

Walter Adriano Bianchini

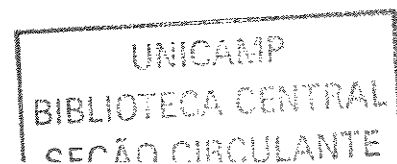
Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-Graduação Ciências Médicas da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, para obtenção do título de Mestre em Ciências Médicas, área de Otorrinolaringologia do aluno **Walter Adriano Bianchini**.

Campinas, 01 de fevereiro de 2002.


Prof. Dr. Jorge Rizzato Paschoal
Orientador

**DAS NEOPLASIAS INDIFERENCIADAS EM
CABEÇA E PESCOÇO E DA CONTRIBUIÇÃO DO
EXAME IMUNO-HISTOQUÍMICO EM SEU
DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL**

Campinas
2002



Walter Adriano Bianchini

**DAS NEOPLASIAS INDIFERENCIADAS EM
CABEÇA E PESCOÇO E DA CONTRIBUIÇÃO DO
EXAME IMUNO-HISTOQUÍMICO EM SEU
DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL**

**Dissertação de Mestrado
apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de
Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas para
obtenção do Título de Mestre em
Ciências Médicas, Área de Otorrinolaringologia.**

ORIENTADOR: Prof. Dr. Jorge Rizzato Paschoal

Co-ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. Albina M. Altemani

**Campinas
2002**

UNIDADE	B.O.
Nº CHAMADA	7/UNICAMP
	B47d
FOMEIO BC.	48556
PROC.	16-837102
C	☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	
Nº CPD	

CM001666B7-6

B ID 237915

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

B47d Bianchini, Walter Adriano
Das neoplasias indiferenciadas em cabeça e pescoço e da contribuição do exame imuno-histoquímico em seu diagnóstico diferencial. / Walter Adriano Bianchini. Campinas, SP : [s.n.], 2002.

Orientador : Jorge Rizzato Paschoal, Albina Messias de Almeida Milani Altemani
Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Imunodiagnóstico. 2. Anticorpos monoclonais. 3. Tumores-Diagnóstico. I. Jorge Rizzato Paschoal. II. Albina Messias de Almeida Milani Altemani. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV.

Banca examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador: Prof. Dr. Jorge Rizzato Paschoal

Membros:

1. Prof. Dr. Luiz Uberápio Semmes
 2. Prof. Dr. Alípio José Tincani
 3. Prof. Dr. Jorge Rizzato Paschoal
-

Curso de Pós-graduação em Ciências Médicas, Área de Concentração em Otorrinolaringologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 01/02/02

0217793

Aos meus pais,

Walter e Idanir,

que me ensinaram os princípios cristãos e me apoiaram em todos os momentos durante a árdua caminhada da aquisição do saber.

À minha esposa,

Fernanda,

pela solidariedade, compreensão e incentivo em cada passo da realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

À Prof^a Dr^a. Albina M. Altemani, pela sua colaboração na realização desta dissertação e pelos ensinamentos na área da Anatomia Patológica.

À Prof^a. Dr^a. Gláucia Bovi Ambrosano, pela sua orientação na análise estatística dos dados da dissertação.

À Luciana Lujan, pela revisão gramatical desta dissertação.

**“Entrega o teu caminho ao Senhor,
confia nele, e o mais ele fará”...**
Salmo 37.5

RESUMO.....	xxi
1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA.....	25
1.1 Técnicas imuno-histoquímicas.....	30
1.2 Tipos de anticorpos.....	33
1.3 Tipos de antígenos.....	34
2. OBJETIVOS.....	55
3. MATERIAL.....	59
4. MÉTODO.....	63
5. RESULTADOS.....	69
6. DISCUSSÃO.....	81
7. CONCLUSÕES.....	91
8. SUMMARY.....	95
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	99
10. BIBLIOGRAFIA DE NORMATIZAÇÕES.....	115
11. ANEXOS.....	119

Tabela 1.	Distribuição numérica dos pacientes, quanto ao sexo, em relação ao diagnóstico final.....	87
Tabela 2.	Distribuição numérica dos pacientes, conforme a faixa etária, segundo o diagnóstico final.....	89
Tabela 3.	Distribuição numérica dos padrões celulares das neoplasias indiferenciadas conforme o diagnóstico final.....	89
Tabela 4.	Distribuição das frequências de localizações das neoplasias indiferenciadas segundo o diagnóstico final.....	90
Tabela 5.	Distribuição numérica das localizações das neoplasias indiferenciadas segundo os padrões citoarquiteturais.....	91
Tabela 6.	Distribuição numérica das faixas etárias dos pacientes conforme os padrões citoarquiteturais das neoplasias.....	92
Tabela 7.	Distribuição numérica das localizações das neoplasias indiferenciadas segundo a faixa etária dos pacientes.....	93
Tabela 8.	Distribuição numérica, segundo o padrão celular, relativa ao diagnóstico final conclusivo e ao tipo de tumor.....	94
Tabela 9.	Distribuição numérica, segundo o padrão celular, relativa ao diagnóstico final sugestivo e o tipo de tumor.....	95

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Ilustração dos cortes histológicos (HE) dos padrões celulares das neoplasias indiferenciadas..... 29
- Figura 2.** Representação gráfica da distribuição numérica dos pacientes, quanto ao sexo, em relação ao diagnóstico final..... 87
- Figura 3.** Representação gráfica da distribuição numérica dos pacientes, conforme a faixa etária, segundo o diagnóstico final..... 88
- Figura 4.** Representação gráfica da distribuição numérica dos padrões celulares das neoplasias indiferenciadas conforme o diagnóstico final..... 89
- Figura 5.** Representação gráfica da distribuição das frequências de localizações das neoplasias indiferenciadas segundo o diagnóstico final..... 90
- Figura 6.** Representação gráfica da distribuição numérica das localizações de neoplasias segundo os padrões citoarquiteturais..... 91
- Figura 7.** Distribuição gráfica da distribuição numérica da faixa etária dos pacientes conforme os padrões citoarquiteturais das neoplasias..... 92
- Figura 8.** Representação gráfica da distribuição numérica das localizações das neoplasias indiferenciadas segundo a faixa etária dos pacientes..... 93

LISTA DE FIGURAS

- Figura 9.** Representação gráfica da distribuição numérica, segundo o padrão celular, relativa ao diagnóstico final conclusivo e ao tipo de tumor..... **94**
- Figura 10.** Representação gráfica da distribuição numérica, segundo o padrão celular, em relação ao diagnóstico final sugestivo e ao tipo de tumor... **95**

11



RESUMO

As neoplasias indiferenciadas em cabeça e pescoço e base do crânio não são raras: ocorrem tanto em mucosas como em glândulas salivares, em partes moles e em linfonodos. O diagnóstico histopatológico preciso é fundamental na conduta terapêutica ideal e na caracterização do prognóstico de cada caso.

