

**Perfil imunohistoquímico dos marcadores TTF-1 e NAPSIN-A no
câncer de pulmão: estudo em amostras de um laboratório de
referência na amazônia oriental**

**Immunohistochemical profile of TTF-1 and NAPSIN-A markers in
lung cancer: study on samples from a reference laboratory in the
eastern amazon**

DOI:10.34117/bjdv7n7-633

Recebimento dos originais: 07/06/2021

Aceitação para publicação: 30/07/2021

Gabriella Pinheiro do Vale

Biomédica - Faculdade Cosmopolita
Instituição: Laboratório Paulo C. Azevedo
Endereço: Passagem Marajoara 3, 5^a. CEP: 66110250
E-mail: gabrielladovale@yahoo.com.br

Camila Souza de Oliveira

Biomédica - Faculdade Cosmopolita
Instituição: Laboratório Paulo C. Azevedo
Endereço: Passagem Marajoara 3, 5^a
E-mail: camilasouza0391@gmail.com

Géssica Valéria Rocha Ferro

Bióloga, MSc. em Biologia Parasitária na Amazônia
Instituição: Laboratório Paulo C. Azevedo
Endereço: Conjunto Satélite, We 3, n° 244
E-mail: gessicavferro@gmail.com

Leônidas Braga Dias Junior

Médico Patologista, Prof.Dr Adjunto do Curso de Medicina - UEPA. Diretor do
Laboratório Paulo C. Azevedo
Endereço: Travessa Padre Eutíquio, 1922, apto 1700, CEP: 66033-720, Belém, PA,
Brasil
E-mail: leonidas.lbdj@gmail.com

Charliana Aragão Damasceno

Farmacêutica-Bioquímica, Profa/Dra em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários
– UFPA
Instituição: Faculdade Cosmopolita
Endereço: Avenida Almirante Barroso, N°1548 -103^a. CEP: 66093-033, Belém, PA,
Brasil
E-mail: Charliana.aragao20@gmail.com

RESUMO

Introdução: O câncer de pulmão é uma causa preocupante de morte no mundo inteiro, sendo o segundo mais comum em homens e mulheres no Brasil. Existem vários painéis de anticorpos para detecção do câncer de pulmão, dentre estes o TTF-1 e Napsin A são amplamente utilizados. **Objetivos:** realizar levantamento dos casos de câncer de pulmão (CaP) para verificar a frequência dos subtipos de neoplasias pulmonares e relacionar os achados com o perfil imunohistoquímico (IHQ) dos genes TTF-1 e Napsin A. **Metodologia:** Estudo transversal observacional e descritivo realizado em pacientes de ambos os sexos diagnosticados com câncer de pulmão, com resultados de IHQ para os genes TTF-1 e Napsin A e que buscaram atendimento no Laboratório de Patologia Paulo C. Azevedo, na cidade de Belém – Pará, no período de 2015 a 2019. **Resultados:** No presente estudo, observou-se 8% (513/6.363) de casos suspeitos de CP deram entrada no Laboratório Paulo Azevedo no período estudado. Destes casos suspeitos, 26% (136/513) foram confirmados para câncer primário de pulmão pela IHQ. Assim, 60,3% (82/136) dos casos foram de adenocarcinoma, 35,3% (48/136) de carcinoma epidermóide e 4,4% (6/136) de tumor neuroendócrino. Os resultados obtidos evidenciaram diferença estatística significativa ($p=0,0206$), com maior proporção de casos positivos na dupla marcação [TTF1(+)/Napsin A(+)], sendo que 95% (39/41) dos casos com dupla marcação eram de adenocarcinoma; revelando ser uma excelente opção de diagnóstico e diferenciação. **Conclusão:** Este dado reforça os achados de outros autores, revelando ser uma excelente opção de diagnóstico e diferenciação a dupla marcação [TTF1(+)/Napsin A(+)] na diferenciação do CP.

