		Mama feminina	66.280	29,7%
Cólon e Reto	20.540	9,1%		Cólon e Reto	20.470	9,2%	
Traqueia, Brônquio e Pulmão	17.760	7,9%		Colo do útero	16.710	7,5%	
Estômago	13.360	5,9%		Traqueia, Brônquio e Pulmão	12.440	5,6%	
Cavidade Oral	11.200	5,0%		Glândula Tireoide	11.950	5,4%	
Esôfago	8.690	3,9%		Estômago	7.870	3,5%	
Bexiga	7.590	3,4%		Ovário	6.650	3,0%	
Linfoma não Hodgkin	6.580	2,9%		Corpo do útero	6.540	2,9%	
Laringe	6.470	2,9%		Linfoma não Hodgkin	5.450	2,4%	
Leucemias	5.920	2,6%		Sistema Nervoso Central	5.230	2,3%	

Figura 1. Estimativa de novos casos de câncer de pulmão no Brasil para 2020.

Fonte: Inca (1)

Taxas de mortalidade das 5 localizações primárias mais frequentes em 2016, ajustadas por idade, pela população mundial, por 100.000 homens e mulheres, Brasil, entre 1979 e 2016.

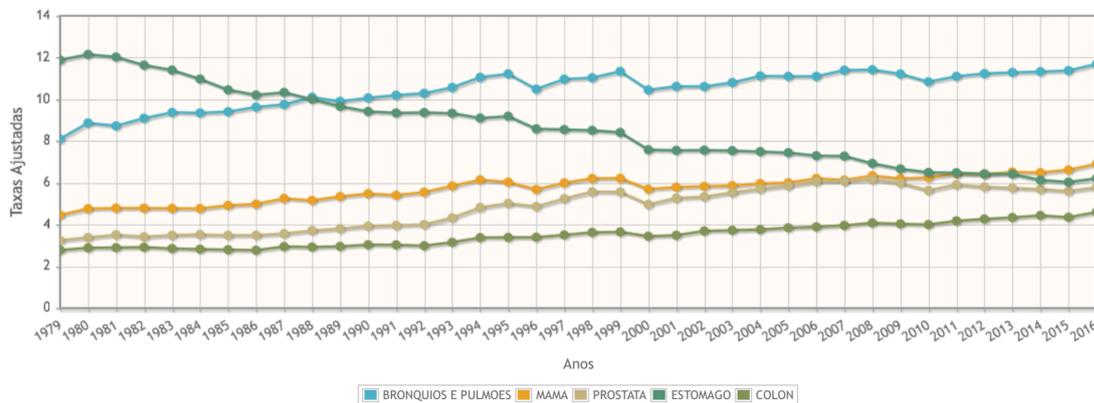


Figura 2. Taxas de mortalidade pelas neoplasias mais comuns no Brasil, nas últimas quatro décadas.

Fonte: Inca on-line (1)

Existem dois tipos principais de câncer pulmonar, o CPNPC, que engloba o tumor escamoso, o adenocarcinoma e o de grandes células; e o câncer de pulmão de células pequenas (CPPC), um tumor neuroendócrino muito agressivo. A porcentagem de CPCNP perfaz em torno de 85% de todos os tipos de cânceres de pulmão. Atualmente, o tipo patológico mais frequente é o adenocarcinoma, mas o cenário foi diferente há alguns anos. Na Figura 3 é possível visualizar, no início dos anos de 1990, que o tumor de célula escamosa perdeu o primeiro lugar em frequência para o adenocarcinoma (3). Essa diferença na proporção dos tipos patológicos de câncer de pulmão ao longo dos anos pode ser acompanhada na Figura 3.

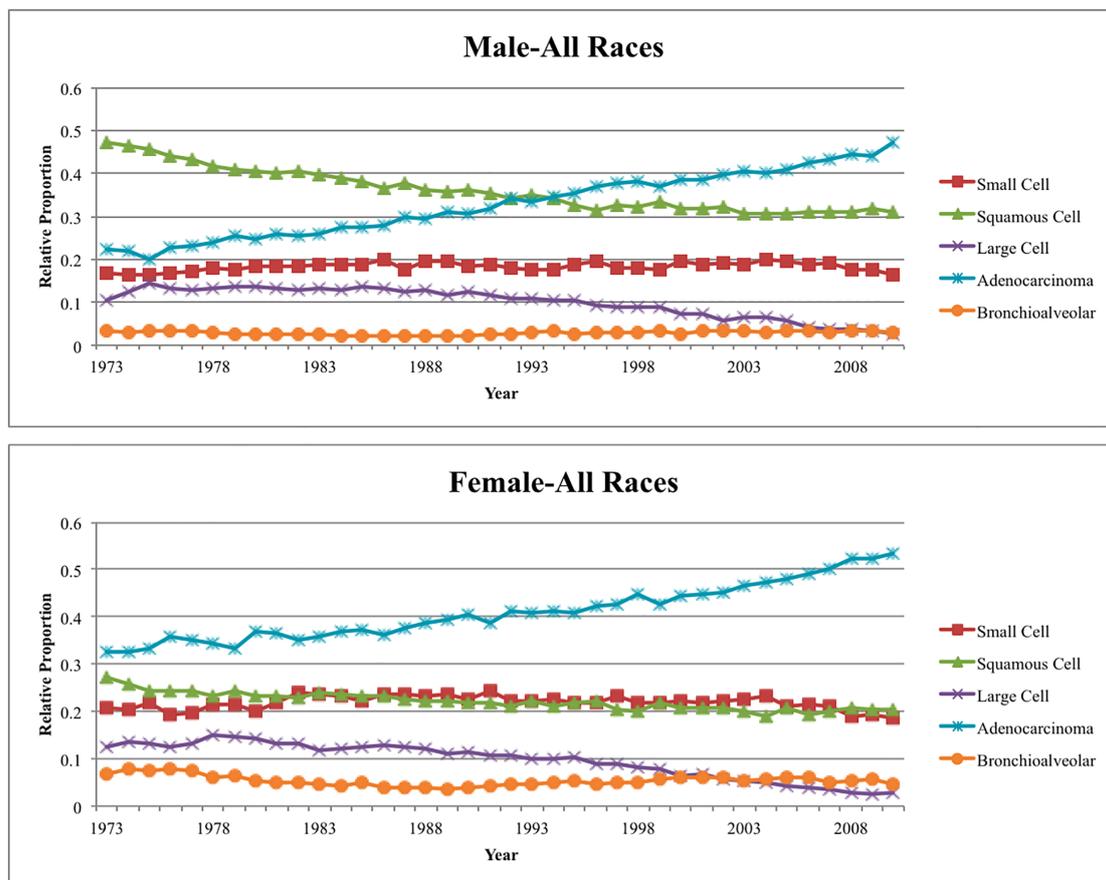


Figura 3. Gráficos comparativos sobre os tipos histológicos mais incidentes entre homens e mulheres durante o tempo.

Fonte: Tabela adaptada de dados de Mezza (3)

2.2 FORMAÇÃO DA NEOPLASIA

Atualmente, o conhecimento sobre a gênese das neoplasias é uma das grandes armas para o desenvolvimento de terapias antineoplásicas. Análises moleculares do tumor em si e do sistema de ação imunológico contra eles têm trazido à luz grandes possibilidades para produção de drogas antitumorais. Assim, nos parágrafos seguintes, há uma breve introdução sobre este assunto.

De forma semelhante a outros tumores sólidos, o câncer de pulmão é o resultado da proliferação de células com aberrações genéticas e epigenéticas (4). As alterações genéticas bem conhecidas são translocação, perda de heterozigosidade, mutação pontual, deleção, inserção e amplificação de genes.

Dentre estes, a principal causa epigenética responsável pela formação dessa neoplasia é a alteração gene de supressão tumoral, o p53 (5).

Teoricamente, existem duas classes de genes tumorais: os oncogenes e os genes supressores tumorais. O aparecimento e a reprodução das células neoplásicas é possível quando da ativação dos oncogenes e, do bloqueio dos genes supressores tumorais. Esta condição permite que as características tumorais sejam reveladas, entre elas, a perda do controle do crescimento devido à autonomia da sinalização do crescimento, deteriorações na regulação do ciclo celular, insensibilidade aos sinais inibidores do crescimento, evasão da morte celular apoptótica, indução da neoangiogênese e ativação do crescimento invasivo e metástase (6).

As células neoplásicas precisam também escapar do ataque imunológico para se manterem vivas e crescendo. Mediante o reconhecimento dos diferentes tipos de proteínas que são produzidas pelas células neoplásicas, as células dendríticas e linfócitos promovem o ataque às células tumorais. No entanto a célula tumoral desenvolve diferentes mecanismos de escape para se autoprotger. Os mecanismos de prevenção da morte pelo sistema imunológico são complexos e inibem tanto a defesa inata quanto a adaptativa. Um dos mais conhecidos mecanismos de defesa é modificar o *pool* de antígenos presentes nas células dendríticas (7), e, para travar a defesa adaptativa, há produção e liberação de células T reguladoras (Treg), que fazem uma regulação negativa da produção e influxo de células T citotóxicas e *natural killers* (NK) (8).

2.2.1 Fatores de risco

2.2.1.1 Tabagismo

Não há dúvida de que o hábito de fumar é o principal fator para o câncer de pulmão. Enquanto o tabagismo diminuiu nos últimos 50 anos nos países desenvolvidos, o tabagismo em todo o mundo aumentou (9).

O uso de tabaco ou cigarro é responsável por 80-90% dos cânceres de pulmão em países com índices de desenvolvimento humano (IDH) muito altos, enquanto em países com IDH médio ou baixo essa taxa é mais baixa, em torno de 65% nos homens (10) (11).

Coerentemente, a redução ou a retirada do fumo é um comportamento comum para diminuir a incidência de câncer de pulmão. O risco cumulativo de câncer de pulmão foi reduzido em 27% quando a pessoa diminuiu à metade a quantidade de cigarros por dia (12). Um estudo inglês bem desenhado de caso-controle mostra que as taxas de risco ajustadas por idade para incidência de câncer de pulmão de são de 0,66, 0,44 e 0,20 para ex-fumantes do sexo masculino que pararam de fumar por menos de 10, 10 a 19 e 20 a 29 anos, respectivamente, em comparação com os fumantes ativos (13). Embora parar de fumar reduza drasticamente o risco de câncer, o cigarro pode ser a causa de câncer de pulmão em até mais de 20 anos após a cessação do tabagismo.

2.2.1.2 Tabagismo passivo

Dados de uma meta-análise relatam um risco relativo de câncer de pulmão entre 1,14-5,16 para pessoas que viveram com fumantes em relação a quem nunca conviveu (70). Um estudo recente mostrou que a incidência de câncer de pulmão é 3,6 vezes mais frequente em adultos cuja infância ocorreu com adultos fumantes (71).

2.2.1.3 Radioterapia

A radioterapia é um conhecido agente cancerígeno devido ao potencial de dano ao DNA celular saudável. Pacientes submetidos à radioterapia por

linfoma ou por câncer de mama apresentam maior risco de câncer de pulmão do que pacientes virgens de irradiação. Pacientes com irradiação torácica por linfoma de Hodgkin apresentaram uma média relativa de 2,6 a 7 e um risco excessivo absoluto de câncer de pulmão (72). A incidência absoluta de câncer de pulmão na mulher submetida a irradiação por câncer de mama foi de 2,23% em comparação com 0,23% da mulher não irradiada com base em 10 anos de coorte (73).

DOENÇAS PULMONARES INFLAMATÓRIAS CRÔNICAS

Um estudo conduzido pelo International Lung Cancer Consortium analisou 17 estudos de caso-controle com mais de 100 mil pacientes e mostrou que o enfisema pulmonar pode aumentar em 2,44 vezes o risco de câncer de pulmão, tuberculose em 1,48, pneumonia fibrosante crônica em 1,22 e bronquite crônica em 1,47 (74).

2.3 ESTADIAMENTO DO CÂNCER DE PULMÃO

Uma vez diagnosticada a presença de uma neoplasia pulmonar faz-se necessário que a extensão desse tumor seja definida a fim de que o melhor tratamento oncológico possa ser realizado. E, assim como a maioria das outras neoplasias malignas, o câncer de pulmão é estadiado através de um sistema internacionalmente respeitado e conhecido, o TNM da American Joint Commission on Cancer (AJCC) (14) A Tabela 1 resume os dados necessários para a classificação dos CPNPC em sua última atualização (2017).

São três as informações necessárias para definição final do estadiamento da neoplasia pulmonar: T, determinado pelo tamanho da lesão tumoral primária e sua invasão em sítios adjacentes; N: determinado pela presença ou não de extensão para os linfonodos, se não, N0, se presença, sua localização, em hilo, N1 ou parênquima pulmonar ipsilateral, N2, presente no mediastino e, N3, presença em mediastino ou hilo contralateral ou região supraclavicular; M1 determina a presença de metástase a distância isolada,

M1b, a distância e múltiplas M1c ou, em tórax, M1a.

Esta pesquisa avaliou pacientes cujo estadiamento foi definido com EC III (Tabela 1). Foram contemplados pacientes com tumores localmente avançados para os quais a cirurgia radical não seria uma opção adequada para tratamento local. Nesse grupo, todos os pacientes definidos como nos subgrupos EC IIIA (com linfonodos mediastinais ipsilaterais à lesão primária ou subcarinais, isto é, cN2 e qualquer cT); EC IIIB (com linfonodos mediastinais contralaterais a lesão primária, cN3 ou linfonodos ipsilaterais, cN2 , e associado a tumor com invasão de mediastino,cT3) ou EC IIIC (pacientes com tumores localmente avançados, cT3-4 associados a linfonodos em fossa supraclavicular ou mediastino contralateral à lesão primária, cN3) foram inclusos desde que a irradiação torácica fosse o tratamento de escolha definitivo local.