O objetivo deste estudo foi avaliar a ocorrência destas neoplasias em nosso serviço, sua distribuição conforme o padrão celular, a idade do paciente e a localização do tumor, avaliando-se a frequência dos casos em que o exame imuno-histoquímico foi decisivo para o diagnóstico diferencial conclusivo das mesmas.

Foram estudadas 43 biopsias de neoplasias indiferenciadas diagnosticadas no ambulatório da Disciplina de Otorrinolaringologia da UNICAMP, no período de 1990 a 1997. Aplicou-se um painel imuno-histoquímico conforme o método complexo avidina-biotina-peroxidase (ABC), dependendo da idade dos pacientes, da localização do tumor e do padrão citoarquitetural das células neoplásicas. O laudo final foi emitido após nova análise conjunta com as lâminas coradas pela técnica da hematoxilina e eosina.

Os locais de ocorrência mais comuns foram os linfonodos, 20,93%; faringe e pescoço, 16,28%; seios paranasais, 13,95% e cavidade nasal, 11,63%. Estas neoplasias foram mais prevalentes na sétima década de vida (34,88%), sendo duas vezes mais prevalentes em homens do que em mulheres. O exame imuno-histoquímico permitiu o diagnóstico conclusivo em 60,47% dos tumores e o sugeriu em 20,93%. Os padrões citoarquiteturais mais comuns foram: célula redondas, 51,16%; células epitelióides, 20,93%; células fusiformes, 16,28%; mixóides, 9,30% e células pleomórficas, 2,33%. Esses achados demonstram a importância fundamental do exame imuno-histoquímico nestas neoplasias.



1. INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Há um grupo de neoplasias que desafia a classificação histopatológica devido à ausência de diferenciação morfológica celular que o caracterize como de linhagem linfóide, mesenquimatosa ou epitelial (GATTER & MASON, 1982; BOROWITZ et al., 1984; CAVERIVIÈRE et al., 1985). São tumores pouco diferenciados ou indiferenciados, que ocorrem com relativa frequência em cabeça e pescoço e podem acometer mucosas (cavidade oral, faringe, nariz, seios paranasais), glândulas salivares, partes moles e linfonodos (FU & PERZIN, 1976; HUVOS, 1994; ENZINGER & WEISS, 1995; GOODMAN & PILCH, 1995).

O diagnóstico e a classificação desses tumores constituem um desafio à patologia cirúrgica (FER et al, 1982), quer como subsídio à conduta terapêutica quanto prognóstico do paciente (MICHAELS, 1987; TRICHE, 1988; ENZINGER & WEISS, 1995; GOODMAN & PILCH, 1995)

Muitos desses tumores são potencialmente curáveis e muitos são passíveis de excelentes tratamentos paliativos com as atuais modalidades terapêuticas (ROBERT et al., 1982). O diagnóstico histopatológico inclui a identificação da linhagem tumoral (carcinoma, linfoma, sarcoma ou melanoma) e sua sub-classificação, baseado em aspectos indicativos sutis e freqüentemente subjetivos de uma linhagem particular de diferenciação celular. Além disso, nos tumores metastáticos, o diagnóstico histopatológico pode, às vezes, sugerir o local de origem baseando-se nas características histológicas (MACKAY & ORDÓÑEZ, 1982). As novas técnicas de análise imuno-histoquímica têm permitido o diagnóstico dessas neoplasias até então sem diagnóstico preciso.

As neoplasias indiferenciadas podem ser classificadas histologicamente, de um modo genérico, em cinco grupos morfológicos (ERLANDSON & CORDON-CARDO, 1988; ENZINGER & WEISS, 1995) (FIGURA 1):

1. Neoplasias de pequenas células redondas
2. Neoplasias de células fusiformes
3. Neoplasias de células pleomórficas

4. Neoplasias mixóides

5. Neoplasias de células epitelióides

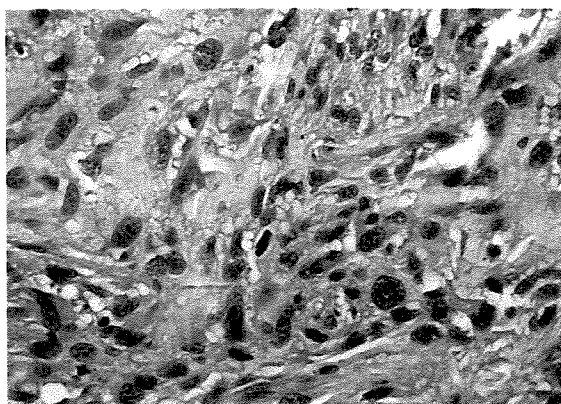
O diagnóstico diferencial varia principalmente com a idade e a localização do tumor em cada grupo morfológico (MICHAELS, 1987; ENZINGER & WEISS, 1995; GOODMAN & PILCH, 1995). Por exemplo: entre adultos, nas neoplasias indiferenciadas de pequenas células redondas na cavidade nasal, devem ser consideradas as hipóteses de carcinoma epidermóide, melanoma, esteseoneuroblastoma, carcinoma neuroendócrino e linfoma; na base da língua, os principais diagnósticos diferenciais são carcinoma epidermóide e linfoma. Entretanto, entre crianças, os principais diagnósticos que devem ser considerados numa neoplasia indiferenciada de células redondas são os sarcomas, particularmente rabdomiossarcoma e linfoma.

Células pleomórficas grandes são sugestivas de carcinoma ou sarcoma mais freqüentemente, embora não sejam raros os linfomas de células grandes com a mesma aparência.

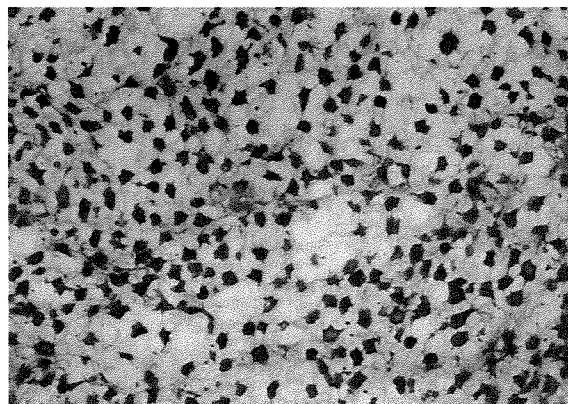
Neoplasias de células fusiformes geralmente correspondem a sarcomas, embora existam exceções, tais como melanoma e carcinoma sarcomatóide fusocelular. Estas duas últimas neoplasias podem ser morfológicamente difíceis de se distinguir de sarcoma, sendo necessário o exame imuno-histoquímico para definir a histogênese.