Palavras-chave: Imunohistoquímica, Marcadores biológicos de tumor, Neoplasias pulmonares, adenocarcinoma de pulmão, TTF-1, Napsin A.

ABSTRACT

Introduction: Lung cancer is a worrying cause of death worldwide, being the second most common in men and women in Brazil. There are several panels of antibodies for detection of lung cancer, among which TTF-1 and Napsin A are widely used. **Objectives:** Carry out a survey of lung cancer (LC) cases to verify the frequency of lung cancer subtypes and relate the findings to the immunohistochemical profile (IHC) of the TTF-1 e Napsin A genes. **Methodology:** Cross-sectional observational and descriptive study performed in patients of both sexes diagnosed with LC, IHC results for the TTF-1 and Napsin A genes, and who sought care at the Paulo C. Azevedo Pathology Laboratory, in the city of Belém-Pará, from 2015 to 2019. **Results:** In the present study, it was observed that 8% (513/6,363) of suspected cases of LC were admitted to the Paulo Azevedo Laboratory during the study period. Of these suspected cases, 26%(136/513) were confirmed for primary lung cancer by IHC. Thus, 60.3% (82/136) of the cases were of adenocarcinoma, 35.3% (48/136) of squamous cell carcinoma and 4.4% (6/136) of neuroendocrine tumor. The results obtained showed the approximate statistical difference ($p= 0.0206$), with a higher proportion of positive cases in the double labeling [TTF1 (+) / Napsin A (+)], with 95% (39/41) of the cases with double staining were adenocarcinoma; proving to be an excellent option for diagnosis and differentiation. **Conclusion:** This data reinforces the findings of other authors, revealing that the double labeling [TTF1 (+) / Napsin A (+)] is an excellent option for diagnosis and differentiation in LC differentiation.

Keywords: Immunohistochemistry, Tumor Biological markers, Lung neoplasms, lung adenocarcinoma, TTF-1, Napsin A.

1 INTRODUÇÃO

O câncer de pulmão (CaP) é uma causa preocupante de morte no mundo inteiro, sendo o segundo mais comum entre homens e mulheres no Brasil e responsável em 2015 por 26.498 mil mortes. Em relação à sobrevida, apenas 16% dos cânceres são diagnosticados em estágio inicial (câncer localizado) e a taxa de sobrevida de cinco anos é de 56%. A taxa de sobrevida relativa em cinco anos para CaP é de 18% (15% para homens e 21% para mulheres). De acordo com o INCA (2019), estima-se no Brasil para o triênio 2020-2022 um total de 17.760 mil e 12.440 mil novos casos de CaP, respectivamente, em homens e mulheres. Esses valores correspondem a um risco estimado de 16,99 casos novos a cada 100 mil homens e 11,56 para cada 100 mil mulheres (INCA, 2020; SURIMÃ *et al*, 2020).

Marcadores tumorais são macromoléculas produzidas em resposta à presença de neoplasias malignas pelo próprio corpo ou pelas células cancerígenas, sendo que cada subtipo de tumor possui suas próprias características biológicas. Portanto, subtipos diferentes necessitam de tratamentos diferentes e a imunohistoquímica (IHQ) desempenha um papel crítico na classificação de tumores em subtipos e na avaliação dos dados mais detalhados sobre o tratamento, prognóstico, recidiva e classificação através de marcadores (RAJGURU, MOUNESHKUMAR, RADHAKRISHNAN *et al*, 2020; INAMURA, 2018).