Tabela 1. Descritores de TNM

T	
Tx	
T0	Sem evidência de tumor primário
Tis Tumor in situ	
T1	Tumor ≤ 3 cm circundado por pulmão ou pleura visceral e sem evidência broncoscópica de invasão mais proximal que o bronquiolar. T1a tumor ≤ 1 cm. T1b tumor >1-2 cm, T1c >2-3 cm
T2	Tumor > 3 e ≤ 5 cm e/ou envolvimento do brônquio principal 2 cm ou mais distal à carena e/ou invasão da pleura visceral e/ou associação com atelectasia ou pneumonite obstrutiva que se estende à região hilar, mas não envolve todo o pulmão. T2a tumor > 3 e ≤ 4 cm. T2b tumor >4 e ≤ 5 cm.
T3	Tumor maior de 5 cm e menor de 7cm ou tumor de qualquer tamanho que diretamente invade a parede torácica (incluindo tumor de sulco superior), diafragma, nervo frênico, pleura mediastinal, pericárdio parietal, ou tumor no brônquio principal a menos de 2 cm da carina, mas sem o seu envolvimento, ou presença de atelectasia ou pneumonite obstrutiva de todo o pulmão, ou nódulos tumorais separados no mesmo lobo.
T4	Tumor maior de 7cm ou tumor de qualquer tamanho que invade mediastino, coração, grandes vasos, traqueia, nervo laríngeo recorrente, esôfago, carena, corpo vertebral (chamado T4 invasivo) ou nódulos tumorais separados em diferentes lobos ipsilaterais.
N	
Nx Linfonodos não avaliados	
N0	Sem metástase em linfonodos regionais
N1	Metástases em linfonodos peribrônquicos e/ou hilares ipsilaterais e linfonodos intrapulmonares
N2	Metástase em mediastino ipsilateral e ou subcarinais
N3	Metástases em mediastino contralateral, hilo contralateral, escaleno ipsilateral ou contralateral ou linfonodos supraclaviculares
M	
M0	Ausência de metástase a distância
M1	Metástase a distância _ M1a Nódulos tumorais separados em lobos contralaterais, nódulos pleurais, ou derrame pleural ou pericárdico maligno M1b Metástase a distância em órgão único M1c Metástase a distância em múltiplos órgãos

Tabela adaptada do manual da AJCC (14)

Tabela 2. Categorização TNM

	NO	N1	N2	N3	M1a/M1b	M1c
T1a	IA1	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVB
T1b	IA2	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVB
T1c	IA3	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVB
T2a	IB	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVB
T2b	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVB
T3	IIB	IIIA	IIIB	IIIC	IVA	IVB
T4	IIIA	IIIA	IIIB	IIIC	IVA	IVB

2.4 DADOS MOLECULARES NO CPNPC

Além do estadiamento e da análise histotógica, outra grande ferramenta para direcionamento e predição de resposta é a análise molecular. A análise molecular da neoplasia pulmonar é desejável e recomendada a todos os pacientes com diagnóstico de adenocarcinoma e estágio avançado em razão da possibilidade de utilização de drogas com alvos moleculares estabelecidos. Os principais marcadores a pesquisar são o EGFR (*epidermic growing fator receptor*) e ALK (*anaplastic lymphoma kinase*) (15). A presença de EGFR mutado confere maior sobrevida global, independentemente da escolha do tratamento oncológico, e a alta sensibilidade a drogas que são inibidoras da tirosina-quinase, como o erlotinibe e orsimetinib, que mostram aumentar a sobrevida livre de progressão desses pacientes em relação aos não mutados (16) (17). Já pacientes com mutação do ALK há melhor sobrevida livre de progressão com drogas inibidoras da tirosina-quinase igualmente e entre as drogas estão o crizotinib e o alectinib.

No Brasil, embora os dados sejam escassos, pesquisadores encontraram valores de mutação entre os pacientes com tumores pulmonares avançados e histologia de adenocarcinoma de 21,9 a 32,7% (18) (19),

maiores, inclusive, que a média americana, que fica em torno dos 15%, mas inferior a números asiáticos, acima de 50% (20).

O rearranjo do oncogene ROS (ROS1) presente em 1 a 2% dos tumores pulmonares de células não pequenas torna o paciente um bom candidato ao uso de drogas que atuam na inibição da tirosina-quinase, a semelhança dos resultados vistos com estas drogas na população ALK positiva (21).

Outras alterações genéticas como HER-2, MET e RET, embora já reconhecidas, ainda não têm drogas-alvo liberadas para seu uso corrente. Drogas utilizadas para outras patologias, como o Transtuzumabe para HER-2 positivo, são usadas de forma restrita.

2.5 SISTEMA IMUNE HUMANO

Embora o combate às neoplasias se faça predominantemente por intervenções externas, a natureza também é um dos pilares responsáveis pela erradicação dos tumores e é, predominantemente, representada pelo sistema imunológico.

A função fisiológica do sistema imunológico é a proteção contra agentes infecciosos ou substâncias não habituais ao organismo. Em uma visão mais ampla, o sistema imunológico é uma resposta a componentes de microrganismos, macromoléculas e pequenos agentes químicos reconhecidos como estranhos.

Existem dois grandes grupos de imunidade, a inata e a adaptativa. O primeiro é o sistema primitivo, capaz de reconhecer fontes nocivas comuns e agir rapidamente. O segundo é um sistema mais sofisticado, no qual há uma geração específica de anticorpos e linfócitos T responsáveis pela imunidade humoral e imunidade mediada por células.

O sistema imunológico tem um melhor momento na idade adulta, mas é relativamente imaturo ao nascer e diminui com o tempo, tornando os idosos menos protegidos.

2.5.1 Sistema Imune Inato

O sistema imunológico inato é a primeira forma de proteção do corpo contra patógenos. As células responsáveis por essa ação inicial contra os agressores são os neutrófilos e macrófagos. Eles fagocitam e matam os patógenos, recrutam células *natural killers* (NK) e facilitam a migração e maturação das células dendríticas que iniciarão a resposta imune adaptativa (22).

Os neutrófilos maduros estão presentes no final do primeiro trimestre do desenvolvimento fetal e aumentam em número pouco antes do nascimento. Poucos dias após o nascimento, tornam-se estáveis e com franco poder contra bactérias ou processo inflamatório. Conseqüentemente, os recém-nascidos e os prematuros têm alto risco de infecções (23).

O sistema inato de defesa é mais simples que o adaptativo. Reconhece receptores de micróbios geneticamente predeterminados, comuns a um grande grupo de invasores ou reconhece o efeito inflamatório desses agentes e age rapidamente, mas falha na primeira adaptação da bactéria à resistência. Outra forma de agir é no reconhecimento das conseqüências metabólicas comuns da inflamação ou infecção. E a terceira estratégia é reconhecer a ausência de autossinais, o sistema reconhece sinais moleculares que são gerados por células saudáveis, mas não por invasores e então produzem um sinal inibidor (24).

2.5.2 Sistema Imune Adaptativo

Ao contrário da defesa imune inata, o sistema adaptativo é altamente específico ao patógeno. A ação deste sistema é opor-se à infecção, câncer ou outra situação de perigo por anticorpos.

O sistema imune adquirido, ao contrário do inato, permanece em constante adaptação e refinamento em resposta às exposições do hospedeiro. Aqui, as células envolvidas no processo, os linfócitos T e B, modificam-se a cada novo antígeno, seja de origem microbiana ou de células tumorais, e constantemente ampliam a capacidade imune do corpo, individualizando o processo de cada indivíduo. A maior parte da contagem linfocitária se refere às células T, de 60 a 80%, e, dentro desse grupo, destacam-se os linfócitos CD4, perfazendo 60 a 80% da contagem. Os linfócitos B e os *natural killer* fecham a contagem com 10 a 15% de contribuição de cada um deles a contagem total (25).

Os linfócitos T CD4 são responsáveis pelo estímulo à produção de anticorpos pelos linfócitos B.

Nos últimos 50 anos, foi proposto que a função fisiológica do sistema imune adaptativo seja a de destruir as células alteradas antes que se tornem perigosas.

2.5.3 Ativação do sistema imune pelas células tumorais

Um dos principais modelos explicativos da ativação do sistema imune pela célula neoplásica se dá pela liberação de dois sinais de antígenos pela célula neoplásica promovendo o estímulo das células T virgens. O primeiro sinal confere especificidade à resposta imune e envolve o reconhecimento do antígeno, proporcionado pela interação do complexo antigênico/complexo de histocompatibilidade principal (MHC) com o receptor da célula T (TCR) (26). O segundo sinal é o antígeno-independente, produzido pelas células geradoras de antígeno, ele é formado pela liberação de moléculas estimuladoras (27). Do lado contrário, fica o sistema de inibição, protegendo o sistema imune e

impedindo a autoimunidade, porém, ao mesmo tempo, podendo impedir a ação do sistema imunológico contra células neoplásicas e vírus, por exemplo (28).

2.5.4 RECEPTORES DO SISTEMA IMUNE PRESENTES NO MICROAMBIENTE TUMORAL

Programed cell death1 (PD-1): é uma proteína de membrana, da família CD28/CTLA-4, responsável pela modulação da resposta imunológica e está presente em células T e B imaturas. É um *down regulator of immune system* (29), sua presença diminui o processo imune e foi demonstrado que, em sua ausência ou menor expressão, há o aparecimento de doença autoimune (30).

PD-1 ligant (PD-L1): é expresso em linfócitos T e B, mastócito, células da medula óssea e em infinidade de tecidos não hematológicos: pulmonar, hepático, células da glia, etc. (31). A presença dessa molécula em células tumorais leva à possibilidade de que um bloqueio da via PD1-PD-L1 resulte em diminuição tumoral por um processo imunomediado (32).

O CTLA-4 bloqueia a ativação precoce das células T nos órgãos linfoides, enquanto o PD-1 inibe a atividade efetiva das células T nas respostas imunes de estágio posterior nos tecidos periféricos e no microambiente do tumor. PD-1 e CTLA-4 também possuem mecanismos inibitórios distintos.

Na Figura, 4, à esquerda, encontra-se a representação de um dos mecanismos utilizados pela célula tumoral para manter sua sobrevivência: ela expõe um receptor chamado PDL1, supradescrito, tentando tornar o sistema imunológico amigável à sua presença. Este receptor liga-se ao PD-1, expresso pelas células de defesa e responsável pela diminuição da reação imunológica, o que a faz suspender suas atividades, isto é, sua ação contra a célula tumoral. Este processo de ligação entre o PD1 da célula de defesa e o PDL1

da célula tumoral inibe a ação da primeira, tornando o ambiente favorável à proliferação neoplásica. Na mesma figura, à direita, há presença de uma das drogas conhecidas como anti PDL-1. Essa droga inibe a associação do PD1 linfocitário ao PDL1 tumoral, desse modo, permitindo que o sistema imunológico siga com seu trabalho antitumoral.

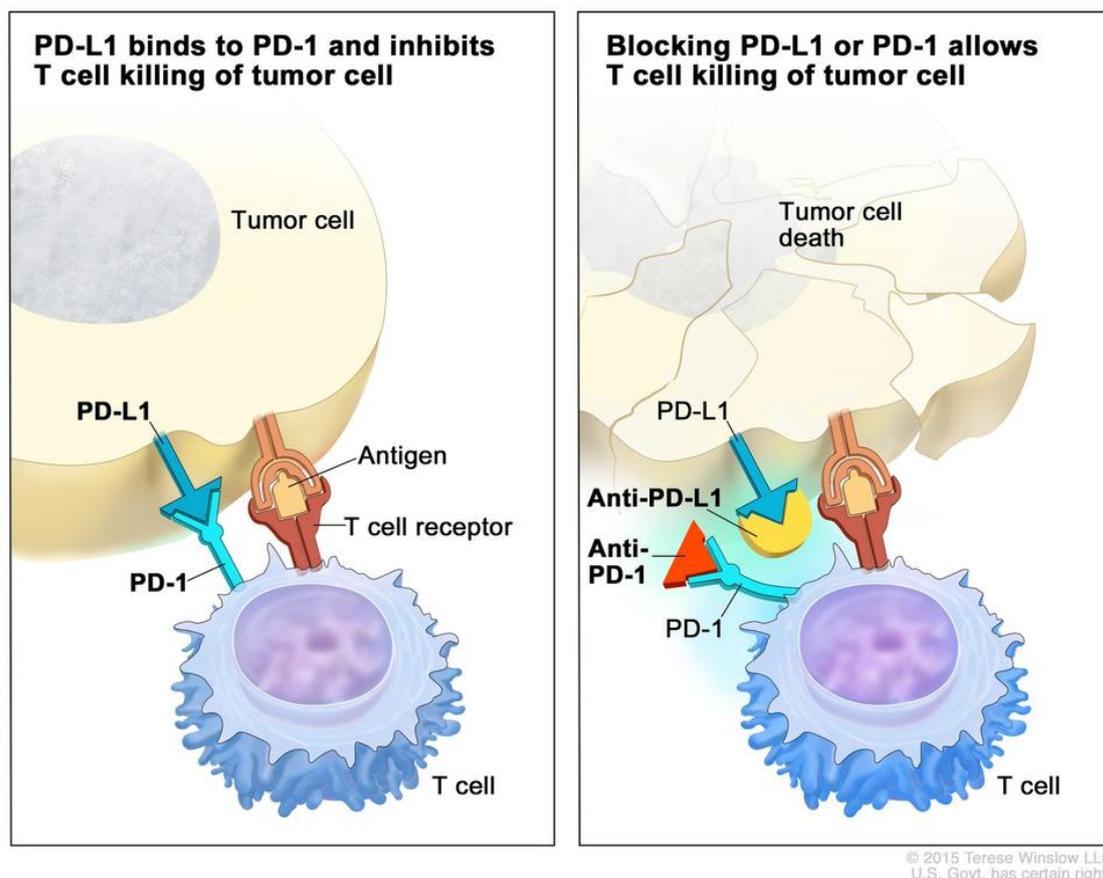


Figura 4. Desenho representativo da localização celular do PD1- PDL1 e forma de adesão drogas anti PD-1 e anti PDL1

Fonte: Nacional Cancer Institute

2.6 PILARES DO TRATAMENTO DA NEOPLASIA PULMONAR

Hoje existem quatro importantes pilares no tratamento oncológico dos CPCNP: cirurgia, radioterapia, quimioterapia e imunoterapia. Na sequência, cada um deles tem seu merecido espaço com seu pertinente detalhamento. De qualquer forma é importante salientar que como grande parte dos tumores

pulmonares diagnosticados no mundo encontra-se em estágio avançado, a maioria dos pacientes faz tratamentos combinados, isto é, geralmente, um tratamento local ao menos, cirurgia ou radioterapia, associado à quimioterapia e ou imunoterapia. Em situações extremas, de pacientes com baixa performance, ainda assim pode-se usar radioterapia para controle de sintomas locais e quimio e ou imunoterapia sistêmica. Há, ainda, a possibilidade de que todos os tratamentos citados anteriormente façam parte do tratamento de pacientes que sobrevivem longos anos, mas com doença metastática ou com progressão após primeiro sucesso terapêutico.