Padrão pleomórfico, constituído de células fusiformes e células grandes com núcleos bizarros ou múltiplos, é freqüente em fibro-histiocitoma maligno, que é um sarcoma de partes moles comum em pacientes idosos.

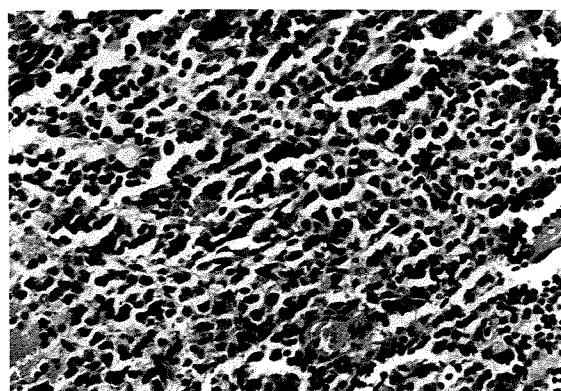
Um arranjo frouxo de células, denominado de padrão mixóide, sugere sarcoma; quando essas células flutuam em um mar de mucina sugerem carcinomas mucosos ou alguns tumores endócrinos mais raramente (MACKAY & ORDOÑEZ, 1982).



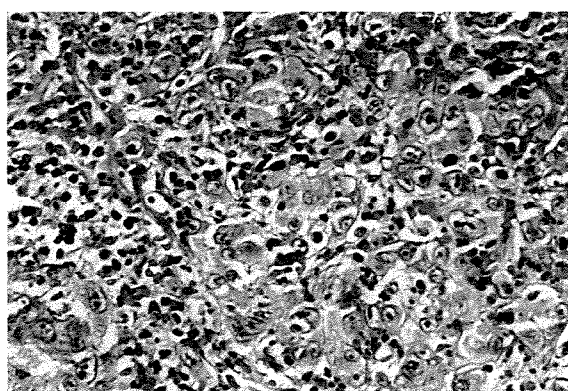
Neoplasia de células pleomórficas



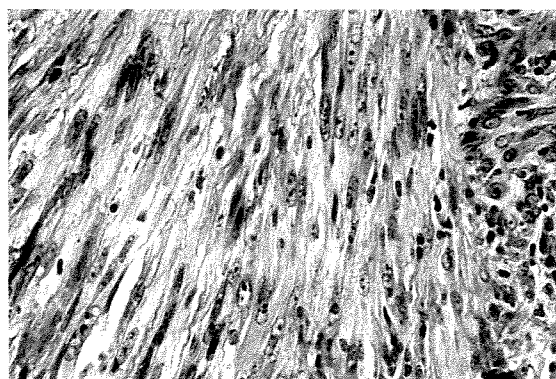
Neoplasia mixóide



Neoplasia de células redondas



Neoplasia de células epitelióides



Neoplasia de células fusiformes

FIGURA 1. Ilustração dos cortes histológicos (HE) dos padrões celulares das neoplasias indiferenciadas.

1.1. TÉCNICAS IMUNO-HISTOQUÍMICAS

O diagnóstico histopatológico de rotina baseia-se no exame microscópico de secções de tecidos incluídos em parafina, coradas pela técnica de hematoxilina eosina ou por corantes especiais, como o ácido periódico de Schiff (PAS), o vermelho congo, o Sudão preto e o Fontana-Masson, entre outros. Embora a maioria das amostras recebidas em laboratórios de histopatologia possa ser diagnosticada com essa técnica, em algumas o diagnóstico não é possível baseando-se no aspecto morfológico simplesmente (GATTER & MASON, 1982).

As técnicas histológicas tradicionais têm sido complementadas com o aparecimento de outras, conseqüentes aos avanços na área da biologia celular, imunologia e biologia molecular nos últimos trinta anos. A microscopia eletrônica, as técnicas de imunocitoquímica e a de hibridização *in situ* têm propiciado critérios diagnósticos diferenciais mais objetivos, assim como a definição de novas entidades clínicas e patológicas com a formulação de novos parâmetros prognósticos (NAKANE & PIERCE, 1966; AVRAMEAS, 1969).

A imuno-histoquímica, em particular, constitui recurso poderoso ao exame tumoral, ampliando as possibilidades do diagnóstico histogenético nas neoplasias indiferenciadas. Apresenta vantagens em relação à microscopia eletrônica por não requerer equipamento caro, poder aplicar-se a arquivos comuns de biópsias antigas e recentes, não serem necessárias fixações específicas e permitir o estudo de várias regiões do tecido ao mesmo tempo.

Essa técnica desenvolveu-se a partir dos estudos de COONS e seus colaboradores, em 1942, sobre antígenos pneumocócicos: anticorpos marcados com corantes fluorescentes foram empregados como sonda altamente eficiente e específica para a localização de antígenos em nível celular.

As evoluções técnicas e conceituais levaram ao desenvolvimento crescente de sistemas de detecção mais sensíveis, incluindo as próprias técnicas de imunofluorescência, as técnicas imunoenzimáticas como a de enzimas conjugadas e não conjugadas e o método

da avidina-biotina-peroxidase. Estes métodos têm permitido o uso de anticorpos como sondas altamente eficientes na localização de muitas classes diferentes de antígenos, seja no nível microscópico ou no ultraestrutural.

O método de anticorpos fluorescentes é empregado na localização de imunoglobulinas e complementos nas doenças intersticiais e glomerulares renais, tendo influenciado profundamente nossa compreensão de outros processos patológicos mediados imunologicamente (COONS et al., 1942; DE LELLIS & DAYAL, 1988).

A imunofluorescência em secções congeladas, utilizando anticorpos fluorescentes ou acoplados a fluorcromos como a fluoresceína ou rodamina, tem a vantagem da preservação maior de antígenos. Contudo, é menos sensível do que os métodos imunoenzimáticos. Além disso, é impraticável para laboratórios de patologia cirúrgica geral, pois arquivos de tecido congelado são freqüentemente inviáveis pela dificuldade em reconhecer detalhes citológicos e pela transitoriedade das preparações. Métodos imunoenzimáticos, especialmente métodos utilizando a imunoperoxidase ou o complexo avidina-biotina, são superiores ao método da imunofluorescência para a rotina diagnóstica. São mais sensíveis e fáceis de se examinar à microscopia convencional, com a vantagem de produzirem preparações histológicas permanentes (ENZINGER & WEISS, 1995).

Essas técnicas baseiam-se no princípio de enzimas que se ligam aos anticorpos direta ou indiretamente. Os locais de ligação do anticorpo ao tecido examinado podem ser demonstrados pela adição de um substrato enzimático apropriado, cofator ou correagente necessário para a atividade enzimática, e um cromogênio (corante fluorescente) ou um reagente que é capturado e depositado nos locais de ligação do anticorpo. A enzima pode ser ligada quimicamente ao anticorpo de forma direta (enzima conjugada) ou através de uma reação imunológica utilizando a etapa de uma antienzima adicional (não conjugada).