Em relação ao diagnóstico fenotípico, existem vários painéis de anticorpos para o CP, dentre estes anticorpos, o fator de transcrição da tireoide 1 (TTF-1) e Napsin A são amplamente utilizados. O TTF-1 é um marcador molecular específico do epitélio folicular da tireoide e do epitélio alveolar, que demonstra alta sensibilidade e especificidade na marcação IHQ para o diagnóstico de CP. A NAPSIN A é um membro da família das proteinases aspárticas com alta especificidade, cuja expressão pode ser encontrada positiva em alguns adenocarcinomas de pulmão pouco diferenciado negativos pelo TTF-1 (PRABHAKARAN, XING, HOCKING *et al*, 2019; WU, ZHANG, DING *et al*, 2020). Destarte, esta pesquisa objetiva realizar levantamento dos casos de CaP no período de 2015-2019, verificando a frequência dos subtipos de neoplasias pulmonares e relacionado os achados com o diagnóstico do perfil IHQ dos genes TTF-1 e Napsin A.

2 MÉTODOS

Tipo e população de estudo

Estudo transversal, observacional e descritivo, desenvolvido com pacientes de ambos os sexos diagnosticados com CaP e que buscaram atendimento no Laboratório de Patologia Paulo C. Azevedo, na cidade de Belém – Pará, no período de 2015 a 2019.

Crítérios de inclusão e exclusão

Foram incluídos, na presente pesquisa, pacientes diagnosticados com CaP no período estudado, que possuíam resultados IHQ para os marcadores TTF-1 e Napsin A, com sítio primário pulmonar e com as classificações e subclassificações histológicas. Por sua vez, foram excluídos os pacientes: que não realizaram o teste IHQ para estes marcadores e sem informações no registro de guarda.

Procedimento de coleta

A coleta de dados foi feita a partir de registros arquivados no setor de Patologia, onde os resultados dos marcadores tumorais TTF-1 e Napsin A e o laudo diagnóstico do paciente são registrados. O número amostral foi de 136 pacientes e os dados foram obtidos utilizando uma ficha padrão de coleta de informações com os seguintes dados: sexo, idade, subclassificação histológica, resultado da IHQ (TTF-1 e Napsin A), número do bloco e número da lâmina de IHQ.

Aspectos Éticos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Ophir Loyola (HOL), Parecer nº 4.293.645/2020. A pesquisa foi desenvolvida respeitando as normas contidas na Resolução CNS 466/12, considerando os aspectos éticos e legais da pesquisa.

Estatística

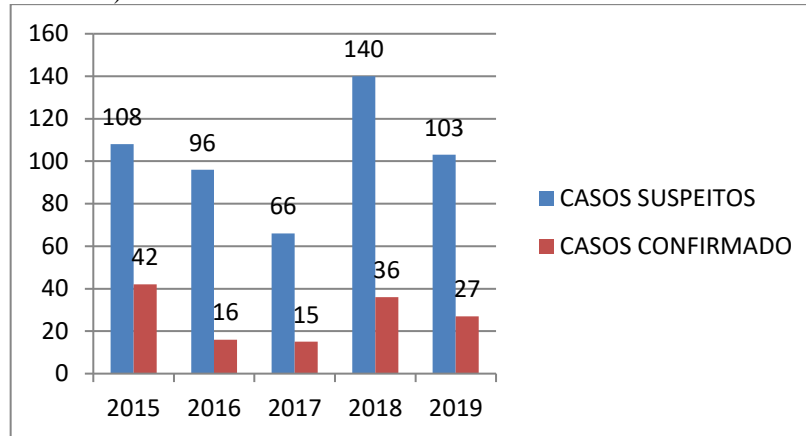
Os dados foram tabulados e analisados pelo aplicativo Bio Estat versão 5.0 (Ayres et al, 2007), utilizando-se o teste G com nível de significância aceito de 5% e $\alpha=0,05\%$.

3 RESULTADOS

No presente estudo, 8% (513/6.363) de casos suspeitos de CaP deram entrada no Laboratório Paulo Azevedo nos anos 2015 a 2019. Destes casos suspeitos, 26% (136/513) foram de casos confirmados para câncer primário de pulmão pela IHQ (Figura 1). Assim,

considerando este universo, 46% (62/136) dos sujeitos com CP eram do sexo feminino, enquanto 54% (74/136) pertenciam ao sexo masculino (Tabela 1). Verificou-se também que, dentro das faixas etárias, 26,5% (36/136) apresentaram idade entre 31-60 anos e 72,8% (99/136) dos pacientes estavam na faixa etária ≥ 61 anos.