Nos próximos parágrafos, especificidades de cada um dos tratamentos são apontadas. Salienta-se que os pacientes avaliados nesta pesquisa receberam tratamento combinado de quimiorradioterapia, pois eram localmente avançados.

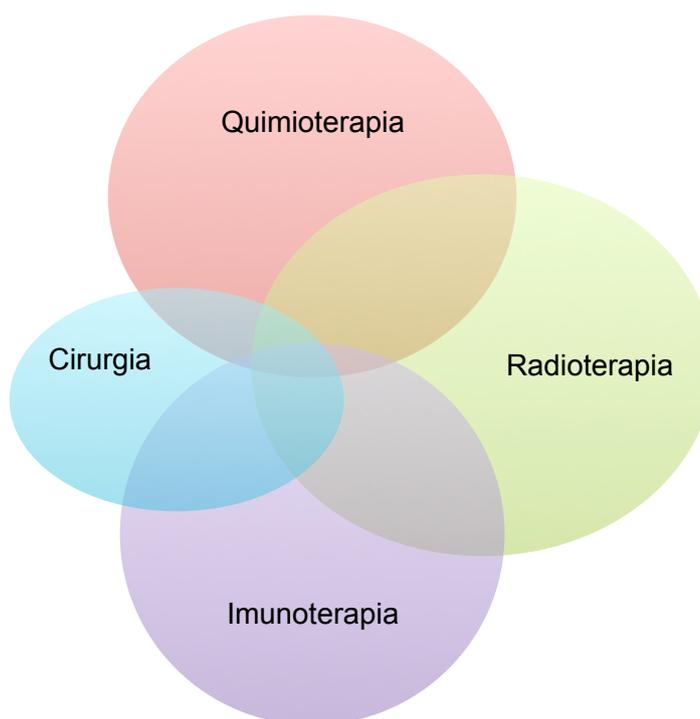


Figura 5. Infográfico sobre interação de tratamento na neoplasia pulmonar

2.6.1 Cirurgia

A cirurgia é a primeira opção para tratar pacientes com doenças locais ressecáveis (ESTÁDIOS I E II) em pacientes com condições clínicas de operabilidade. Além disso, a cirurgia pode ser executada em situação na qual é necessário palição e, atualmente, alguns especialistas mostram que, mesmo em doenças metastáticas, o tratamento local, com cirurgia ou outra técnica, pode melhorar a sobrevida (33).

CPNPC inicial

Na doença localizada, após exames sistêmicos e regionais negativos, a cirurgia é indicada em pacientes operáveis, ou seja, para pacientes cuja função clínica e pulmonar permita uma ressecção. Existe uma concordância entre a British Thoracic Society (BTS) e o American College of Chest Physicians (ACCP) de que o volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF_1) e a capacidade de difusão do monóxido de carbono (DL_{CO}) devem ser medidos antes de qualquer cirurgia pulmonar e podem ser um parâmetro para prever o resultado de uma possível cirurgia (34). Vários dados mostram que, para pacientes com VEF_1 pós-operatório previsto $<40\%$ do previsto, há taxa de mortalidade variando de 15 a 20% (35) e $VEF_1 <30\%$ pós-operatório pode ter taxas de fatalidade tão altas quanto 60% (36). No entanto novos dados do chamado “efeito de redução do volume pulmonar” mostram uma taxa de mortalidade de apenas 4,8% para pacientes com VEF_1 pós-operatório previsto $<40\%$ (37). A perda funcional pulmonar é reduzida com uma pequena ressecção pulmonar e pode até ser melhorada em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC). O terceiro e não menos importante objetivo de analisar é o risco cardiovascular. Os pacientes com câncer de pulmão têm um risco maior de doença aterosclerótica por causa do tabagismo. Existe um risco de 2 a 3% de uma complicação cardíaca grave, incluindo bloqueio cardíaco completo, edema pulmonar e morte cardíaca (38). O teste de exercício cardiopulmonar (TECP) tem sido útil na detecção de isquemia miocárdica induzida e oculta por exercício; com acurácia diagnóstica semelhante à de um estudo de perfusão miocárdica computadorizada por emissão de fótons (39).

a) Lobectomia ou ressecções menores

Ressecção em cunha ou segmentectomia são opções terapêuticas possíveis na tentativa de diminuir o volume de ressecção pulmonar em pacientes com baixa reserva. Dados assinalam que, em pacientes com EC IA (ate 3 cm) (40), o menor volume de ressecção pode estar associado com pequena melhora na função pulmonar (41). Entretanto é reconhecido que lobectomia traz melhora de controle local e sobrevida (42).

b) Manejo dos linfonodos

A Associação Internacional para o estudo do Câncer de Pulmão (IASLC) recomenda que, no mínimo, seis estações linfonodais, das quais três mediastinais incluindo a estação subcarenal, devem ser ressecadas (43), mas há controvérsias sobre a necessidade de dissecação sistemática ou apenas amostragem (44).

c) Cirurgia com tórax videoassistida (VATS) ou cirurgia robótica

O principal resultado da cirurgia minimamente invasiva é diminuir a morbidade da cirurgia aberta (45). Dados de Yang mostram que a sobrevida é a mesma em aberto, robótico ou VATS para pacientes tratados com câncer de pulmão precoce (46), porém revela que a cirurgia robótica é capaz de dissecar mais linfonodos e que o VATS e a robótica diminuem o tempo de internação hospitalar.

Câncer de pulmão de células não pequenas localmente avançado

Historicamente, o câncer de pulmão localmente avançado é considerado o estágio III pelo sistema de estadiamento TNM (47). Assim,

nesse grupo estão inclusos os tumores que invadem estruturas extrapulmonares, tumores grandes, maiores que 7 cm (T3 ou T4) ou lesões que comprometem linfonodos mediastinais ou em fossas supraclaviculares (N2 ou N3).

Nesse grupo de pacientes, o papel da cirurgia é controverso. Especialistas sugerem que a cirurgia possa ser uma opção em pacientes cuja quimioterapia foi realizada inicialmente e foi capaz de tornar linfonodos mediastinais negativos, antes da cirurgia definitiva. Existem poucos estudos que abordam os benefícios da cirurgia no câncer de pulmão localmente avançado. O *EORTC* realizou um estudo comparando o resultado da sobrevida global e o controle local de pacientes com EC III N2 do CPNPC com cirurgia ou radioterapia após três ciclos de quimioterapia baseada em platina (48). A média de sobrevida foi de 16,4 meses para o grupo submetido à cirurgia e 17,6 meses para o grupo submetido à radioterapia (hazard ratio [HR], 1,06; IC 95%, 0,84-1,35; P = 0,6).

2.6.2 Radioterapia

Tumores pulmonares iniciais

A radioterapia é a primeira escolha de tratamento local no CPNPC inicial em pacientes inoperáveis devido a comorbidades clínicas ou mesmo rejeição pessoal à cirurgia. Entre as possibilidades de tratamento não cirúrgico desse grupo de pacientes estão a radioterapia convencional e a radioterapia ablativa. Enquanto a primeira é feita de forma protaída, a segunda é feita com doses altas, ablativas e em curto período. Comparativamente à observação, a radioterapia com fracionamento convencional em pacientes idosos não incrementa a sobrevida de forma satisfatória, entretanto, se a técnica for de estereotaxia, o tratamento dobra a sobrevida destes pacientes HR 2.10 (1.37-3.08) P<.001, levando à expectativa, em 4 anos, de pouco mais de 20% para mais de 60% (49).

Radioterapia 32mune3232erapia32

Doses altas de irradiação realizadas em poucas frações definem este tipo de tratamento. Tal tratamento promove controle local com valores entre 80 e 95%, concorrentes à cirurgia, inclusive. Dois estudos prospectivos e randomizados, Rosel e Stars (50), comparando cirurgia a radioterapia 32mune3232erapia32, foram realizados (25) no intuito de determinar controle local e sobrevida de pacientes com EC I com cada uma das técnicas, mas o baixo recrutamento finalizou ambos os estudos de forma precoce. Em análise conjunta, isto é, com dados dos pacientes do estudo Rosel e Stars, foi feita como tentativa de melhorar o poder estatístico. A sobrevida estimada em 3 anos foi de 95% (95% IC 85-100%) para o grupo de estereotaxia e de 79% (95% IC 64 -97%) para o grupo da cirurgia, $p=0,037$. O controle local também tendeu a ser melhor no grupo de radioterapia estereotóxica, 86% (95% CI 74–100) e 80% (65–97) no grupo da cirurgia $p=0.54$.

Tumores pulmonares localmente avançados

A radioterapia com uma fração diária convencional de 2 Gy deve ser realizada até 60 Gy, se associada à quimioterapia. Doses mais altas de radiação, atingindo 74 Gy, podem ser prejudiciais, dados do estudo RTOG (Radiation Therapy Oncology Group) 0617 (51) analisaram a OS entre 60 Gy e 74 Gy, e o último não foi melhor e causou mais esofagite ao grupo de doses mais altas. Se a radiação é isolada, existem alguns dados de um estudo de meta-análise sugerindo que doses mais altas podem melhorar a sobrevida.

Doses altas de irradiação diária, à semelhança da estereotaxia, geralmente, não são viáveis pelo volume de tecido sadio em campos de irradiação. Doses de 32mune3232erapi, de 7 a 12 Gy por fração, têm um custo ao tecido sadio que não compensa a dose tumoral, mas em pequenos volumes, quando utilizados para tumores precoces, promovem melhor controle tumoral e pouco dano ao tecido sadio. Uma técnica chamada LATTICE tem sido estudada como uma possibilidade de aumento do controle tumoral com doses “estereotáticas” em áreas pontuais e cernais ao volume a ser irradiado,

mostrando-se, no mínimo, segura até o momento (52). Mas estudos adicionais e fase III são necessários.

2.6.2.1 Danos da Irradiação

Seria perfeito se a radioterapia fizesse o efeito antineoplásico máximo sem danificar as células normais, mas até agora não é possível. Toda nova arma no mundo da irradiação é tentar o máximo de dano no tumor com menor toxicidade aos tecidos sadios, neste sentido, são desenvolvidos novos tipos de irradiação, como partículas pesadas, prótons, por exemplo, até imobilizações precisas do corpo e novos algoritmos de cálculos ou mesmo novas formas de entrega da irradiação, como a recém-lançada tomoterapia.

Há uma divisão entre os tipos de efeitos colaterais da radiação com base na relação temporal entre as administrações de radiação e o início dos sintomas. Esses efeitos são agudos, subagudos e crônicos. Os danos contra o sistema hematopoiético podem ser agudos por depleção de células progenitoras ou crônicos por fibrose da vasculatura e órgãos linfoides, como medula óssea, timo e baço (53).

O foco desta pesquisa foi avaliar o efeito da irradiação sobre o sistema imunológico, mais especificamente sobre os linfócitos.

2.6.2.2 Efeitos imunológicos da irradiação

É de amplo saber que o linfócito é a célula mais sensível entre as linhagens 33mune3333er, mieloide e linfoide. Um modelo matemático foi sugerido por Yovino et al. Para calcular a depleção de linfócitos circulantes em tumor primário de alto grau do Sistema Nervoso Central (SNC) em fase de irradiação (54). Com o conhecimento de que o LD50 (dose letal necessária para reduzir a fração sobrevivente de linfócitos em 50%) é de 2 Gy (55).

Yovino et al (54) usando o número, a fração e a quantidade de sangue circulando na área de irradiação do cérebro tratado em tumor do SNC de alto grau, desenvolveram uma equação que mostra que, neste caso, a dose média para os linfócitos circulantes foi de 2,2 Gy e 99% dos linfócitos circulantes recebeu $\geq 0,5$ Gy.

A redução de linfócitos com irradiação está descrita há décadas (56) (57), mas sua associação potencial com o controle do tumor e a sobrevida geral permanece pouco explorada.

2.6.3 Quimioterapia

A escolha da quimioterapia a ser prescrita ao paciente com câncer de pulmão EC III depende de diversos aspectos, dentre eles, destacam-se o fato de o tratamento ser combinado à radioterapia ou sequencial à presença de restrições clínicas a alguma das drogas candidatas ao uso e à liberação pelos órgãos regulatórios de saúde de um país.

Dados do estudo 9019 do Southwest Oncology Group (SWOG) apontam, no início dos anos de 2000, a segurança e efetividade do uso de cisplatina e etoposide combinados à radioterapia (58). Dados históricos relatam que, quando não combinados, os tratamentos de radio e quimioterapia utilizados para pacientes EC III permitiam sobrevidas que não ultrapassavam 10 % em 5 anos, com este estudo, a sobrevida em 5 anos, passou a 15%, todavia com graus elevados de neutropenia, pneumonite e esofagite.

Na tentativa de redução de toxicidade, a combinação carboplatina e taxol se mostrou interessante. Dados de um estudo randomizado com 191 pacientes assinalam sobrevida similar, mediana de 20,7 e 23,3 meses ($P = 0.095$, HR 0.76, 95% CI 0.55-1.05), com diminuição da esofagite graus 3 e 4 (20 *versus* 6%), mas com leve aumento da pneumonite (19 *versus* 33%) (59).