Os anticorpos, de outro modo, podem ser ligados a outros anticorpos indiretamente via proteína A ou pela reação avidina-biotina. Os cromogênios selecionados para uso nesses métodos devem depositar-se nos locais de atividade enzimática sem se

difundirem. Devem ser altamente substantivos, facilmente visíveis à microscopia óptica e, possivelmente, também à microscopia eletrônica.

A peroxidase tem sido a mais utilizada em pesquisa e diagnóstico, embora a fosfatase alcalina, a β -galactosidase, a glicose oxidase e outras enzimas sejam empregadas em técnicas imunoenzimáticas também (DE LELLIS & DAYAL, 1988).

A técnica mais empregada, atualmente, é a do complexo avidina-biotina-peroxidase (método ABC), na qual se faz a aplicação seqüencial de anticorpos primários não marcados, anticorpos secundários biotinizados e um complexo avidina-biotina-peroxidase pré-formado (STERNBERGER, 1979; HSU et al., 1981, 1984). A popularidade deste método está no fato de exibir uma ligação covalente extremamente forte e de os anticorpos poderem ser conjugados com uma variedade de moléculas com baixa atividade biológica. Este método oferece inúmeras vantagens sobre os demais, a saber:

1. Maior sensibilidade decorrente da formação de múltiplas moléculas de peroxidase no final da reação;
2. Alto grau de versatilidade dos reagentes do método ABC, podendo ser preparado em outros tipos de anticorpos primários;
3. Possibilidade de biotinação das substâncias adicionadas aos anticorpos;
4. Possibilidade de emprego no nível ultraestrutural com técnicas pré e pós-diluição com marcadores (DE LELLIS & DAYAL, 1988).

As observações gerais sobre a utilização da imuno-histoquímica para diagnóstico compreendem os seguintes aspectos:

1. A imuno-histoquímica deve ser empregada como técnica diagnóstica complementar, com conclusões segundo os resultados do exame histológico padrão;

2. Materiais adequados devem ser usados para imunomarcação sempre que possível, sendo que tecidos não fixados são mais apropriados para estudos futuros;
3. As propriedades imunomarcadoras dos tecidos fixados em formaldeído e embebidos em parafina podem ser melhoradas com um tratamento proteolítico suave antes da marcação;
4. A especificidade e a sensibilidade da imunomarcação devem ser monitoradas cuidadosamente;
5. O uso de um grupo de anticorpos é preferível ao de um único tipo, o que minimizará erros no diagnóstico.

1.2. TIPOS DE ANTICORPOS

Dispõe-se de dois tipos de anticorpos: o monoclonal e o policlonal. O antissoro policlonal consiste de uma população heterogênea de anticorpos que reage com diferentes epítomos do antígeno. A principal vantagem do antissoro policlonal é a de reagir com os imunodeterminantes principais de um antígeno; entretanto, como desvantagem, contém impurezas ocasionalmente. O anticorpo monoclonal é composto por uma população homogênea de anticorpos que reage com um único epítomo do antígeno. Quando escolhido, por sua boa afinidade de ligação ao antígeno, proporcionará uma preparação de anticorpos de alta qualidade, ilimitada, estável e pura, teoricamente. Devido à sua reação com um único epítomo, qualquer modificação deste levará à alteração da ligação e à diminuição da sua utilidade conseqüentemente. Pode ter reação cruzada com epítomos similares de um antígeno não relacionado e dar margem a um padrão de reatividade cruzada não usual também. Os anticorpos monoclonais reagem com uma grande variedade de constituintes bioquímicos das células, como antígenos da membrana celular, enzimas citoplasmáticas e filamentos intermediários do citoesqueleto, caracterizando a diferenciação celular (ROHOLL et al., 1985).

A quantidade disponível de anticorpos monoclonais e policlonais de alta afinidade tem levado à maior detecção de antígenos intracelulares e de superfície nas células neoplásicas e não-neoplásicas. Novas técnicas que incrementam a imunorreatividade, como o pré-tratamento das secções fixadas em formalina com enzimas proteolíticas (tripsina, quimiotripsina, pepsina), assim como métodos melhores de recuperação de antígenos (através da aplicação de microondas ou “banho-maria” de tecidos em tampões, como o tampão citrato), têm promovido maior utilização da imuno-histoquímica (LEONG et al., 1985; LEONG & DUNCIS, 1986; BATTIFORA et al., 1995; CHAN, 2000).

1.3. TIPOS DE ANTÍGENOS

1.3.1. Antígenos dos filamentos intermediários

Recebem este nome devido ao tamanho médio de 10 nm, intermediário entre os microfilamentos finos (6nm) e os filamentos microtubulares grossos da célula (25nm), com especificidade para tecidos epiteliais (DE YOUNG & WICK, 2000). Constituem o principal contingente protéico do citoesqueleto, com peso variando de 40 a 67 kilodaltons, com especificidade para tecidos epiteliais (DE YOUNG & WICK, 2000) composto de cinco subgrupos: a vimentina, as citoqueratinas, a desmina, a proteína ácida glial e as proteínas do neurofilamento (DAMJANOV, 1982; DENK et al., 1983; OSBORN et al., 1984). Estas são parecidas ultraestruturalmente e caracterizam-se por filamentos não ramificados e ondulados ocupando uma posição perinuclear na célula. A distribuição dos filamentos intermediários pela célula é um reflexo do processo de diferenciação em geral. Entretanto, outros fatores podem influenciar a síntese e modulação destas proteínas (VIRTANEN et al., 1981; DAMJANOV, 1982; CONNELL & RHEINWALD, 1983; RAMAEKERS et al., 1983; BEN-ZE'EV & RAZ, 1985).

1.3.1.a. Vimentina

É uma proteína de 57 kilodaltons, tradicionalmente associada com células mesenquimatosas e tumores mesenquimatosos. Também está presente em uma variedade grande de células durante o desenvolvimento embriológico incipiente, podendo ser usada como um potencial indicador de diferenciação epitelial (DAHL, 1981; DAMJANOV, 1982; DE YOUNG & WICK, 2000). Ocorre em fibroblastos, condroblastos, células musculares lisas, mesotélio, endotélio e em todos os sarcomas provavelmente.

A expressão forte de vimentina na ausência de queratina em um tumor epitelioide é fortemente sugestiva de melanoma. A coexpressão de vimentina e queratina em um tumor de partes moles é bem típica de sarcoma epitelioide. A vimentina presta-se, também, como controle positivo intrínseco com finalidade de avaliar a imunorreatividade dos filamentos intermediários na secção de tecidos (BATTIFORA, 1991).