Figura 1. Distribuição dos casos suspeitos e confirmados de Câncer Primário de Pulmão, de acordo com o ano de detecção (2015-2019).



Fonte: Elaboração própria, 2020.

Tabela 1. Distribuição dos casos de Câncer Primário de Pulmão na linha histórica dos anos de 2015 a 2019, de acordo com o gênero e a faixa etária.

VARIÁVEIS	PERÍODO					TOTAL
	2015	2016	2017	2018	2019	
GÊNERO						
Feminino	13	7	8	20	14	62
Masculino	29	9	7	16	13	74
FAIXA ETÁRIA						
≤ 30 anos	0	0	0	1	0	1
31 – 60 anos	14	6	3	7	6	36
≥ 61 anos	28	10	12	28	21	99
TOTAL	42	16	15	36	27	136

Quando observado a distribuição geral dos casos de CaP, segundo a classificação histopatológica (Tipo) verificou-se que, 60,3% (82/136) foram de adenocarcinoma, 35,3% (48/136) de carcinoma e 4,4% (6/136) de tumor neuroendócrino. Estes casos quando foram distribuídos de acordo com sexo (Tabela 2) e idade (Tabela 3), não mostraram diferença estatística significativa ($p > 0,05$), revelando que a frequência do tipo de câncer não difere entre as faixas etárias e o sexo. No entanto, verificou-se que 72% (29/40) das mulheres e 69% (29/42) dos homens com adenocarcinoma estavam na faixa etária ≥ 61 anos. Em relação ao diagnóstico de carcinoma, 84% (16/19) das mulheres e 76% (22/29) dos homens pertenciam a faixa etária ≥ 61 anos. O percentual de câncer de pulmão não pequenas células (CPNPC) foi de 94% (128/136). Apenas um sujeito do sexo

feminino, com idade de 30 anos, foi diagnosticado com adenocarcinoma (Tabela 3), com duplo positivo para os marcadores TTF1 e Napsin A.

Tabela 2. Distribuição dos casos de câncer de pulmão, segundo a classificação histopatológica e o sexo dos sujeitos investigados no período de 2015-2019.

CLASSIFICAÇÃO	SEXO		TOTAL
	FEMININO	MASCULINO	
Adenocarcinoma	40	42	82
Carcinoma Epidermóide	19	29	48
T. Neuroendócrino^a	3	3	6
TOTAL	62	74	136

^a = Tumor Neuroendócrino;
Teste-G (Williams)=1,0369; p=0,5955.

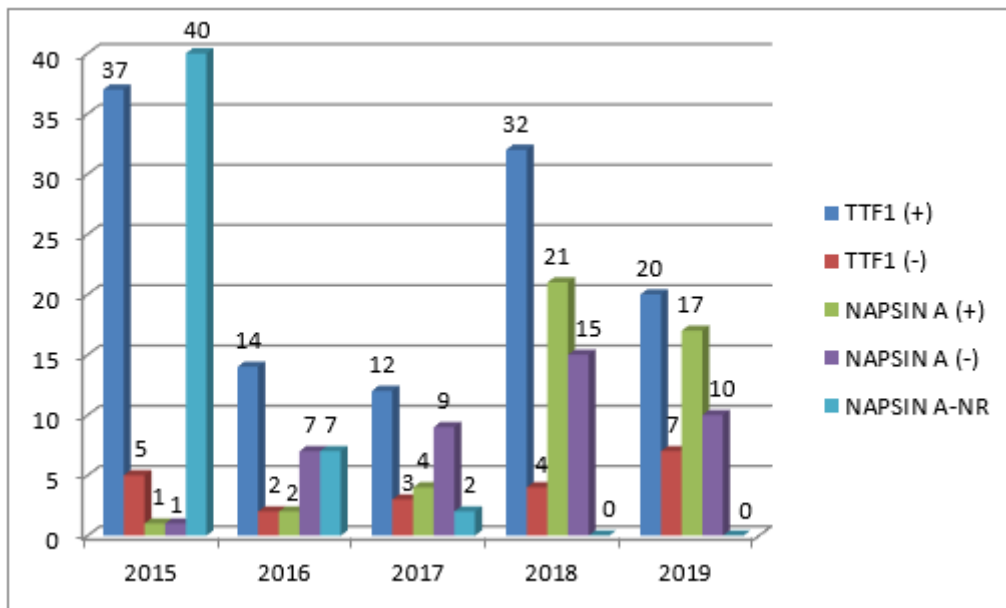
Tabela 3. Distribuição dos casos de câncer de pulmão, segundo a classificação histopatológica e a idade dos sujeitos investigados no período de 2015-2019.