2.6.4 Imunoterapia

A estratégia é oferecer efetores antitumorais (anticorpos ou células T), melhorar a resposta antitumoral autoimune e ativar a imunização dos pacientes contra o tumor.

2.6.4.1 Imunoterapia passiva

Terapia com anticorpos: anticorpos específicos contra receptores de superfície ou nucleares do tumor estão nesta classe. Existem muitos anticorpos monoclonais presentes no mercado hoje. Exemplos muito comuns e de sucesso são: a) um anticorpo específico para CD-20 usado para linfomas de células B, Rituximabe® e, b) o anti-Her2, contra o câncer de mama, Transtuzumabe.

No câncer de pulmão, existem vários tipos de terapias com anticorpos, alguns deles supracitados. Esses medicamentos fazem parte da principal terapia contra o câncer de pulmão permitida a pacientes com alvo molecular conhecido.

Bevacizumab (Avastin®): um anticorpo monoclonal que tem como alvo a via VEGF/VEGFR e inibe o crescimento de vasos sanguíneos do tumor; aprovado para subconjuntos de pacientes com câncer avançado de pulmão de células não pequenas (NSCLC), inclusive, como terapia de primeira linha.

Necitumumab (Portrazza®), Osimertinib (Tagrisso®)

Anticorpo monoclonal, inibidor da tirosina quinase, que tem como alvo a via EGFR; aprovado para pacientes com câncer avançado de pulmão de células não pequenas (NSCLC), inclusive, como terapia de primeira linha.

Alenectinib (Alecensa®), Crisotinib (Xalcory®), Brigatinib (Alumbrig®) um anticorpo monoclonal que tem como alvo os pacientes mutados com ALK; aprovado para subconjuntos de pacientes com câncer avançado de pulmão de células não pequenas (CPCNP), inclusive, como terapia de primeira linha. O principal medicamento é o alenectinibe, cujos ganhos foram melhores do que outros medicamentos (60).

2.6.4.2 Imunoterapia Ativa

A imunoterapia ativa reapareceu com força em 2011, quando foi aprovado, nos Estados Unidos, União Europeia e Japão, o uso de anticorpos que bloqueiam especificamente PD-1/PD-L1, inicialmente, permitido para melanoma e CPNPC (61) Reconheceu-se que o bloqueio de PD-1 é eficaz contra muitos tipos de tumores, pois aumenta a atividade antitumoral de linfócitos T citotóxicos (cLT), que reconhecem vários antígenos específicos do tumor.

Um grande número de ensaios está avaliando o bloqueio do PD-1/PD-L1 devido a altas taxas de respostas e em vários tipos de tumor, mas, além disso, existe uma gama de questões a serem respondidas. Não está claro, por exemplo, por que os mesmos pacientes não respondem ao bloqueio de PD-1/PD-L1.

2.6.4.2.1 História da Imunoterapia

Uma das primeiras evidências do sucesso da imunoterapia data de mais de um século e foi descrita por um cirurgião nova iorquino em 1891. O cirurgião, cujo nome era William Coley, usou injeções intratumorais de produtos bacterianos e observou a diminuição tumoral em pacientes portadores de sarcoma (62).

Atualmente, as drogas que ativam o sistema imunológico de forma ativa

ou passiva estão entre as grandes apostas da medicina. Na tabela a seguir é possível identificar drogas utilizadas em diversos tumores sólidos, com ênfase nos tumores de pulmão, drogas essas já comercializadas e aprovadas pelos órgãos regulatórios brasileiros.

Tabela 3. Drogas presentes no mercado com função de bloqueio da via PD-1/PD-L1

	Alvo	Data de Aprovação	Tratamento Aprovado
Atezolizumab	PD-L1	2016	Tumor de Pulmão, Trato urinário Mama (2019)
Avelumab	PD-L1	2017	Carcinoma de Merkel
Nivolumab	PD-1	2014	CPNPC, melanoma metastático, 37mune37 renal, 37mune37 colorretal, Linfoma de Hodgkin
Pembrolizumab	PD-1	2017	CPNPC, melanoma metastático, câncer renal, 37mune37 colorretal, Linfoma Primário B mediastinal
Durvalumab	PD-1	2017	CPNPC, Câncer de Bexiga

Fonte: Kui Li & Hongqi Tian (2019) (63)

O outro medicamento novo e promissor contra o câncer de pulmão é o bloqueador do antígeno 4 associado ao linfócito T (CTLA-4). CTLA-4 é um receptor inibidor de células T que limita a ativação (64).

2.6.5 Imunoterapia e radioterapia combinadas contra o câncer.

Um dos primeiros modelos pré-clínicos para avaliação da radiação associado à imunoterapia foi apresentado há quatro décadas. A experiência utilizou as bactérias *C. Granulosum* ou *C. Parvum* para induzir uma ação

sinérgica entre a atividade imune e da irradiação contra fibrossarcoma de camundongos. As bactérias foram injetadas 3 ou 4 horas antes da irradiação e foram testadas duas doses de irradiação, 2.500 ou 3.500 rads de raios gama. A irradiação sozinha com 2.500 rads produziu apenas 18% do controle do tumor, enquanto 2.500 rads com *C. 38mune3838e* resultaram em até 50% da cura. A dose de 3.500 rads não curou mais com a injeção de bactérias (65). Nesse cenário, deu-se a evidência de que altas doses de irradiação dispensam a ajuda do componente imunológico, mas doses menores tiveram sucesso quando associadas à resposta imune.

Atualmente, há uma gama de drogas imunológicas já testadas e em teste associada ao uso da radioterapia (66). Análise *pos-hoc* de pacientes, no estudo KEYNOTE 0001, mostra que sujeitos com CPCNP metastático em uso de imunoterapia e irradiados tiveram 73% de sobrevida global aos 6 meses em comparação aos 43% não irradiados (67).

3 JUSTIFICATIVA

A linfopenia, quando do diagnóstico e após tratamento radio, quimio ou radioquimioterápico de diversas neoplasias, tem sido associada com piores desfechos. Estudos retrospectivos têm demonstrado que a linfopenia pré-tratamento quimioterápico constitui-se em um fator de mau prognóstico em pacientes tratados por neoplasia de mama, linfoma ou sarcomas (68). Um estudo (66) com 47 pacientes e retrospectivo, publicado em 2013, mostrou que pacientes com o diagnóstico de câncer do pulmão em estágio IIIA/B e que apresentaram linfopenia (500 cel/cm^3), depois do tratamento radioterápico, tiveram menor sobrevida geral e sobrevida livre de doença quando comparados com pacientes sem linfopenia. No entanto estudos prospectivos são recomendados para corroborar tais achados (69).

Neste estudo, pretendeu-se avaliar, de forma prospectiva, a relação da contagem de linfócitos após 39mune3939erapi torácica para câncer de pulmão EIII com diversos desfechos relacionados à sobrevida e ajustados pela concomitância de quimioterapia, aspectos técnicos da radioterapia (BED, PTV, V5 e V20Gy ao pulmão) histologia tumoral e idade.

Os resultados desta pesquisa podem indicar a necessidade de adição de cuidados com a população de linfócitos dos pacientes irradiados, seja por alterações em planejamento radioterápico, como dose ou volume de área irradiada, seja por drogas que possam permitir a manutenção deles.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a relação entre a contagem de linfócitos nos 6 meses subsequentes ao término da irradiação torácica com a sobrevida em indivíduos com neoplasia pulmonar localmente avançada não metastática (EC III), com ou sem quimioterapia concomitante.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Investigar a relação entre a contagem de linfócitos nos 6 meses subsequentes ao término da irradiação torácica com a sobrevida geral.

Individuar a relação entre a contagem de linfócitos nos 6 meses subsequentes ao término da irradiação torácica com a sobrevida livre de doença.

Examinar a relação entre a contagem de linfócitos nos 6 meses subsequentes ao término da irradiação torácica com a sobrevida livre de progresso da doença.

Pesquisar a repercussão de 40mune4040erapia concomitante, BED, PTV e tipo histológico do tumor nas relações acima descritas.

Descrever a contagem de linfócitos no momento de início da radioterapia e 2, 6 e 12 meses apos término da irradiação torácica.

5 BIBLIOGRAFIA DO REFERENCIAL TEÓRICO

1. MS/Inca/Coordenação de Prevenção e Vigilância/Divisão de Vigilância e Análise de Situação 2. Inca. [Online]; 2018 [citado 2019 Feb 25. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/numeros-de-cancer>” <https://www.inca.gov.br/numeros-de-cancer>.
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* 2018;68: 394-424.
3. Meza R, Meernik C, Jeon J, Cote ML. Lung Cancer Incidence Trends by Gender, Race and Histology in the United States, 1973–2010. *PLoS One* Mar. 2015;10(3):e0121323.
4. Sarasin A. An overview of the mechanisms of mutagenesis and carcinogenesis. *Mutat Res.* 2003;544:99-106.
5. Sharma S, Kelly TK, Jones PA. Epigenetics in 41mune41. *Carcinogenesis* 2010;31):27-36.
6. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of 41mune41. *Cell* 100 2000:57-70.
7. Makarenkova VP, Shurin GV, Tourkova IL, Balkir L, Pirtskhalaishvili G, Perez L, Gerein V, Siegfried JM, Shurin MR. Lung 41mune41-derived bombesin-like peptides down-regulate the generation and function of human dendritic cells. *Journal of Neuroimmunology* 2003;145:55-67.
8. Xu L, Xu W, Jiang Z, Zhang F, Chu Y, Xiong S. Depletion of CD4(+)CD25(high) regulatory T cells from tumor infiltrating lymphocytes predominantly induces Th1 type 41mune response in vivo which inhibits tumor growth in adoptive immunotherapy. *Cancer Biology and Therapy* 2009;8:66-72.
9. Jha P, Ramasundarahettige C, Landsman V, Rostron B, Thun M, Anderson RN, et al-century hazards of smoking and benefits of cessation in the United States. *N Engl J Med.* 2013;368:341-50.
10. Ng M, Freeman MK, Fleming TD, Robinson M, Dwyer-Lindgren L, Thomson B, Wollum A, Sanman E, Wulf S, Lopez AD, Murray CJ, Gakidou

- E. Smoking prevalence and cigarette consumption in 187 countries, 1980-2012. *JAMA*. 2014 Jan 8;311(2):183-92. Doi: 10.1001/jama.2013.284692. PMID: 24399557.
11. GBD 2015 Tobacco Collaborators. Smoking prevalence and attributable disease burden in 195 countries and territories, 1990–2015: a systematic analysis from the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet* 2017 Oct.;7(390):1885-1906.
 12. Godtfredsen NS, Prescott E, Osler, M. Effect of Smoking Reduction on Lung Cancer Risk. *JAMA* 2005 Sept;294(12):1505-1510.
 13. Peto R, Darby S, Deo H, Silcocks P, Whitley E, Doll R. Smoking, smoking cessation, and lung cancer in the UK since 1950: combination of national statistics with two case-control studies. *BMJ*. 2000 Aug 5;321(7257):323-9. doi: 10.1136/bmj.321.7257.323. PMID: 10926586; PMCID: PMC27446.
 14. Rami-Porta R, Asamura H, Travis WD, Rusch VW. Lung cancer - major changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. *CA Cancer J Clin* 2017;67:138-155.
 15. Dogan S, Shen R, Ang DC, et al. Molecular epidemiology of EGFR and KRAS mutations in 3,026 lung adenocarcinomas: Higher susceptibility of women to smoking-related KRAS-mutant cancers. *Clinical Cancer Research* 2012;18(22):6169–77.
 16. Fukuoka M, Wu YL, Thongprasert S, Sunpaweravong P, Leong SS, Sriuranpong V, Chao TY, Nakagawa K, Chu DT, Saijo N, Duffield EL, Rukazenzov Y, Speake G, Jiang H, Armour AA, To KF, Yang JC, Mok TS. Biomarker analyses and final overall survival results from a phase III, randomized, open-label, first-line study of gefitinib versus carboplatin/paclitaxel in clinically selected patients with advanced non-small-cell lung cancer in Asia (IPASS). *J Clin Oncol*. 2011;29(21):2866.
 17. Soria JC, Ohe Y, Vansteenkiste J, Reungwetwattana T, Chewaskulyong B, Lee KH, Dechaphunkul A, Imamura F, Nogami N, Kurata T, Okamoto I, Zhou C, Cho BC, Cheng Y, Cho EK, Voon PJ, Planchard D, Su WC, Gray JE, Lee SM, Hodge R, Marotti M, Rukazenzov Y, Ramalingam SS, FLAURA Investigators. Osimertinib in Untreated EGFR-Mutated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2018;378(2):113.
 18. de Melo AC, Karen de Sá V, Sternberg C, Olivieri ER, Werneck da Cunha I, Fabro AT, et al. Mutational Profile and New IASLC/ATS/ERS Classification Provide Additional Prognostic Information about Lung Adenocarcinoma: A Study of 125 Patients from Brazil. *Oncology*

2015;89(3):175-86.