1.3.2. Antígenos epiteliais

1.3.2.a. Citoqueratina

Conjunto de 19 peptídeos cujo peso molecular varia entre 40 e 68 K. Subdivide-se em subfamílias ácida e básica conforme sua carga, imunorreatividade e seqüência de aminoácidos.

A detecção de citoqueratina é o método mais empregado para investigar a diferenciação epitelial de uma lesão, por estar presente dentro dos vários tipos de epitélio e dos seus componentes neoplásicos. O padrão das queratinas é determinado pelo tipo de epitélio e pelo grau de diferenciação celular, fornecendo algumas indicações sugestivas do local de origem do tumor.

Anticorpos monoclonais com reatividade intensa permitem a distinção entre tumor epitelial e não-epitelial muitas vezes e variam de acordo com o peso molecular: AE1/3, CAM 5.2, MFN-116, CK7, CK20, LP34, HEA 125, Ber Ep4. O anticorpo AE1/3,

que reage com queratinas de baixo peso molecular (40 a 56 K) distribuídas amplamente, permite um espectro vasto de reconhecimento (BATTIFORA, 1984; COOPER et al., 1985).

O exame de tecidos fixados rotineiramente pode fornecer bons resultados, desde que se proceda uma pré-digestão enzimática ou fixação em álcool.

A presença de citoqueratina não indica indubitavelmente a origem epitelial do tumor. Esta pode estar presente em outros tumores: mesoteliomas, sarcoma sinovial, sarcoma epitelióide, tumor rabdóide extrarrenal (CERIANI et al., 1977; CORSON et al., 1983), leiomiossarcomas (SLOAN & ORMEROD, 1981; GOWN et al., 1988; MIETTINEN, 1988), sarcoma de Ewing (GOULD et al., 1987), fibro-histiocitoma maligno, lipossarcoma, rabdomiossarcoma, hemangiopericitoma, tumor maligno de bainha de nervo periférico, hemangioendotelioma, angiossarcoma (GRAY et al., 1989, 1990; MOMOSE et al., 1993), astrocitomas e cordomas (MORRISON & PRAYSON, 2000).

O diagnóstico errado na interpretação das preparações de citoqueratinas decorre de duas situações: da presença de impurezas que resultam na identificação falso-positiva de células adjacentes e da infiltração tumoral nas superfícies pleural ou peritoneal, com reação das células mesoteliais fusiformes que contêm queratina (DENK et al., 1983).

1.3.2.b. Antígeno de membrana epitelial (EMA)

Termo genérico dado a substâncias ricas em carboidratos, pobres em proteínas e de alto peso molecular, encontradas na superfície das células epiteliais e que, na verdade, é uma glicoproteína globular da família do leite, pesando de 40 a 250 kilodaltons (CERIANI et al., 1977; HEYDERMAN et al., 1979; DE YOUNG & WICK, 2000).

Estudos iniciais usando antissoro policlonal com técnica de imunofluorescência sugeriam que os antígenos fossem restritos ao epitélio mamário e seus respectivos tumores. Recentemente, estudos empregando novos métodos indicam que estes antígenos são encontrados em vários tipos de epitélios e tumores epiteliais (HEYDERMAN et al., 1979; SLOAN & ORMEROD, 1981; PINKUS & KURTIN, 1985); ocasionalmente, são

encontrados em outros tecidos (DELSOL et al., 1984; PINKUS & KURTIN, 1985). Esse tipo de antígeno pode ser demonstrado virtualmente em todos os tumores epiteliais. Portanto, a intensidade da imunorreatividade varia conforme o tipo de diferenciação, assim como com o tipo de fixação (PINKUS & KURTIN, 1985).

O antígeno também pode ser demonstrado na superfície de células plasmáticas, em alguns histiócitos, em linfomas (de células T), na histiocitose maligna (DELSOL et al., 1984; PINKUS & KURTIN, 1985), no neurofibroma, no fibro-histiocitoma (PERENTES & RUBSTEIN, 1987), nos meningeomas (THEAKER et al., 1987), nos ependimomas e gangliomas (MORRISON & PRAYSON, 2000), nos sarcomas sinoviais, nos sarcomas epitelióides, nos leiomiossarcoma e rabiomiossarcoma (COOPER et al., 1985). Revela-se menos sensível e menos específico do que a citoqueratina por esse grande número de exceções.

1.3.2.c. Desmoplaquina

Proteína presente dentro das placas de desmossoma das células epiteliais. Representa outro marcador da diferenciação epitelial, independente da queratina. Pode ser localizado em grande variedade de células epiteliais, em células meníngeas, no mesotélio (MOLL et al., 1986) e em componentes glandulares de sarcomas sinoviais (MIETTINEN, 1989).

1.3.2.d. MOC-31

É uma proteína de 41 kilodaltons que está na membrana basal da célula, amplamente distribuída nos tumores e células epiteliais de vários locais. Muitas vezes, também, falha em identificar um grupo de carcinomas que incluem carcinoma hepatocelular e carcinoma renal. Pode ser utilizado como diferenciador anatômico nas metástases de carcinomas de origem desconhecida (DE YOUNG & WICK, 2000).

1.3.3. Antígenos musculares

1.3.3.a. Desmina

Componente da família dos filamentos intermediários, parte integrante dos citoesqueletos cardíaco, esquelético e de fibras musculares lisas. A intensidade da imunorreação da desmina num tumor varia muito na dependência da fixação realizada. A imunorreação é mais bem visibilizada quando são utilizadas secções de tecidos congelados. Resultados satisfatórios podem ser obtidos, também, através da fixação em álcool ou parafina com pré digestão enzimática.

Os anticorpos para estes antígenos são úteis no diagnóstico diferencial de tumores de células redondas, apesar destas variações, principalmente dos rabdomiossarcomas que expressam estes antígenos entre 80 e 100%. A desmina tem mostrado menor eficácia no diagnóstico dos tumores de músculo liso. Somente cerca de 50% dos leiomiossarcomas expressam esse antígeno (MIETTINEN et al., 1982; ALTMANNSEBERGER et al., 1982, 1985; RANGDAENG & TRUONG, 1991).

O elenco de tumores que expressam células com reatividade à desmina tem crescido nos últimos anos. Tumores malignos de nervo periférico, sarcomas epitelióides, neuroepiteliomas periféricos, lipossarcomas, fibro-histiocitomas malignos e tumores rabdóides constam do mesmo (ROHOLL et al., 1985; WICK et al., 1987; PARHAM et al., 1991).

1.3.3.b. Mioglobina

Proteína heme ligada ao oxigênio em células cardíacas e esqueléticas. Como está ausente nas células de músculos lisos, a mioglobina é um antígeno mais específico do que a desmina, porém menos sensível. Menos de 50% dos rabdomiossarcomas contêm mioglobina demonstrável (PARHAM et al., 1991).