CLASSIFICAÇÃO	IDADE			TOTAL
	≤ 30 anos	31 – 60 anos	≥ 61 anos	
Adenocarcinoma	1	23	58	82
Carcinoma Epidermóide	0	10	38	48
T. Neuroendócrino^a	0	3	3	6
TOTAL	1	36	99	136

^a = Tumor Neuroendócrino
Teste-G (Williams)=1,6449; p=0,8007

Na Figura 2, observa-se que 95% (40/42) e 44% (7/16) das amostras com CaP não foram submetidas a avaliação IHQ pelo marcador Napsin A, respectivamente nos anos de 2015 e 2016, pois este ainda estava em processo de padronização. Considerando os anos de 2015, 2016, 2017, 2018 e 2019, respectivamente, verificou-se que 88% (37/42), 87% (14/16), 80% (12/15), 89% (32/36) e 74% (20/27) das amostras foram positivas para o TTF1. Em relação ao marcador Napsin A, nos anos de 2017, 2018 e 2019, tem-se respectivamente, 27% (4/15), 58% (21/36) e 63% (17/27) de casos positivos para este marcador, porém na comparação entre os dois marcadores para o período de 2017-2019 não apresentou diferença estatística (*Teste-G (Williams)=2,0754; p=0,3543*).

Figura 2. Distribuição dos resultados da IHQ com os marcadores TTF-1 e Napsin A no período de 2015-2019.



Fonte: Elaboração própria, 2020.

Na tabela 4, estão distribuídos apenas os casos de câncer de pulmão do período de 2017 a 2019. Assim, os casos de CaP diagnosticados foram distribuídos conforme a classificação histopatológica e os resultados para os marcadores TTF-1 e Napsin A, observando diferença estatística significativa ($p=0,0206$), com maior proporção de casos positivos na dupla marcação [TTF-1(+)/Napsin A(+)]. Foi constatado que, 95% (39/41) dos casos com dupla marcação eram de adenocarcinoma, sendo que destes 56% (22/39) eram do sexo feminino e 74% (29/39) pertenciam a faixa etária ≥ 61 anos.

Tabela 4. Distribuição dos casos de câncer de pulmão, segundo a classificação histopatológica e o resultado do marcador TTF-1 e Napsin A dos sujeitos investigados no período de 2017-2019.

CLASSIFICAÇÃO	MARCADORES			
	TTF1(+)/ NapsinA(-)	TTF1(-)/ NapsinA(+)	TTF1(+)/ NapsinA(+)	TTF1(-)/ NapsinA(-)
Adenocarcinoma	10	0	39	7
Carcinoma Epidermóide ^β	8	1	2	5
T. Neuroendócrino	3	0	0	1
Total	21	1	41	13

^a = Tumor Neuroendócrino; ^β = Foram excluídas duas amostras que não tinham resultado do Napsin A
Teste-G (Williams)=14,9550; $p=0,0206$

4 DISCUSSÃO

No presente estudo, analisou-se 26% (136/513) de casos confirmados para câncer primário de pulmão pela IHQ no período de 2015-2019, sendo estes classificados como: 60,3% (82/136) de adenocarcinoma, 35,3% (48/136) de carcinoma Epidermóide e 4,4% (6/136) de tumor neuroendócrino. STAPELFELD *et al* (2020), em seu trabalho ratifica

que adenocarcinoma é o mais comum dentre os subtipos de CaP, que se desenvolve a partir de tecido glandular nas regiões periféricas do pulmão; seguido pelo carcinoma epidermóide e carcinoma neuroendócrino, que surge de células epiteliais que revestem os brônquios.