19. Gomes JR, Amarante MP, D'Alpino RD, Moreira RB, Souza TT, Lino AR, et al. Mutation profile in non-small cell lung cancer: analysis of a Brazilian population. *J Clin Oncol*. 2015;33(5 Suppl):e19115.
20. Shi Y, Au JS, Thongprasert S, Srinivasan S, Tsai CM, Khoa MT, Heeroma K, Itoh Y, Cornelio G, Yang PC. A prospective, molecular epidemiology study of EGFR mutations in Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer of adenocarcinoma histology (PIONEER). *J Thorac Oncol*. 2014;9(2):154.
21. Bergethon K, Shaw AT, Ou SH, Katayama R, Lovly CM, McDonald NT, Massion PP, Siwak-Tapp C, Gonzalez A, Fang R, Mark EJ, Batten JM, Chen H, Wilner KD, Kwak EL, Clark JW, Carbone DP, Ji H, Engelman JA, Mino-Kenudson M, Pao W, Iafrate AJ. ROS1 rearrangements define a unique molecular class of lung cancers. *J Clin Oncol*. 8 2012 Mar:863-70.
22. Solana R, Tarazonab R, Gayosoa I, Lesurc O, Dupuisd G, Fulope T. Innate immunosenescence: Effect of aging on cells and receptors of the innate immune system in humans. *Seminars in Immunology* 2012;24:331-341.
23. Filias A, Theodorou GL, Mouzopoulou S, Varvarigou AA, Mantagos S, Karakantza M. Phagocytic ability of neutrophils and monocytes in neonates. *BMC Pediatr*. 2011;11:29.
24. Turvey SE, Broide MB, Ch. Innate immunity. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125(2):S24-S32.
25. Wang MJ, Cruse RE, Lewis H. *Immunology Guidebook*. 2004.
26. Bretscher, PA. A two-step, two-signal model for the primary activation of precursor helper T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96(1):185-90.
27. Appleman LJ, Boussiotis VA. T cell anergy and costimulation. *Immunol Rev*. 2003;192:161-80.
28. Tivol EA, Borriello F, Schweitzer AN, Lynch WP, Bluestone JA, Sharpe AH. Loss of CTLA-4 leads to massive lymphoproliferation and fatal multiorgan tissue destruction, revealing a critical negative regulatory role of CTLA-4. *Immunity*. 1995 Nov;3(5):541-7.
29. Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, Honjo T. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed

- cell death. *The EMBO J.* 1992 Nov.;11:3887-95.
30. Bardhan K, Anagnostou T and Boussiotis VA. The PD1:PD-L1/2 Pathway from Discovery to Clinical Implementation. *Frontiers in Immunology* 2016;7:550.
 31. Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, Sharpe AH. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu Rev Immunol.* 2008;26: 677-704.
 32. Herbst RS, Soria JC, Kowanetz M, Fine GD, Hamid O, Gordon MS, et al. Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature.* 2014;515(7528): 563-7.
 33. Lizza EL, Hendriks AM, Dingemans C. Is it time to incorporate surgery in the treatment of stage IV non-small cell lung cancer? *Lung Cancer.* 2019;129: 95-7.
 34. Brunelli A, Kim AW, Berger K. Physiologic evaluation of the patient with lung cancer being considered for resectional surgery: Diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest.* 2013 May: 166S-90S.
 35. Nakahara K, Ohno K, Hashimoto J, Miyoshi S, Maeda H, Matsumura A, Mizuta T, Akashi A, Nakagawa K, Kawashima Y. Prediction of postoperative respiratory failure in patients undergoing lung resection for lung cancer. *Ann Thorac Surg.* 1988 Nov;46(5):549-52. doi: 10.1016/s0003-4975(10)64694-2. PMID: 3190329.
 36. Brunelli A, Al Refai M, Monteverde M, et al. Predictors of early morbidity after major lung resection in patients with and without airflow limitation. *Ann Thorac Surg.* 2002;74: 999-1003.
 37. Brunelli A, Cassivi SD, Fibla J, et al. External validation of the recalibrated thoracic revised cardiac risk index for predicting the risk of major cardiac complications after lung resection. *Ann Thorac Surg.* 2011;92(2): 445-8.
 38. Chaudhry S, Arena RA, Hansen JE, et al. The utility of car diopulmonary exercise testing to detect and track earlystage ischemic heart disease. *Mayo Clin Proc.* 2010;85(10):928-32.
 39. Detterbeck FC. The eighth edition TNM stage classification for lung cancer: What does it mean on main street? *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery.* 2018:356-9.

40. Keenan RJ, Landreneau RJ, Maley RH Jr, Singh D, Macherey R, Bartley S, Santucci T. Segmental resection spares pulmonary function in patients with stage I lung cancer. *Ann Thorac Surg.* 2004 Jul;78(1):228-33.
41. Ginsberg RJ, Rubinstein LV. Randomized trial of lobectomy versus limited resection for T1 N0 non-small cell lung cancer. Lung Cancer Study Group. *Ann Thorac Surg.* 1995;60:615-22.
42. Goldstraw P. International Association for the Study of Lung Cancer Staging Manual in Thoracic Oncology. Florida: Editorial Rx Press; 2009.
43. Darling GE, Allen MS, Decker PA, Ballman K, Malthaner RA, Inculet RI, Jones DR, McKenna RJ, Landreneau RJ, Rusch VW, Putnam JB Jr. Randomized trial of mediastinal lymph node sampling versus complete lymphadenectomy during pulmonary resection in the patient with N0 or N1 (less than hilar) non-small cell carcinoma: results of the American College of Surgery Oncology Group Z0030 Trial. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2011 Mar;141(3):662-70.
44. Petersen RP, Pham D, Burfeind WR, Hanish SI, Toloza EM, Harpole DH Jr, D'Amico TA. Thoracoscopic lobectomy facilitates the delivery of chemotherapy after resection for lung cancer. *Ann Thorac Surg.* 2007;83(4):1245.
45. Yang HX, Woo KM, Sima CS, Bains MS, Adusumilli PS, Huang J, Finley DJ, Rizk NP, Rusch VW, Jones DR, Park BJ. Long-term Survival Based on the Surgical Approach to Lobectomy For Clinical Stage I Nonsmall Cell Lung Cancer: Comparison of Robotic, Video-assisted Thoracic Surgery, and Thoracotomy Lobectomy. *Ann Surg.* 2017 Feb;265(2): 431-7.
46. Amin MB, Edge SB, Greene FL et al. AJCC (American Joint Committee on Cancer) Cancer Staging Manual. 8th ed. Chicago: Springer; 2017.
47. Shirvani SM, Jiang J, Chang JY, Welsh JW, Gomez DR, Swisher S, et al. Comparative Effectiveness of 5 Treatment Strategies for Early-Stage Non-Small Cell Lung Cancer in the Elderly. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2012;84(5):1060-70.
48. Chang JY, Senan S, Paul MA, Mehran RJ, Louie AV, Balter P, et al. Stereotactic ablative radiotherapy versus lobectomy for operable stage I non-small-cell lung cancer: a pooled analysis of two randomised trials. *Lancet Oncol.* 2015;16: 630-37.
49. Bradley JD, Paulus R, Komaki R, Masters G, Blumenschein G, et al. Standard-dose versus high-dose conformal radiotherapy with concurrent

- and consolidation carboplatin plus paclitaxel with or without cetuximab for patients with stage IIIA or IIIB non-small-cell lung cancer (RTOG 0617): a randomised, two-by-two factorial phase 3 study. 2015 Jan;16(2):187.
50. Amendola BE, Perez NC, Wu X, Amendola MA, Qureshi IZ. Safety and Efficacy of Lattice Radiotherapy in Voluminous Non-small Cell Lung Cancer. *Cureus*. 2019 March;11(3):e4263.
 51. Hall EJ, Giaccia AJ. *Radiobiology for the Radiologist*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2012.
 52. Yovino S, Kleinberg L, Grossman SA, Narayanan M, Ford E. The etiology of treatment-related lymphopenia in patients with malignant gliomas: modeling radiation dose to circulating lymphocytes explains clinical observations and suggests methods of modifying the impact of radiation on immune cells. *Cancer Invest*. 2013 Feb.(2): 140-4.
 53. Nakamura N, Kusunoki Y, Akiyama M. Radiosensitivity of CD4 or CD8 positive human T-lymphocytes by an in vitro colony formation assay. *Radiat. Res*. 1990 Aug.;2(123): 224-7.
 54. Meyer KK. Radiation-induced lymphocyte-immune deficiency. A factor in the increased visceral metastases and decreased hormonal responsiveness of breast cancer. *Arch. Surg*. 1970 Aug.; 2: 114-21.
 55. Newman GH, Rees GJ, Jones RS, Grove EA, Preece AW. Changes in helper and suppressor T lymphocytes following radiotherapy for breast cancer. *Clin. Radiol*. 1987 Mar.;38: 191-3.
 56. Albain KS, Crowley JJ, Turrisi AT, Gandara DR, Farrar WB, Clark JI, Beasley KR, Livingston RB. Concurrent cisplatin, etoposide, and chest radiotherapy in pathologic stage IIIB non-small-cell lung cancer: a Southwest Oncology Group phase II study, SWOG 9019. *J Clin Oncol*. 2002;20(16): 3454.
 57. Liang J, Bi N, Wu S, Chen M, Lv C, Zhao L, Shi A, Jiang W, Xu Y, Zhou Z, Wang W, et al. Etoposide and cisplatin versus paclitaxel and carboplatin with concurrent thoracic radiotherapy in unresectable stage III non-small cell lung cancer: a multicenter randomized phase III trial. *Ann Oncol*. 2017;28(4): 777.
 58. Zhou C, Kim SW, Reungwetwattana T, Zhou J, Zhang Y, He J, Yang JJ, Cheng Y, Lee SH, Bu L, Xu T, Yang L, Wang C, Liu T, Morcos PN, Lu Y, Zhang L. Alectinib versus crizotinib in untreated Asian patients with anaplastic lymphoma kinase-positive non-small-cell lung cancer (ALESIA):

- a randomised phase 3 study. *Lancet Respir Med*. 2019 May;7(5):437-446.
59. Iwai Y, Hamanishi J, Chamoto K, Honjo T. Cancer immunotherapies targeting the PD-1 signaling pathway. *Journal of Biomedical Science*. 2017;24(26):1-11.
 60. Mellman I, Coukos G, Dranoff G. Cancer immunotherapy comes of age. *Nature*. 2011:480-9.
 61. Bhalla N, Brooker R, Brada M. Combining immunotherapy and radiotherapy in lung cancer. *J Thorac Dis*. 2018;10(Suppl 13): S1447-S460.
 62. Milas L, Hunter N, Withers HR. Combination of Local Irradiation with Systemic Application of Anaerobic Corynebacteria in Therapy of a Murine Fibrosarcoma¹. *Cancer Research*. 1975;35: 1274-7.
 63. Pitroda SP, Chmura SJ, Weichselbaum RR. Integration of radiotherapy and immunotherapy for treatment of oligometastases. *The Lancet Oncology*. 2019;20(8):e434-42.
 64. Shaverdian N, Lisberg AE, Bornazyan K, Veruttipong D, Goldman JW, Formenti SC, Garon EB, Lee P. Previous radiotherapy and the clinical activity and toxicity of pembrolizumab in the treatment of non-small-cell lung cancer: a secondary analysis of the KEYNOTE-001 phase 1 trial. *Lancet Oncol*. 2017 Jul;18(7):895-903.
 65. Ray-Coquard I, Cropet C, Van Glabbeke M, Sebban C, Le Cesne A, Judson I, Tredan O, Verweij J, Biron P, Labidi I, Guastalla JP, Bachelot T, Perol D, Chabaud S, Hogendoorn PC, Cassier P, Dufresne A, Blay JY; European Organization for Research and Treatment of Cancer Soft Tissue and Bone Sarcoma Group. Lymphopenia as a prognostic factor for overall survival in advanced carcinomas, sarcomas, and lymphomas. *Cancer Res*. 2009 Jul 1;69(13):5383-91.
 66. Jian L. Campian XYMBaSAG. Jian L. Campian, Xiaobu Ye, Malc Treatment-related Lymphopenia in Patients With Stage III Non-Small-Cell Lung Cancer. *Cancer Invest*. 2013; Mar.;31(3):183-8. doi:10.3109/07357907.2013.767342.
 67. Rudra S, Hui C, Rao YJ, et. al. Effect of radiation treatment volume reduction on lymphopenia in patients receiving chemoradiotherapy for glioblastoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2018;101: 217-225.
 68. Crocenzi T, Cottam B, Newell P, Wolf RF, Hansen PD, Hammill C, Solhjem

- MC, To YY, Greathouse A, Tormoen G, Jutric Z, Young K, Bahjat KS, Gough MJ, Crittenden MR. A hypofractionated radiation regimen avoids the lymphopenia associated with neoadjuvant chemoradiation therapy of borderline resectable and locally advanced pancreatic adenocarcinoma. *J Immunother Cancer*. 2016 Aug 16;4:45.
69. Zuazo M, Arasaniz H, Fernández-Hinojal G, García-Granda MJ, Gato M, Bocanegra A, Martínez M, Hernández B, Teijeira L, Morilla I, Lecumberri MJ, Fernández de Lascoiti A, Vera R, Kochan G, Escors D. Functional systemic CD4 immunity is required for clinical responses to PD-L1/PD-1 blockade therapy. *EMBO Mol Med*. 2019 Jul;11(7):e10293.
70. Whitrow MJ, Smith BJ, Pilotto LS, Pisaniello D, Nitschke M. Environmental exposure to carcinogens causing lung cancer: epidemiological evidence from the medical literature. *Respirology* 2003; 8(4):513-21.
71. Vineis P, Airoidi L, Veglia F, Olgiati L, Pastorelli R, Autrup H, Dunning A, et al. Environmental tobacco smoke and risk of respiratory cancer and chronic obstructive pulmonary disease in former smokers and never smokers in the EPIC prospective study. *BMJ*. 2005 Feb 5;330(7486):277.
72. Lorigan P, Radford J, Howell A, Thatcher N. Lung cancer after treatment for Hodgkin's lymphoma: a systematic review. *Lancet Oncol*. 2005;6(10):773.
73. Huang YJ, Huang TW, Lin FH, Chung CH, Tsao CH, Chien WC. Radiation Therapy for Invasive Breast Cancer Increases the Risk of Second Primary Lung Cancer: A Nationwide Population-Based Cohort Analysis. *J Thorac Oncol*. 2017 May;12(5):782-790.
74. Brenner DR, Boffetta P, Duell EJ, Bickeböller H, Rosenberger A, et al. Previous lung diseases and lung cancer risk: a pooled analysis from the International Lung Cancer Consortium. *Am J Epidemiol*. 2012;176(7):573.