Mais recentemente, uma família de proteínas miogênicas reguladoras foi desenvolvida. Elas têm um papel importante por atuarem nas células mesenquimais primitivas na diferenciação para linhagem muscular esquelética. Essas proteínas incluem a MyoD1, miogenina, Myf-5 e Myf-6, e são muito úteis na diagnóstico de rabdomiossarcomas pouco diferenciados (SUSTER, 2000).

1.3.3.c. Actina

Família de proteínas contráteis com peso molecular semelhante encontradas nas células dos mamíferos. Pode ser dividida nos subtipos alfa, beta e gama, dependendo da mobilidade eletroforética.

Uma variedade de anticorpos monoclonais está disponível e reconhece epítomos de uma ou mais isoformas de actina. O anticorpo pan-actina usado mais freqüentemente é o HHF-35. Este reage com alfa e gama actina de músculo liso e, desta forma, cora células do músculo cardíaco, esquelético e liso de todos os locais (TSUKADA et al., 1987). O HHF-35 cora virtualmente todos os rabdomiossarcomas, conforme alguns autores. A imunorreatividade para actina é altamente sugestiva de rabdomiossarcoma no contexto de sarcomas de células redondas, uma vez que é negativa em outros tumores desse tipo, como o neuroblastoma e o sarcoma de Ewing.

1.3.3.d. Clone 1^A4

É um anticorpo específico para a fração α -músculo liso dos microfilamentos da actina. Apresenta sensibilidade maior para corar músculo liso, porém é identificado também em rabdomiossarcomas e em células com fenótipo mioepitelial e miofibroblástico (SUSTER, 2000).

1.3.3.e. Cadeia pesada da miosina do músculo liso (SMMS)

É o maior componente do aparato contrátil das células dos músculos lisos. Tem sido aplicado com sucesso na identificação de células mioepiteliais e miofibroblastos de lesões de mama (SUSTER, 2000).

1.3.3.f. Caldesmona

É uma proteína envolvida na contração celular, distribuída entre células musculares lisas ou não, sendo usada recentemente para o diagnóstico de leiomiiossarcomas e tumores com diferenciação muscular (SUSTER, 2000).

1.3.3.g. Outros antígenos musculares

Anticorpos para outros antígenos musculares têm sido usados em tumores miogênicos. Incluem anticorpos para subunidade muscular (M) da creatino quinase (CK-M), miosina de músculo esquelético, miosina de músculo esquelético fetal de cadeia pesada e titina (EUSEBI et al., 1984; SZPAK et al., 1986; CAVAZZANA et al., 1992).

1.3.4. Antígenos vasculares

1.3.4.a. Antígeno associado ao fator VIII

O fator VIII é um complexo de dois componentes que tem diferentes propriedades bioquímicas, funcionais e imunológicas: fator VIII-C, que é sintetizado no fígado e possui atividade procoagulante, e antígeno associado ao fator VIII, proteína multimérica grande, sintetizada nas células endoteliais. Esse antígeno pode ser demonstrado em endotélio e endocárdio normal e em muitos tumores vasculares benignos, com alguma variação (SCHESTED & HOU-JENSEN, 1981; NADJI & MORALES, 1986).

Uma fonte significativa de erro diagnóstico deve-se à interpretação imperfeita dos marcadores para antígeno associado ao fator VIII. Este fator é uma proteína plasmática, que pode ser endocitada por células não-endoteliais, resultando nas interpretações falso-positivas. O ideal é a imunomarcção intensa, finamente granular e restrita ao citoplasma.

1.3.4.b. Antígeno da célula mãe humana (CD-34)

CD-34 é uma designação reduzida para o antígeno da célula progenitora hematopoiética, que é uma glicoproteína transmembrana de alto peso molecular, sintetizada por um gene no cromossomo 1q e observada na superfície de células-mães hematopoiéticas de linhagem linfóide e mielóide na medula óssea e em algumas leucemias agudas. Expressa-se em células endoteliais, em células dendríticas do endoneuro e em quase todos os tumores vasculares benignos.

É pouco sensível, contudo, para endotélio de linfáticos e seus respectivos tumores. Cerca de 80 a 90% dos tumores vasculares malignos, incluindo sarcoma de Kaposi, também contêm esse antígeno (NICKOLOFF, 1991). Alguns autores relatam que o mesmo pode ser encontrado em tumores não vasculares como dermatofibrossarcoma, tumores fibrosos solitários da pleura e do peritônio, tumores benignos de nervos periféricos, sarcoma epitelióide, tumores epitelióides de músculos lisos de origem gastrointestinal e de tecidos moles. No entanto, tem sido muito útil quando pesquisado em combinação com outros antígenos vasculares para identificação de tumores malignos vasculares (ENZINGER & WEISS, 1995).

1.3.4.c. Molécula de adesão a células plaquetárias endoteliais (PECAM-1)

O CD-31 é uma designação reduzida para glicoproteína transmembrana idêntica à molécula de adesão PECAM-1 e membro da superfamília das imunoglobulinas que estão presentes nas células endoteliais e em várias células hematopoiéticas, incluindo

megacariócitos, plaquetas e algumas células plasmáticas. Todos os tumores vasculares benignos expressam este antígeno teoricamente. Cerca de 80% a 100% dos angiossarcomas têm imunorreatividade identificável (DE YOUNG et al., 1993). No entanto casos esporádicos de mesotelioma maligno, leiomiossarcoma e carcinomas exibem esses antígenos (MIETTINEN et al., 1994).

1.3.4.d. Isoantígenos dos grupos sanguíneos (ABO)

Grupo de cadeias de carboidratos localizados na superfície de todas as células, mas presente nas células vermelhas do sangue fundamentalmente. Sua presença determina a compatibilidade do grupo sanguíneo.

A importância imuno-histoquímica destas glicoproteínas, que são isoantígenos, está em providenciar outros meios para a identificação de células endoteliais através de reação imunológica ou não. Anticorpos monoclonais dos isoantígenos ABO têm sido estudados para avaliar sua utilidade no diagnóstico em comparação aos antígenos associados ao fator VIII (STEPHENSON & MILLS, 1985). Embora os resultados obtidos em lesões vasculares benignas ou recidivadas tenham sido equivalentes ou melhores do que aqueles com antígeno associado ao fator VIII, sua inabilidade para reconhecer a maioria dos angiossarcomas oferece pouca vantagem sobre a imunomarcagem do antígeno associado ao fator VIII.

1.3.4.e. Outros antígenos endoteliais

Há um número crescente de anticorpos monoclonais que identificam componentes estruturais ou sintéticos das células endoteliais. Estes têm sido usados somente em alguns modelos de pesquisas diagnósticas (KNOWLES et al., 1984; SCHLINGEMANN et al., 1985; JONES et al., 1986).