No presente estudo foi observado diferença estatística significativa ($p= 0,0206$) quando os marcadores TTF-1 e Napsin A, em suas diversas combinações de detecção, com o tipo de Cap, com maior proporção de casos positivos na dupla marcação [TTF-1(+)/Napsin A(+)]. Foi constatado que, 95% (39/41) dos casos com dupla marcação eram de adenocarcinoma, sendo que destes 56% (22/39) eram do sexo feminino e 74% (29/39) pertenciam a faixa etária ≥ 61 anos. Considera-se um ótimo marcador tumoral para um determinado tipo de tumor, aquele em que sensibilidade e especificidade são superiores a 90% (NAOUM e NAOUM, 2018). O TTF-1 tem alta sensibilidade e especificidade no diagnóstico de adenocarcinoma de pulmões (79,82% e 93,44%, respectivamente). A Napsin A se mostra um marcador útil quando usada em conjunto com o TTF-1, pois fornece alta sensibilidade e especificidade para a classificação do carcinoma pulmonar primário como adenocarcinoma (FATIMA *et al.* 2011; MA *et al.* 2015).

LI E COHEN (2020) ratificam os achados da presente pesquisa que encontrou ser o TTF-1 e Napsin A marcadores específicos para adenocarcinoma pulmonar primário. Outros autores também ratificam esse achado e sugerem que esses imunomarcadores combinados foram mais específicos para adenocarcinoma pulmonar primário e úteis para segregá-lo do carcinoma não pulmonar, aconselhando assim a associação destes para uma melhor diferenciação, maior sensibilidade e especificidade para o câncer de pulmão (PRABHAKARAN, XING, HOCKING *et al.*, 2019; WU, ZHANG, DING *et al.*, 2020). VAN *et al.* (2019), demonstraram que o TTF-1 e Napsin A tiveram sensibilidades de 99,0% e 91,9%, respectivamente, e valores preditivos positivos (PPVs) de 90,8% e 90,3%, respectivamente, com acurácias de 91,0% para adenocarcinoma do pulmão.

Considerando apenas os anos de 2017, 2018 e 2019, período em que o marcador Napsin A foi incorporada ao portfólio do Laboratório Paulo Azevedo, possuindo assim amostras pareadas para ambos marcadores TTF-1 e Napsin A, observou-se respectivamente, um percentual maior de positividade para o TTF-1 em comparação ao Napsin A, mas esta diferença não foi estatisticamente significativa. WANG *et al.* (2020) mostraram em seu estudo que o TTF-1 tem alta sensibilidade e especificidade no diagnóstico de adenocarcinoma de pulmões, 79,82% e 93,44%, respectivamente. EL *et al.* (2016), avaliou que a coloração com TTF-1 foi positiva em 83,3% das amostras de câncer

pulmonar, sendo encontrada em 52% dos carcinomas pulmonares primários. Segundo GENOVA (2017), o Napsin A foi positivo em 85,7% (18/21) *versus* 80,9% (17/21) para o TTF1 em adenocarcinomas, mas esta diferença estatística não foi significativa.