6 ARTIGO CIENTÍFICO

Impacts of post-radiotherapy lymphocyte count on progression-free and overall survival in patients with stage III lung cancer

ABSTRACT

We evaluated the impact of thoracic radiation in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC), considering the depletion of total lymphocytes, use or not of chemotherapy, and radiation doses in healthy lung tissue. Forty-six patients with stage III NSCLC, ECOG 1 and 2, receiving radiotherapy with or without chemotherapy were prospectively evaluated from April 2016 to August 2019, with a median follow-up of 13 months (interquartile range, 1-39 months). All patients were treated with three-dimensional radiotherapy and received biologically effective doses (BED₁₀ α/β 10) of 48 to 80 Gy. Peripheral blood lymphocyte total counts were measured at the start of radiotherapy and at 2, 6 and 12 months after radiotherapy. Along with lymphocytes, PTV and doses of 5 Gy and 20 Gy in healthy lung tissue were also evaluated as potential factors influencing overall survival (OS) and progression-free survival (PFS). The median of OS of all cohort was 22,8months (IC 95% 17,6 a 28,1) and the median PFS was 19,5 months (IC 95%: 14,7 a 24,2).

Most patients received concurrent or neoadjuvant chemotherapy (43; 93.4%). No patient received adjuvant immunotherapy. The lower the lymphocyte loss at 6 months after radiotherapy (every 100 lymphocytes/mcL), the greater the chance of PFS (HR, 0.44; 95%CI, 0.25-0.77; $p=0.004$) and OS (HR, 0.83; 95%CI, 0.70-0.98; $p=0.025$; $p=0.025$). BED was a protective factor for both PFS (HR, 0.52; 95%CI 0.33-

0.83; $p=0.0006$) and OS (HR, 0.73; 95%CI 0.54-0.97; $p=0.029$). Our results suggest that lymphocyte depletion after radiotherapy reduces tumor control and survival in patients with stage III lung cancer. Radiation doses equal or higher than 60 Gy ($BED_{10}72$ Gy) improve PFS and OS, but they negatively affect lymphocyte counts for months, which reduce survival and the potential of immunotherapy.

Keywords: lymphocyte count; non-small-cell lung cancer; thoracic irradiation; survival; progression-free survival.

INTRODUCTION

Most patients with locally advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) have poor outcomes with standard treatment, i.e., concurrent or sequential chemoradiotherapy.^{1,2} However, immunotherapy has been used with promising results in the treatment of patients with metastatic and locally advanced disease.³

Blockade of programmed death 1 (PD-1) and programmed death ligand 1 (PD-L1) has allowed increased local tumor control and survival in patients with lung cancer⁴ but treatment success may be hindered if total and CD4 lymphocyte counts are reduced.⁵ A sufficient lymphocyte count is necessary for PD-1/PD-L1 blockade to occur, via immunosuppression, and to allow an increase in immune activity. It has been shown that absolute lymphocyte count <500 cells/mL can compromise the action of drugs that block the PD-1/PD-L1 pathway in several tumor types.⁶ Also, a CD4 lymphocyte/total lymphocyte ratio <40% has shown that PD-1/PD-L1 blockade therapy doesn't work.⁷ Thus, factors that reduce total lymphocytes count or the percentage of CD4 cells have the potential to reduce or obliterate the response to immunotherapy.

Radiotherapy is known to have the potential to destroy lymphocytes, which are among the most radiosensitive cells in the body. Data from patients irradiated for the treatment of brain, lung and pancreatic tumors have shown that lymphocyte counts remain low long after radiotherapy and negatively impact overall survival (OS) and specific disease in these patients.^{8,9,10} Conversely, there is evidence that radiation might produce neoantigens and stimulate inflammatory factors, increasing the immune response against several tumors.^{11,12} Data from patients undergoing stereotactic radiosurgery have shown a positive impact on the immune response,¹³ and these results indicate that small-volume, high-dose radiotherapy may induce synergistic effects on immunotherapy in cancer treatment.

Therefore, the present study aimed to evaluate the effects of the biologically effective dose (BED₁₀) on peripheral blood lymphocyte counts (total and fractions) and its impact on OS and progression-free survival (PFS) in patients with locally advanced, nonmetastatic lung cancer.

METHODS

Study design

This prospective cohort study was approved by the Research Ethics Committee of Santa Casa de Porto Alegre, Brazil. The study was conducted from April 2016 to August 2019, with follow-up examinations every 2 months. Blood samples were collected at the start of radiotherapy for determination of lymphocyte total counts and fractions, and again at 2, 6, and 12 months after radiotherapy. Changes in total lymphocyte, CD4, CD3, and CD8 counts and in the CD4 lymphocyte/total

lymphocyte ratio from baseline (pre-radiotherapy) to the different post-radiotherapy time points were evaluated.

Participants

Written informed consent was obtained of each study participant. Eligible participants were all patients with locally advanced, nonmetastatic NSCLC (stage III according to the American Joint Committee on Cancer seventh edition cancer staging manual).¹⁴ Patients with an Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) performance status of 3 or more, previously irradiated patients, and those with a diagnosis of cancer other than NSCLC were excluded.

Radiotherapy

All participants were treated with three-dimensional radiotherapy at a dose of 40 to 66 Gy, ranging from 2 to 3 Gy per fraction (BED, 48 to 80 Gy with an α/β ratio of 10), combined or not with chemotherapy. The gross target volume (GTV) was defined as the primary tumor plus involved lymph nodes identified by computed tomography (CT) or positron-emission tomography (PET). The clinical target volume (CTV) was defined as the GTV plus a margin of 0.5 to 1 cm to cover the microscopic tumor extension. The planning target volume (PTV) included the CTV plus the internal target volume (ITV) of the GTV and an additional margin of 1.0 cm to compensate for setup uncertainties. The radiotherapy plan, including the final dose and the radiation fields, was developed to ensure that the spine cord dose did not exceed 45 Gy, while minimizing the healthy lung dose to the least possible.

All patients were followed clinically every 2 months until death or the end of

the study period. PFS was defined as the time interval between the date of histological diagnosis and the first confirmed sign of local or distant recurrence by imaging and clinical examination. The follow-up examinations were performed by CT, cranial nuclear magnetic resonance imaging (MRI), and/or PET at the completion of radiotherapy and at 2, 6, and 12 months after treatment, or earlier if there was evidence of specific symptoms for the assessment of PFS if there was evidence of specific symptoms for assessment of PFS.

Statistical analysis

Data are expressed as mean and standard deviation (SD) or median and interquartile range (IQR) according to their distribution as assessed by the Shapiro-Wilk test. PFS and OS survival curves were estimated by the Kaplan-Meier method. Cox regression models were used to investigate the influence of post-radiotherapy lymphocyte changes on OS and PFS adjusted for potential confounders. The independent factors previously defined to be evaluated in the model were BED, PTV, age, histological type, and chemotherapy.

Possible associations between lymphocyte changes and PTV, BED, normal lung volume with more than 5 Gy and 20 Gy, and chemotherapy were investigated by Pearson or Spearman's correlation according to the data distribution. The *t* test was used to assess differences in lymphocyte counts according to the administration of neoadjuvant or concurrent chemotherapy.

Statistical analysis was performed using SPSS, version 21.0. The level of significance was set at 5%, but variables with $p < 0.20$ in the univariate analysis were included in the multivariate model.

RESULTS

A total of 46 patients were included, with a median follow-up of 13 months (IQR, 1-39 months). Most participants were in the fifth and sixth decades of life, with a similar number of men and women and a relatively preserved performance status. Most patients received concurrent or neoadjuvant chemotherapy, and the most common regimen was carboplatin and taxane (21; 70%), followed by cisplatin and etoposide (6; 20%), gemcitabine (2; 6.6 %), and pemetrexete (1; 3.3%). The median overall survival was 22.8 months (95% CI 17.6 to 28.1) and the PFS 19.7 (95% CI 14.7 to 24.2), both measured from diagnosis (Figure 1). Immediately after radiotherapy, most patients had total lymphocyte counts below the reference range (36; 78.2%), but the median counts for lymphocyte subsets were within the reference range. (Table 1).

The median baseline total lymphocyte count was 1673 cells/mm³ (IQR, 1016-2180 cells/mm³). At 2 months after radiotherapy, total lymphocyte count had a 43% decrease, dropping to a median of 896 cells/mm³ (IQR, 682-1186 cells/mm³) ($p < 0.0001$), without returning to baseline values at 6 months (median, 1032 cells/mm³; IQR, 696-1.339 cells/mm³) and at 12 months (median, 1085 cells/mm³; IQR, 897-1.631 cells/mm³) (Figure 1). The CD3, CD8, and CD4 lymphocyte subsets also showed a decrease in their counts at 2 months after radiotherapy ($p < 0.05$), with a

non-significant increase at 6 and 12 months.

Therefore, considering 6 months after radiotherapy as the time point at which lymphocyte counts stabilize (similar to those at 12 months and slightly higher than those at 2 months), we used this time point to investigate the impact of lymphocyte counts on the primary outcomes (PFS and OS). Regardless of chemotherapy type, BED used, PTV, and histological type, each 100 cells/mm³ increase in absolute lymphocyte count at 6 months after radiotherapy reduced the risk of events by 56% (hazard ratio [HR], 0.44; 95% confidence interval [CI], 0.25-0.77; $p=0.0001$) at the end of the follow-up period. Likewise, each 100 cells/mm³ increase in the difference in total lymphocyte counts (from baseline to 6 months) reduced the risk of death by 17% (HR, 0.83; 95%CI, 0.70-0.98; $p=0.025$) (Table 2).

BED was the tendency to be inversely related to lymphocyte count at 12 months (Figure 2). In Figure 2, the results indicate that, for large volumes used for the treatment of stage III lung cancer, with a median PTV greater than 500cc, higher BEDs tend to keep total lymphocyte count below 1000 cells/mm³, as analyzed at 12 months after radiotherapy.

DISCUSSION

The overall survival of all patients was 22.9 months and, although our median is higher than the control arm of the PACIFIC⁴ study 14.6 (95% CI 10.6 - 18.6), our data are similar to those of other researchers. Hanna et al. 19 showed a median overall survival of 21.7 months for all patients in their study when they compared the use or not of consolidative docetaxel after chemoradiotherapy for non-small cell lung

cancer EC III. This study showed that the median OS was not better with consolidating docetaxel, with a tendency for patients who did not use consolidating docetaxel to have a longer survival. It is important to mention that our cohort had only good performance and high schooling, positive prognostic factors for overall survival²⁰. Our patients showed a significant decrease in total lymphocyte counts at 2, 6, and 12 months after radiotherapy with large radiation fields. The mean lymphocyte count at 2 months was below 1000 cells/mm³, exceeding this count only at 6 months after radiotherapy. Cho et al.¹⁵ showed that patients with metastatic lung cancer treated with immunotherapy had an OS of 5.7 vs 12.1 months ($p < 0.001$) when lymphocyte counts were less than or greater than 1000 cells/mm³, respectively.

The median PTV in our sample was 532cc, including the primary tumor plus involved lymph nodes with CTV and ITV margins, which resulted in a large volume of irradiated blood. Previous studies^{16,17} have shown that it is possible to estimate the amount of irradiated blood through the mean dose volume (in Gy) delivered to the heart, lung, and whole body multiplied by the number of fractions. Jin et al.⁹ developed an equation using these data, and the numerical result of this calculation, in Gy, was called the effective dose to the immune cells (EDIC). They reported that an EDIC ≥ 7.3 Gy is associated with a significantly greater reduction in local tumor control, probably due to a decline in lymphocyte counts, which supports the present findings.

In the present study, most patients received concurrent (30; 65%) or neoadjuvant chemotherapy (13; 28.3%). Although only a small number of patients did not receive chemotherapy, our data are consistent with those from larger series

showing that neoadjuvant or concurrent chemotherapy was not responsible for long-term lymphopenia.¹⁸

The PACIFIC trial, one of the first studies to show relevant data in stage III NSCLC on local tumor control and survival, used immunotherapy after chemoradiotherapy.⁴ Although data on the irradiated volume were not reported, the patients probably received volumes similar to those used in our patients, because like in the present study, only patients with stage III lung cancer were included. Also, usual radiation doses were used, where 99% of patients received a dose of 54 to 74 Gy. Therefore, it can be assumed that there was a significant loss of lymphocytes during chemoradiotherapy, which may have reduced the potential of immunotherapy. The PACIFIC2 trial (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03519971) is currently underway, and the use of immunotherapy combined with chemoradiotherapy at the start of treatment is evaluated in one of the study arms. Early use of immunotherapy may benefit from the presence of more lymphocytes; the results are awaited with interest.

CONCLUSION

Lymphocyte depletion in irradiated patients reduces OS and PFS. Irradiation with higher BEDs (at least BED_{10} of 72Gy) can reduce the number of events and increase survival, but it also reduces lymphocyte count in the long term. With the advent of immunotherapy, it is even more necessary to understand the best time to start radiotherapy and at which volume. The benefits of standard radiation doses or dose escalation without an excessive loss of lymphocytes warrant further

investigation in studies with a larger sample size. Immunotherapy at different time points (before, during, or after radiotherapy) and use of smaller radiation fields with high doses may be key issues for the future of lung cancer treatment.

Financial disclosure: The authors have no financial relationships relevant to this article to disclose.

Disclosure of interest: The authors report no conflict of interest.