Anticorpos contra a trombomodulina, antagonista do fator VIII, identificam muitos tumores vasculares malignos e benignos. Não oferecem maior sensibilidade,

contudo, quando comparados a outros antígenos. O anticorpo aglutinina I, que reage com o antígeno H do grupo sanguíneo O, tem demonstrando grande sensibilidade para endotélio vascular. No entanto, a sua especificidade é baixa por apresentar reação cruzada com carcinomas e outros tumores epiteliais (ORDÓÑEZ & BATSAKIS, 1984). Outro anticorpo monoclonal, PAL-E, oferece a vantagem de imunorreatividade seletiva com certos tipos de endotélio e tem mostrado potencialidade na discriminação do endotélio capilar do linfático.

1.3.5. Antígenos neurais

1.3.5.a. Proteína S-100

É uma proteína ácida distribuída amplamente no sistema nervoso central e periférico. Recebe este nome devido à sua solubilidade total em amônio sulfato. Tem função desconhecida. Sua seqüência parcial homóloga à calmodulina e sua alteração configuracional em resposta ao potássio e ao cálcio sugerem a hipótese de papel importante na regulação iônica do cérebro.

Inicialmente, era considerada uma proteína cérebro-específica, mas tem sido demonstrada em outras células não nervosas (VANSTAPEL et al., 1986). Pode ser encontrada em células satélites da medula adrenal, condrócitos, adipócitos, células mioepiteliais e vários histiócitos, como as células de Langerhans da epiderme. Sua maior utilidade talvez esteja no diagnóstico de tumores benignos da bainha nervosa e nos melanomas (NAKAJIMA et al., 1982). Está presente, virtualmente, em astrocitomas, cordomas, ependimomas, gangliogliomas, meduloblastomas, meningeomas, oligodendrogliomas, xantoastrocitomas pleomórficos e schwannomas (MORRISON & PRAYSON, 2000).

Esse antígeno é útil no diagnóstico de schwannoma celular, tumor benigno confundido com frequência com fibrossarcoma e tumores malignos da bainha de nervos periféricos. Essa proteína também é útil no diagnóstico diferencial entre tumores malignos da bainha de nervos periféricos e outros sarcomas de aparência similar. Quase todos os melanomas, apesar do grau de pigmentação, expressam-na (NAKAJIMA et al., 1982;

WEISS, et al., 1983). Essa característica tem sido útil no reconhecimento de melanomas metastáticos ou melanomas com padrão de crescimento incomum, como nas formas neurotrópica e desmoplásica. Entretanto, como alguns carcinomas podem expressar a proteína S-100, é imperativo fazerem-se as reações para essa proteína e para a citoqueratina nos casos cujos diagnósticos diferenciais incluem melanoma e carcinoma. Além disso, ao aliar-se a marcação para melanina ou antígeno associado a melanoma (HMB-45), a especificidade do método aumenta muito.

1.3.5.b. Enolase específica dos neurônios (NSE)

Enolase é a enzima que converte 2-fosfoglicerato piruvato em fosfoenolpiruvato na via glicolítica. Existe como três subunidades imunológicas distintas (alfa, beta, gama), associadas a três homodímeros e a um heterodímero. Essas isoenzimas diferem em relação à sua distribuição pelo corpo. A subunidade gama, presente em maiores concentrações no cérebro em relação a outros tecidos, é chamada de enolase específica. A subunidade alfa é conhecida como enolase não neuronal.

A subunidade gama está presente em muitos outros tecidos, possivelmente na forma de heterodímero, como no tecido prostático, na alça de Henle, no epitélio bronquial, nas células plasmáticas e nos megacariócitos (MUKAI, 1983; ORDOÑEZ & BATSAKIS, 1984). Sua grande utilidade está na identificação dos tumores neuroblásticos e neuroendócrinos, apresentando reação para este anticorpo em mais de 50% dos casos (THOMAS et al., 1987).

1.3.5.c. Proteína neurofilamentosa

Filamento intermediário de muitas células neuronais, composto de três subunidades. Tem sido identificado em neuroblastomas, gangliogliomas, meduloblastomas, xantastrocitomas pleomórficos e paragangliomas (MUKAI et al., 1983; OSBORN et al., 1986; MORRISON & PRAYSON, 2000).

1.3.5.d. Proteína ácida fibrilar glial (AFP)

Filamento intermediário característico das células gliais. Empregada no diagnóstico e na diferenciação entre tumores gliais e não gliais do sistema nervoso central. É o maior filamento citoplasmático dos astrocitomas, sendo útil no diagnóstico de neoplasias astrocíticas. Pode ser útil, também, no diagnóstico de ependimomas, oligodendrogliomas, oligoastrocitomas, meduloblastomas e xantoastrocitomas pleomórficos (MORRISON & PRAYSON, 2000).

1.3.5.e. Proteína mielínica básica

Polipeptídeo básico que constitui cerca de um terço das proteínas da bainha de mielina. Tem sido identificada em tumores das células de Schwann, malignos e benignos, e em tumores das células da granulosa (NADJI & MORALES, 1986). A escassez dos trabalhos publicados torna difíceis as considerações sobre seu uso.

1.3.5.f. Leu 7 (CD57)

Este antígeno está presente em muitos schwannomas e em mais de 50% dos neurofibromas e tumores malignos da bainha de nervos periféricos. Descrito inicialmente como marcador antigênico para linfócitos com atividade “natural killer”, a LEU 7 pode ser identificada em tumores malignos e benignos da bainha de nervos (PERENTES & RUBINSTEIN, 1987; WICK et al., 1987) e em tumores neuroendócrinos. Não se comporta como marcador único e não apresenta vantagem sobre a proteína S-100 no diagnóstico de tumores malignos da bainha de nervos periféricos, porém o resultado é melhor quando empregada em conjunto. Tem-se notado imunorreatividade à LEU-7 em alguns tumores não-neurais como leiomiossarcomas, sarcomas sinoviais e rabdomiossarcomas.

1.3.5.g. Sinaptofisina

Proteína de membrana encontrada nas vesículas pré-sinápticas das células nervosas. Tem sido identificada em células nervosas do sistema nervoso central e periférico além de em células neuroendócrinas, servindo de marcador para neurocitomas central, gangliogliomas, meduloblastomas e xantoastrocitomas pleomórficos (MORRISON & PRAYSON, 2000). Constitui um marcador altamente sensível para reconhecer tumores neuroendócrinos de vários locais (GOULD et al., 1987). Pode encontrar-se ainda em tumores neuroblásticos e paragangliomas.