No presente estudo, encontrou-se uma frequência de 46% (62/136) e 54% (74/136) de casos em mulheres e homens, respectivamente. TSUKAZAN *et al* (2017), encontrou uma frequência de 65% (665/1.030) de sua amostra era do sexo masculino. Em relação às faixas etárias, 26,5% (36/136) apresentaram idade entre 31-60 anos e 72,8% (99/136) dos pacientes estavam na faixa etária ≥ 61 anos. Quando essa amostra foi distribuída segundo o tipo de câncer e a idade e o sexo, não observou-se diferença estatística significativa. No entanto, verificou-se que 72% (29/40) das mulheres e 69% (29/42) dos homens com adenocarcinoma estavam na faixa etária ≥ 61 anos. Em relação ao diagnóstico de carcinoma epidermóide, 84% (16/19) das mulheres e 76% (22/29) dos homens pertenciam a faixa etária ≥ 61 anos. STAPELFELD *et al* (2020) relataram uma diferença específica por sexo na incidência de tipos de CaP, sendo que as mulheres têm maior probabilidade de desenvolver adenocarcinoma em vez de carcinoma epidermóide ou carcinoma neuroendócrino, conforme os nossos resultados. Em contraste, com os resultados do nosso estudo, em homens o carcinoma epidermóide foi o subtipo mais comum de CaP.

Na presente pesquisa foi detectado 94% (128/136) de CPNPC, corroborando com os estudos do INAMURA (2018), que mostra que o Câncer do pulmão de pequenas células (CPPC) apresentou 15% de todos os cânceres de pulmão, já o CPNPC apresentou 85% de todos os cânceres de pulmão. Em outro estudo semelhante do STAPELFELD *et al* (2020), também foi obtido o mesmo resultado, com predomínio do CPNPC, responsável por 85% dos casos.

5 CONCLUSÃO

Este estudo apresenta uma importante contribuição, pois descreve o perfil IHQ do CaP em uma amostra coletada em Belém-Pará, Amazônia Legal, proveniente de um laboratório particular, revelando diferença estatística significativa para os biomarcadores, com maior proporção de casos positivos na dupla marcação TTF-1 e Napsin A para os adenocarcinomas. Este dado reforça os achados de outros autores, revelando ser uma excelente opção de diagnóstico e diferenciação. Apesar de não se ter observado diferença estatística quanto a idade e sexo, em relação aos tipos de câncer, frisa-se que foi observado

maior frequência de CaP entre as mulheres e na faixa etária ≥ 61 anos, com maior percentual para adenocarcinomas.

REFERÊNCIAS

1. Ayres M, Ayres MJ, Ayres DL, et al. Bioestat 5.0—Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Sociedade Civil Mamirauá MCT—CNPq 2007:1–364.
2. INCA-Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil – Rio de Janeiro, 2019, p. 36-120. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/estimativa-2020-incidencia-de-cancer-no-brasil.pdf>. Acesso em: 10 jun. 2020.
3. Sarimã RN, Souza CAJ, Lima KB, Melo JC, Oliveira DN, Almeida LRF. Características epidemiológicas dos pacientes com câncer de pulmão em tratamento quimioterápico no Ceará. *Braz. J. of Develop.*, Curitiba, v. 6, n. 7, p. 45270-45277, jul. 2020.
4. Rajguru JP, Mouneshkumar CD, Radhakrishnan IC, et al. Tumor markers in oral cancer: A review. *J Family Med Prim Care*. 2020;9 (2):492-496.
5. Inamura, Kentaro. “Update on Immunohistochemistry for the Diagnostic of Lung Cancer.” *Cancers* vol. 10,3 72. 14 de março de 2018
6. Prabhakaran S, Xing G, Hocking A, Hussey M, Henderson DW, Klebe S. Uma comparação de painéis de diagnóstico na análise imuno-histoquímica do câncer de pulmão. *Internacional de Patologia e Medicina Laboratorial*. 2019; 11: 7-15.
7. Wu, Jianghua; Zhang, Yanhui; Ding, Tingting; Cheng, Runfen; Gong, Wenchen; Guo, Yuhong; Luo, Ye; Pan, Yi; Zhai, Qiongli; Sun, Wei; Lin, Dongmei; Sol, Baocun. / Napsina A Expressão em subtipos de tiróide Tumores: Comparação com pulmonar adenocarcinomas. In: *Patologia Endócrina*. 2020; Vol. 31, nº 1. pp. 39-45.
8. Stapelfeld C, Dammann C, Maser E. Sex-specificity in lung cancer risk. *Int J Cancer*. 2020 May 1;146(9):2376-2382.
9. Naoum, P. C, Naoum, F. A. MARCADORES TUMORAIS - UMA REVISÃO ATÉ 2018. Academia de Ciência e Tecnologia, 2018. Disponível em: <http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/temasavancados/Marcadores_tumorais.pdf>. Acesso em:16/03/2020.
10. Fatima, N., Cohen, C., Lawson, D. e Siddiqui, MT (2011), TTF - 1 e Napsin A dupla coloração. *Cancer Cytopathology*, 119: 127-133.
11. Ma, Y., Fan, M., Dai, L. et ai. A expressão de TTF-1 e Napsina A no adenocarcinoma pulmonar em estágio inicial se correlaciona p. 36-120com os resultados do tratamento cirúrgico. *Tumor Biol*. 36, 8085–8092 (2015).
12. Vidarsdottir H, Tran L, Nodin B, Jirström K, Planck M, Jönsson P, Mattsson JSM, Botling J, Micke P, Brunnström H. Immunohistochemical profiles in primary lung cancers and epithelial pulmonary metastases. *Hum Pathol*. 2019 Feb;84:221-230.