REFERENCES

1. Ahn JS, Ahn YC, Kim JH, Lee CG, Cho EK, Lee KC, Chen M, Kim DW, Kim HK, Min YJ, et al. Multinational Randomized Phase III Trial With or Without Consolidation Chemotherapy Using Docetaxel and Cisplatin After Concurrent Chemoradiation in Inoperable Stage III Non-Small-Cell Lung Cancer: KCSG-LU05-04. *J Clin Oncol*. 2015;33(24):2660-6. doi:10.1200/JCO.2014.60.0130.
2. Auperin A, Le Pechoux C, Rolland E, Curran WJ, Furuse K, Fournel P, Belderbos J, Clamon G, Ulutin HC, Paulus R, et al. Meta-analysis of concomitant versus sequential radiochemotherapy in locally advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2010;28(13):2181-90. doi:10.1200/JCO.2009.26.2543.
3. Yoon SM, Shaikh T, Hallman M. Therapeutic management options for stage III non-small cell lung cancer. *World J Clin Oncol*. 2017;8(1):1-20. doi:10.5306/wjco.v8.i1.1.
4. Antonia SJ, Villegas A, Daniel D, Vicente D, Murakami S, Hui R, Kurata T, Chiappori A, Lee KH, de Wit M, et al. Overall Survival with Durvalumab after Chemoradiotherapy in Stage III NSCLC. *N Engl J Med*. 2018;379(24):2342-2350. doi:10.1056/NEJMoa1809697.
5. Cho Y, Park S, Byun HK, Lee CG, Cho J, Hong MH, Kim HR, Cho BC, Kim S, Park J, et al. Impact of Treatment-Related Lymphopenia on Immunotherapy for Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2019;105(5):1065-1073. doi:10.1016/j.ijrobp.2019.08.047.
6. Pike LRG, Bang A, Mahal BA, Taylor A, Krishnan M, Spektor A, Cagney DN, Aizer AA, Alexander BM, Rahma O, et al. The Impact of Radiation Therapy on Lymphocyte Count and Survival in Metastatic Cancer Patients Receiving PD-1 Immune Checkpoint Inhibitors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2019;103(1):142-151. doi:10.1016/j.ijrobp.2018.09.010.
7. Zuazo M, Arasanz H, Fernandez-Hinojal G, Garcia-Granda MJ, Gato M, Bocanegra A, Martinez M, Hernandez B, Teijeira L, Morilla I, et al. Functional systemic CD4 immunity is required for clinical responses to PD-L1/PD-1 blockade therapy. *EMBO Mol Med*. 2019;11(7):e10293. doi:10.15252/emmm.201910293.
8. Rahman R, Catalano PJ, Arvold ND, Aizer AA, Weiss SE, Pinnell N, Horvath MC, Christianson L, Reardon DA, Lee EQ, et al. Chemoradiation-related lymphopenia is common among glioblastoma patients and is associated with worse progression-free and overall survival. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2016;96(2):E123. doi:10.1016/j.ijrobp.2016.06.2512.
9. Jin JY, Hu C, Xiao Y, Zhang H, Ellsworth S, Schild SE, Bogart JA, Dobelbower MC, Kavadi VS, Narayan S, et al. Higher radiation dose to immune system is correlated with poorer survival in patients with stage III non-small cell lung cancer: a secondary study of a phase 3 cooperative group trial (NRG Oncology RTOG 0617). *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2017;99(2):S151-S152. doi:10.1016/j.ijrobp.2017.06.351.
10. Balmanoukian A, Ye X, Herman J, Laheru D, Grossman SA. The association between treatment-related lymphopenia and survival in newly diagnosed patients

with resected adenocarcinoma of the pancreas. *Cancer Invest.* 2012;30(8):571-6. doi:10.3109/07357907.2012.700987.

11. Golden EB, Apetoh L. Radiotherapy and immunogenic cell death. *Semin Radiat Oncol.* 2015;25(1):11-7. doi:10.1016/j.semradonc.2014.07.005.

12. Frey B, Rubner Y, Wunderlich R, Weiss EM, Pockley AG, Fietkau R, Gaipl US. Induction of abscopal anti-tumor immunity and immunogenic tumor cell death by ionizing irradiation - implications for cancer therapies. *Curr Med Chem.* 2012;19(12):1751-64. doi:10.2174/092986712800099811.

13. Yang H, Jin T, Li M, Xue J, Lu B. Synergistic effect of immunotherapy and radiotherapy in non-small cell lung cancer: current clinical trials and prospective challenges. *Precis Clin Med.* 2019;2(1):57–70. doi:10.1093/pcmedi/pbz004.

14. Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann Surg Oncol.* 2010;17(6):1471-4. doi:10.1245/s10434-010-0985-4.

15. Cho Y, Park S, Byun HK, Lee CG, Cho J, Hong MH, Kim HR, Cho BC, Kim S, Park J, et al. Impact of Treatment-Related Lymphopenia on Immunotherapy for Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2019;105(5):1065-1073. doi:10.1016/j.ijrobp.2019.08.047.

16. Rudra S, Hui C, Rao YJ, Samson P, Lin AJ, Chang X, Tsien C, Fergus S, Mullen D, Yang D, et al. Effect of Radiation Treatment Volume Reduction on Lymphopenia in Patients Receiving Chemoradiotherapy for Glioblastoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2018;101(1):217-225. doi:10.1016/j.ijrobp.2018.01.069.

17. Ladbury CJ, Rusthoven CG, Camidge DR, Kavanagh BD, Nath SK. Impact of Radiation Dose to the Host Immune System on Tumor Control and Survival for Stage III Non-Small Cell Lung Cancer Treated with Definitive Radiation Therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2019;105(2):346-355. doi:10.1016/j.ijrobp.2019.05.064.

18. Campian JL, Ye X, Brock M, Grossman SA. Treatment-related lymphopenia in patients with stage III non-small-cell lung cancer. *Cancer Invest.* 2013;31(3):183-8. doi:10.3109/07357907.2013.767342.

19. Hanna N, Neubauer M, Yiannoutsos C, McGarry R, et al. Phase III Study of Cisplatin, Etoposide, and Concurrent Chest Radiation With or Without Consolidation Docetaxel in Patients With Inoperable Stage III Non-Small-Cell Lung Cancer: The Hoosier Oncology Group and U.S. Oncology J Clin Oncol 2008; 26:5755-5760. doi: 10.1200/JCO.2008.17.7840.

20. Jessica D. Albano, Elizabeth Ward, Ahmedin Jemal, Robert Anderson, Vilma E. Cokkinides, Taylor Murray, Jane Henley, Jonathan Liff, Michael J. Thun, Cancer Mortality in the United States by Education Level and Race, *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* 2007 Spt 19;99(Issue 18): 1384–94, Available from: <https://doi.org/10.1093/jnci/djm127>.

TABLES

Table 1. Baseline characteristics of included patients.

Variables	n = 46
Age (years) – mean ± SD	62.9 ± 7.1
Sex – n (%)	
Male	26 (56.5)
Female	20 (43.5)
Histology – n (%)	
Adenocarcinoma	21 (45.7)
Squamous cell carcinoma	18 (39.1)
Other	7 (15.2)
Total lymphocytes (cells /mm ³) - mean ± SD	1632 ± 741
CD4 (cells/mm ³) – median (P25-P75)	876.5 (473.5 – 1062.5)
CD3 (cells/mm ³) – median (P25-P75)	1188 (779 – 1585)
CD8 (cells/mm ³) – median (P25-P75)	363 (258 – 483.5)
PTV (cm ³) – median (P25-P75)	532.5 (323.5 – 930.3)
BED ₁₀ (Gy) - mean ± SD	72.3 ± 11.8
V5Gy – mean ± SD	47.7± 20.6
V 20Gy – mean ± SD	22.8 ± 10.6
Concurrent chemotherapy – n (%)	30 (65.2)
Neoadjuvant chemotherapy – n (%)	13 (28.3)
OS (months) – median (IC 95%)	22.8 (17.6 to 28.1)
PFS (months) – median (IC 95%)	19,7 (14.7 to 24.2)

Variables	n = 46
Event – n (%)	21 (45.7)
Progression – n (%)	15 (32.6)
CNS	6/15 (40)
Local	9/15 (60)
Bony	4/15 (26.7)
Death – n (%)	17 (37.0)

PTV, planning target volume; BED, biologically effective dose; CNS, central nervous system; SD, standard deviation; P25-P75, 25th-75th percentile, V5Gy: Lung volume receiving more than 5Gy; V20Gy: Lung volume receiving more than 20Gy

Table 2. Results of multivariate Cox regression analysis for factors associated with progression and death.

Variables	Progression-free survival		Overall survival	
	HR (95%CI)	<i>p</i>	HR (95%CI)	<i>p</i>
Histological type				
Adenocarcinoma	1.00	-	-	-
Squamous carcinoma	1.66 (0.50 - 5.53)	0.409	-	-
Other	1.43 (0.22 - 9.39)	0.711	-	-
Total lymphocytes (100 cells/mm ³)				
6 months after radiotherapy	0.44 (0.25 - 0.77)	0.004	-	-
Δ Baseline – 6 months	-	-	0.83 (0.70 - 0.98)	0.025
CD4/lymphocyte ratio				
Baseline	0.95 (0.86 - 1.05)	0.319	-	-
PTV (cm ³) (100 cells/mm ³)	0.81 (0.55 - 1.21)	0.306	0.76 (0.49 - 1.19)	0.234
BED ₁₀ (Gy)	0.52 (0.33 - 0.83)	0.006	0.73 (0.54 - 0.97)	0.029

Lung volume with more than 5Gy	1.00 (0.98 – 1.03)	0.860	1.08 (0.99 – 1.18)	0.095
Lung volume with more than 20Gy	-	-	1.04 (0.85 – 1.28)	0.691
Concurrent chemotherapy	0.19 (0.00 – 0.386)	-	-	-

PTV, planning target volume; BED, biologically effective dose; HR, hazard ratio; 95%CI, 95% confidence interval.

FIGURE LEGENDS

Figure 1. Total lymphocytes vs post-irradiation time.

Data presented as mean and 95% confidence interval.

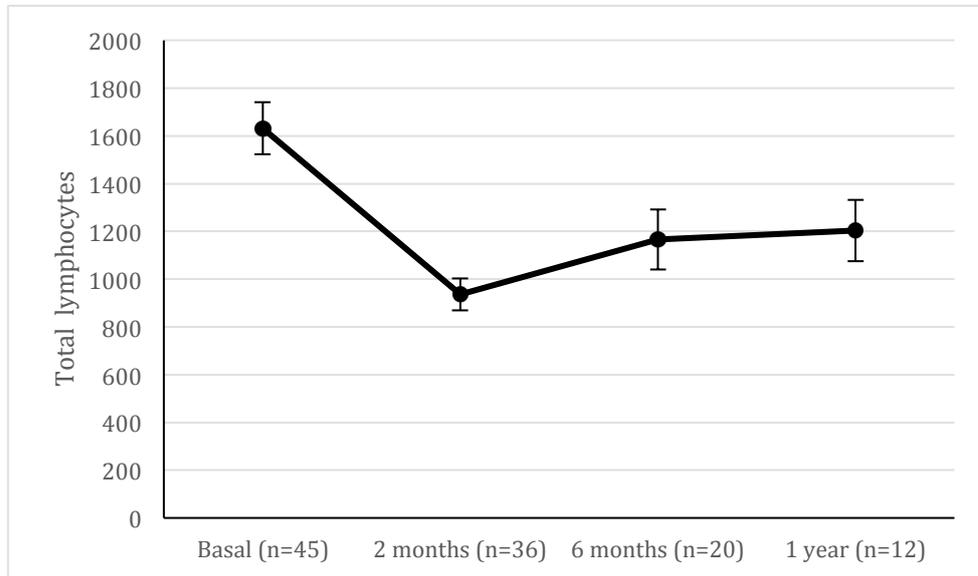
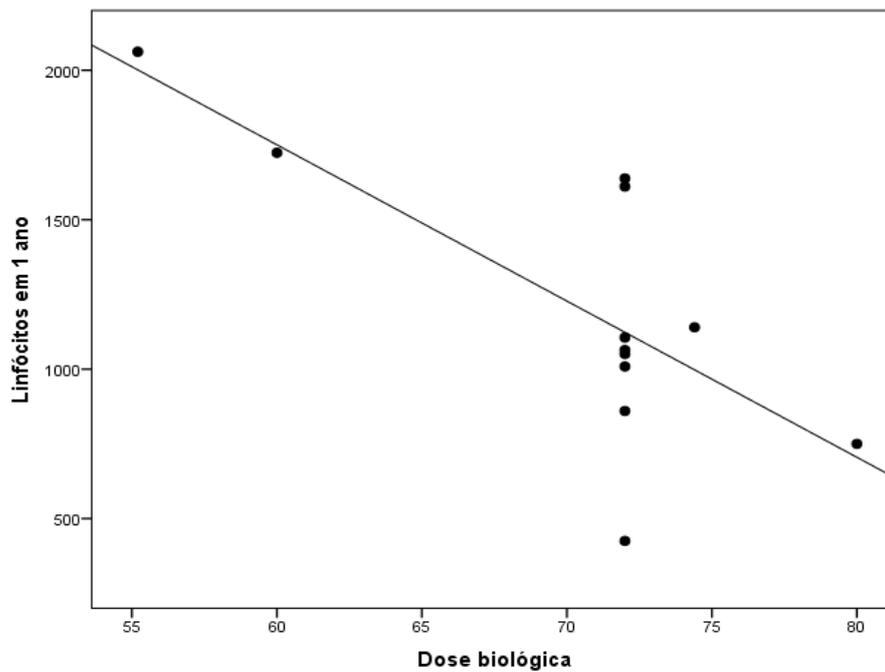


Figure 2. Pearson's correlation between biologic dose and total lymphocytes.

$r = -0.732$; $p = 0.007$



7 CONCLUSÕES

1) Quanto maior a diferença dos linfócitos do sexto mês em relação ao mês do início da irradiação, maior a chance de morrer pelo tumor. A cada cem linfócitos preservados entre o início da radioterapia e 6 meses após, há um aumento na chance de sobrevida em 2 anos, superando 15% (HR 0,83 para OS; $p=0,025$).

2) A cada cem linfócitos poupados entre o primeiro e o sexto mês pós-irradiação, há uma chance acima de 50% no controle tumoral, comparando-se a quem não tem esse índice (HR 0,44 para PFS; $p=0,0004$).

3) A realização de quimioterapia pré-irradiação ou durante a radioterapia não foi associada à perda de linfócitos aos 2, 6 e 12 meses após a irradiação se comparado com a sua não realização. A dose biológica, BED, não teve associação estatisticamente significativa com a variação de linfócitos aos 6 meses ($r=-0,248$; $p=0,305$).

4) A mediana da contagem linfocitária total no início da radioterapia foi de 1632 (IC 95% 1523 - 1741); aos dois meses, 935 (IC 95% 889 - 1001); aos 6 meses, 1166 (IC 95 % 1040 a 1292); e, aos 12 meses, 1203 (IC 95% 1095 a 1331). A contagem linfocitária diminuiu estatisticamente do início da radioterapia para todos os outros meses. A retomada do número de linfócitos mostrou aumento significativo entre o segundo e décimo segundo mês, mas sem alcançar valores basais.

5) Nenhum tipo histológico se mostrou mais propenso do que outro à perda linfocitária.

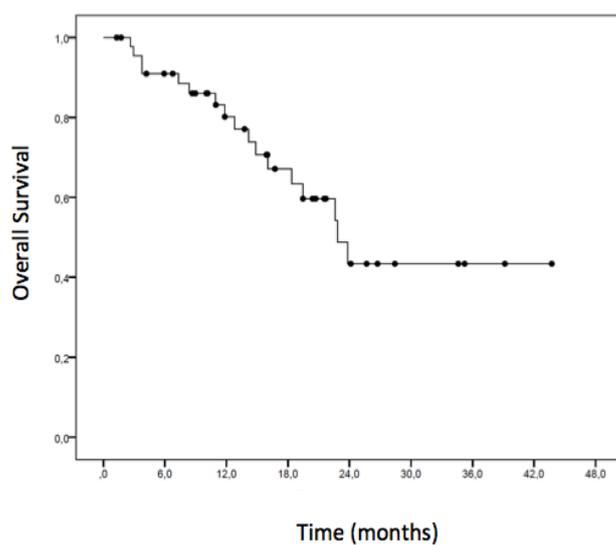
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS/PERSPECTIVAS FUTURAS

Dados desta pesquisa mostraram que a deleção linfocitária pela irradiação é, de forma independente, fator prognóstico negativo no controle tumoral e sobrevida geral dos pacientes com tumores localmente avançados de neoplasia pulmonar. Adicionalmente, linfócitos T CD4 assinalaram os maiores prejuízos pela irradiação. Dados abaixo, não expostos anteriormente, sobre o comportamento do CD4 serão descritos.

Há, adicionalmente, a apresentação gráfica da correlação do volume de pulmão recebendo doses baixas de irradiação, 5Gy (V5Gy), e a alteração linfocitária.

Esses dados deverão fazer parte de outra publicação em breve.

Figura 1 e Figura 2: Sobrevida global e Sobrevida livre de progressão dos pacientes do estudo, não anexada ao artigo.



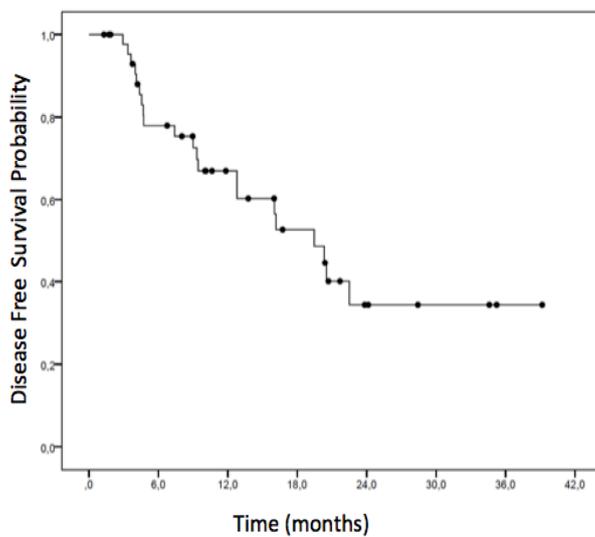
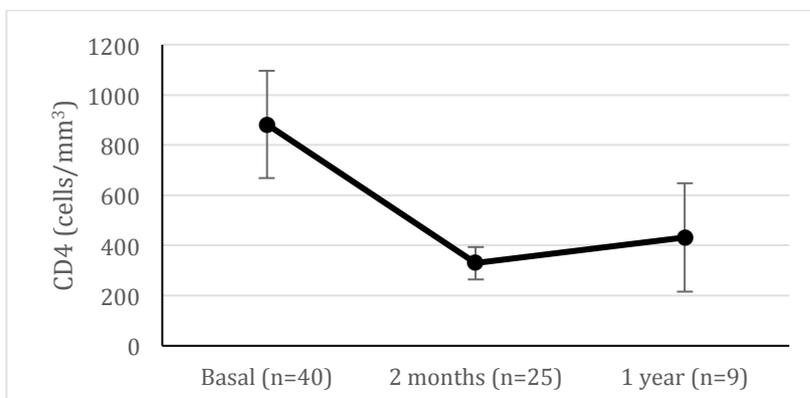
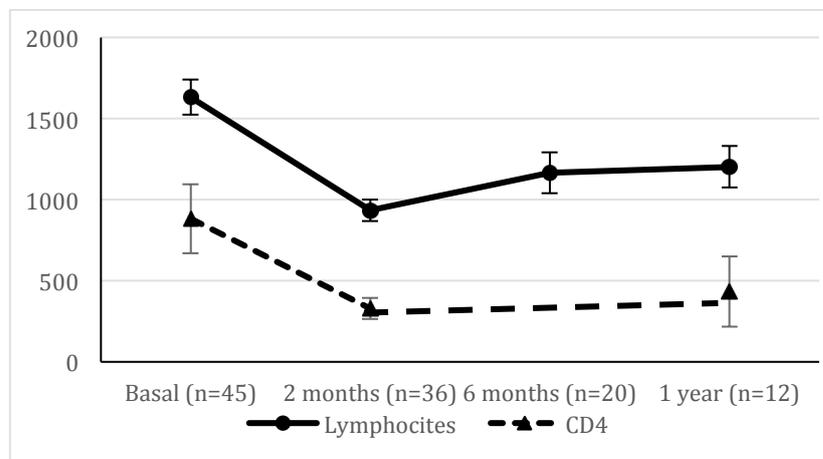


Figura 3: Representação gráfica do comportamento dos CD4 pelo tempo decorrido pós-irradiação. Tempo calculado a partir do D1 da irradiação.



Há uma queda significativa de CD4 / linfócitos totais em 2 meses e um aumento não significativo de 2 meses a um ano, $p = 0,088$.

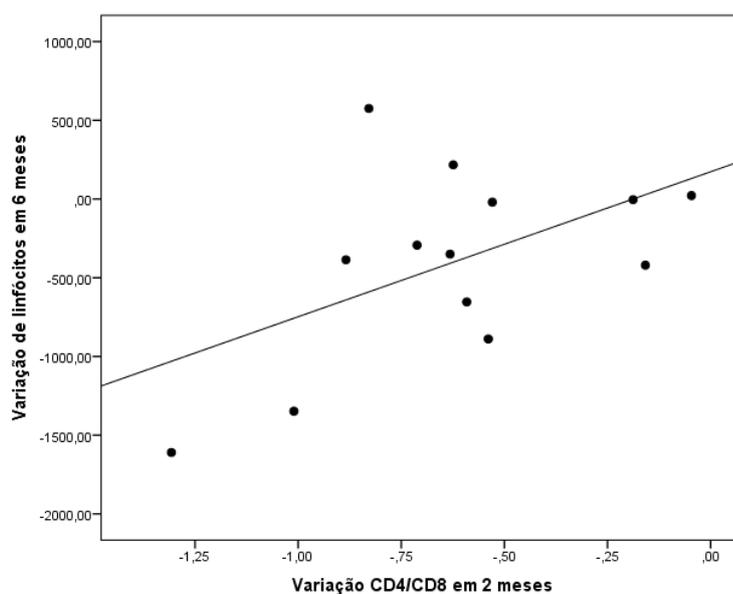
Figura 4: representação gráfica do comportamento dos linfócitos totais e dos linfócitos CD4 durante o tempo. Tempo calculado a partir do D1 da irradiação.



Dados apresentados por mediana e intervalo interquartil

Neste gráfico indica-se que o linfócito CD4 teve piora da curva de crescimento pós-queda importante depois da irradiação torácica em comparação com linfócitos totais.

Figura 5: Gráfico da variação do índice CD4/CD8 aos dois meses e variação de linfócitos totais aos 6 meses.

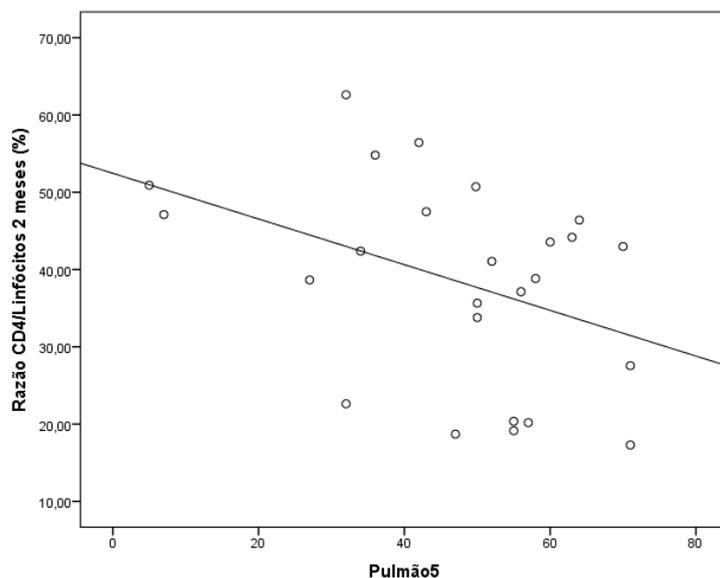


Conforme pode ser visualizado nesta figura, quanto maior a redução da razão CD4/CD8 do basal para 2 meses, maior a redução da contagem de linfócitos do basal para 6 meses. Para um aumento de 1 unidade na razão CD4/CD8 do basal para 2 meses, há um aumento médio de 1.020 na contagem de linfócitos do basal para 6 meses ($b=10,2$; IC95%: 0,96 a 19,3; $\beta=0,585$; $p=0,034$).

CD4 e resposta à imunoterapia

Esta pesquisa mostra uma queda de 62% no valor total dos linfócitos T CD4 do valor basal atingido 60 dias depois da radioterapia e no decorrer da análise, após 1 ano da irradiação, o CD4 chega a valor médio pouco acima de 50% do valor basal. Embora se contasse com poucos pacientes na análise de 1 ano, a análise de 60 dias, com um número um pouco maior de pacientes e com significância estatística na diferença entre o basal possibilitou levantar uma hipótese interessante. Em primeiro lugar, a queda do CD4 foi percentualmente maior que a de linfócitos totais e, em segundo, a retomada foi percentualmente também inferior à retomada dos linfócitos totais. Pesquisa publicada recentemente (70) mostrou que pacientes com câncer de pulmão metastático tiveram resposta efetiva ao uso de drogas bloqueadoras de PD1/PDL1 quando o percentual de linfócitos T CD4 funcionantes era de, no mínimo, 40% do total de linfócitos T.

Figura 6: Representação gráfica de uma análise de correlação de Pearson da razão CD4/Linfócitos totais e volume de pulmão recebendo 5Gy.



$r=-0,402$; $p=0,046$

*Pulmão 5: volume de pulmão sadio recebendo 5Gy ou mais

Neste gráfico, ilustra-se a correlação da dose sadio do pulmão recebendo 5 Gy e a variação de linfócitos aos 2 meses, mostrando uma relação inversa entre eles e justificando a necessidade de proteção de tecido sadio pulmonar mesmo em doses bastante baixas.

Perspectiva futura: formas de adiar e ou diminuir a perda linfocitária devem ser estudadas com intuito de aumento da sobrevida dos pacientes irradiados por neoplasia primária pulmonar.

9 APÊNDICE

Portal do Governo Brasileiro

Plataforma Brasil

principal x sair

Público Pesquisador Alterar Meus Dados

JULIANA MATELLO - Pesquisador | V3.2

Cadastros Sua sessão expira em: 38min 33

DETALHAR PROJETO DE PESQUISA

DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Irradiação torácica como causa de linfopenia em pacientes tratados por neoplasia de pulmão
Pesquisador Responsável: JULIANA MATELLO
Área Temática:
Versão: 2
CAAE: 56936016.1.1001.5335
Submetido em: 10/08/2016
Instituição Proponente: Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA
Situação da Versão do Projeto: Aprovado
Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

Comprovante de Recepção:  PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_061291

DOCUMENTOS DO PROJETO DE PESQUISA

Versão Atual Aprovada (PO) - Versão 2

- Pendência de Parecer (PO) - Versão 2
 - Documentos do Projeto
 - Comprovante de Recepção - Submissão 4
 - Cronograma - Submissão 4
 - Folha de Rosto - Submissão 4
 - Informações Básicas do Projeto - Submissão 4
 - Orçamento - Submissão 4
 - Outros - Submissão 4
 - Projeto Detalhado / Brochura Investigação - Submissão 4
 - TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa - Submissão 4
 - Apreciação 4 - Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA
 - Projeto Completo

Tipo de Documento	Situação	Arquivo	Postagem	Ações
-------------------	----------	---------	----------	-------

LISTA DE CENTROS PARTICIPANTES E COPARTICIPANTES

HISTÓRICO DE TRÂMITES

Apreciação	Data/Hora	Tipo Trâmite	Versão	Perfil	Origem	Destino	Informações
PO	31/10/2016 11:17:40	Parecer liberado	2	Coordenador	Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA	PESQUISADOR	
PO	31/10/2016 11:13:28	Parecer do colegiado emitido	2	Coordenador	Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA	Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA	
PO	29/10/2016 13:57:11	Parecer do relator emitido	2	Membro do CEP	Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA	Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA	
PO	04/09/2016 16:58:37	Aceitação de Elaboração de Relatoria	2	Membro do CEP	Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA	Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA	
PO	11/08/2016 14:51:33	Confirmação de Indicação de Relatoria	2	Coordenador	Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA	Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA	
PO	11/08/2016 10:30:31	Indicação de Relatoria	2	Secretária	Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA	Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA	
PO	11/08/2016 10:37:53	Aceitação do PP	2	Secretária	Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA	Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA	
PO	10/08/2016 20:53:14	Submetido para avaliação do CEP	2	Pesquisador Principal	PESQUISADOR	Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA	
PO	11/07/2016 10:06:23	Parecer liberado	1	Coordenador	Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA	PESQUISADOR	
PO	11/07/2016 10:03:40	Parecer do colegiado emitido	1	Coordenador	Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA	Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA	

Ocorrência 1 a 10 de 20 registro(s)