13. Roberts EA, Morrison LE, Behman LJ, Draganova-Tacheva R, O'Neill R, Solomides CC. Chromogenic immunohistochemical quadruplex provides accurate diagnostic differentiation of non-small cell lung cancer. *Ann Diagn Pathol.* 2020 Apr;45:151454.

1. 14. Li, W. e Cohen, MB. TTF-1, napsin A and CDX2 co-expression in metastatic rectal adenocarcinoma to the lung. *Cytopathology.* 2021 Jan;32(1):146-148.

15. Van Zyl, A , Schubert, PT , Koegelenberg, CFN . A utilidade da coloração com TTF-1, napsina A, CK5 e p63 na subclassificação do carcinoma de células não pequenas do pulmão . *Citopatologia .* 2019 ; 30 : 586 - 591

16. Li W, Niehaus AG, O'Neill SS. Immunohistochemistry Profile Predicts EGFR Mutation Status in Lung Adenocarcinoma. *Int J Surg Pathol.* 2020;28(5):502-506.

17. Wang, Jing-yuan, Wang, Xue-min, Xu, Xiao-yan, Li, Shi-rong e Liu, Xiu-lan. Expressão e significância de CK5 / 6, P63, P40, CK7, TTF-1, NapsinA, CD56, Syn e CgA em amostras de biópsia de carcinoma espinocelular, adenocarcinoma e carcinoma pulmonar de pequenas células. *Int. J. Morphol. Temuco,* v. 38, n. 2, p. 247-251, abr. 2020.

18. El-Maqsoud, NMRA, Tawfik, ER, Abdelmeged, A. et al. A utilidade diagnóstica dos marcadores triplos Napsin A, TTF-1 e PAX8 na diferenciação entre carcinomas pulmonares primários e metastáticos. *Tumor Biol.* 37, 3123–3134 (2016).

19. Genova SN, Belovezhov VT, Bichev SN, Danev VH. Comparative Characteristics of Napsin A, TTF 1 and EGFR Mutation Expression in Mucinous Lung Cell Carcinomas. *Folia Med (Plovdiv).* 2017 Jun 1;59(2):174-182.

20. TSUKAZAN, Maria Teresa Ruiz et al. Câncer de pulmão: mudanças na histologia, gênero e idade nos últimos 30 anos no Brasil. *J. bras. pneumol.,* São Paulo, v. 43, n. 5, pág. 363-367, setembro de 2017.