1.3.5.h. Receptor do fator de crescimento nervoso

Estes receptores são identificados em muitos tumores benignos ou malignos da bainha de nervos periféricos e em tumores neuroblásticos. Ocorrem em quase todos os tumores de células granulares, neurofibromas e schwannomas (PEROSIO & BROOKS, 1988). Podem ser identificados em sarcomas sinoviais, hemangiopericitomas, tumores de músculo liso e sarcomas indiferenciados também.

1.3.5.i. Transtirerina (Prealbumina)

É uma proteína envolvida no transporte de tiroxina e retinol, sintetizada dentro do plexo coróide e secretada no líquido. A sua imunoreatividade inclui tumores do plexo coróide e alguns casos de carcinomas papilares e não-papilares (MORRISON & PRAYSON, 2000).

1.3.5.j. Cromogranina

Principal proteína isolada dos grânulos neurosecretores das células da medula adrenal. Essa proteína é utilizada para o diagnóstico de paragangliomas e de outros tumores

neurosecretores, como os carcinomas neuroendócrinos e esteseoneuroblastomas (MORRISON & PRAYSON, 2000).

1.3.5.k. PGP 9.5

É uma proteína que se expressa em tumores com diferenciação neuroectodérmica, como os tumores neuroectodérmicos primitivos, neuroblastomas e sarcoma de Ewing (SUSTER, 2000).

1.3.5.l. Molécula de adesão de células neurais (NCAM)

Corresponde a um grupo de proteínas envolvidas na adesão célula-célula, identificadas inicialmente no tecido nervoso e atualmente em outros tecidos, como o muscular esquelético. Os anticorpos disponíveis comercialmente são: NCAM 16.2, Moc-1, Moc-21 e Moc-191. Em estudos recentes, MOLENAAR & MUNTHINGHE (1999) concluíram que as NCAM não são específicas para tecido neural, podendo ser úteis no diagnóstico dos sarcomas de Ewing e outros sarcomas.

1.3.6. Antígenos histiocitários

As enzimas alfa-1-antitripsina, alfa-1-antiquimiotripsina e muramidase (lisozima) são as três substâncias mais comumente utilizadas no diagnóstico de lesões histiocíticas ou presumidamente histiocíticas. Muitos autores apoiam o uso de uma ou mais delas no diagnóstico de tumores histiocíticos. A percentagem real de tumores fibrohistiocíticos que expressam uma ou mais dessas enzimas é altamente variável (MEISTER & NATHRATH, 1981; DU BOULAY, 1982; KINDBLON et al., 1982). Essas enzimas não são suficientemente específicas para o diagnóstico de histiocitoma fibroso maligno. O diagnóstico baseia-se no material corado por hematoxilina e eosina, com escolha criteriosa de corantes especiais para diagnosticar outros sarcomas pleomórficos e carcinomas.

1.3.6.a. CD-68 (KP-1)

Antígeno pan-macrofágico que pode ser um constituinte dos lisossomas. Tem sido localizado em tecido macrofágico de vários locais do corpo, em precursores granulocíticos na medula óssea e em granulócitos neutrófilos. É fortemente positivo em alguns tumores malignos histiocíticos, mielóides e mielomonocíticos. Está presente, ainda, em alguns linfomas de células B, em alguns carcinomas e tumores de células granulares ricos em fagolisossomas grandes e em cerca de 50% dos fibro-histiocitomas angiomatóides (SMITH et al, 1991). Sua presença em neoplasias mesenquimatosas não implica, necessariamente, diferenciação histiocítica verdadeira, e sim aquisição de fenótipo fagocítico como reflexo da presença de lisossomas.

1.3.6.b. Antígeno Leucocitário Comum (LC)

Maior constituinte da membrana plasmática das células hematopoiéticas, tem peso molecular de 200 kilodaltons. Pode ser encontrado em linfócitos, células foliculares, timócitos e células histiocitárias. É usado para identificar neoplasias de linhagem linfóide (ERLANDSON & CORDON-CARDO, 1988).

1.3.6.c. CD-15

Consiste num agrupamento de anticorpos que reagem contra o hapteno X presente em neutrófilos maduros, muitos monócitos e em células T. O CD-15 é usado como marcador de doença de Hodgkin por apresentar reatividade em torno de 90% nesta neoplasia.

1.3.6.d. CD-30

Agrupamento de anticorpos que reconhece uma proteína associada à ativação do fator de necrose tumoral/fator de crescimento nervoso. Este anticorpo está presente em 90% das células de Reed-Sternberg nas doenças de Hodgkin (CHU et al., 2000).

1.3.6.e. CD-20

O CD-20 é um conjunto de anticorpos que reconhece uma fosfoproteína de membrana restrita às células B. O antígeno CD-20 expressa-se fortemente nas células B maduras, podendo encontrar-se também em subtipos de células T. Não está presente em células mielóides, eritrócitos, monócitos ou células mesenquimais. O CD-20 diagnostica cerca de 95% dos linfomas de células B e cerca de 92% das doenças de Hodgkin do subtipo com predomínio linfocitário. Pode ser encontrado em algumas células epiteliais de subtipos de timomas, porém não está presente em outros tumores epiteliais (CHU et al., 2000).

1.3.6.f. CD-45

Conjunto de anticorpos que reconhece a família da proteína tirosina fosfatase; manifesta-se, virtualmente, em todas as células hematológicas e linfóides e suas precursoras, com exceção dos eritrócitos e megacariócitos. Está ausente em células não hematológicas. Há muitas famílias de anticorpos que detectam diferentes subclasses de proteínas CD-45: o CD45RA, o CD45RB e o CD45RO. O anticorpo CD45RO reage principalmente com células T em secções de parafina, estando presente em 78% dos linfomas de célula T e em somente 4% dos linfomas de células B (CHU et al., 2000).

1.3.6.g. Lisozima

É uma enzima natural antibacteriana secretada nas lágrimas e em muitas outras secreções corporais, com capacidade de lise da parede celular bacteriana. A lisozima é um

marcador altamente específico e relativamente sensível para histiócitos e células mielóides e suas neoplasias (CHU et al., 2000).

1.3.7. Miscelânea de antígenos

1.3.7.a. Produto do gene MIC2

Expressa-se como uma proteína de superfície descrita inicialmente em células T e em núcleos de células de leucemia linfoblástica aguda. Localiza-se no braço curto do cromossoma sexual. O anticorpo monoclonal HBA-71, identificando um epítipo diferente dessa proteína, demonstra que células do sarcoma de Ewing e tumores neuroectodérmicos periféricos também expressam esta proteína em 98% dos casos (AMBROS et al., 1991). Rabdomiossarcomas alveolar, ependimomas e tumores de células das ilhotas pancreáticas também a expressam. Tem sido útil no diagnóstico diferencial entre sarcoma de Ewing e neuroepitelioma periférico.

1.3.7.b. Antígenos da membrana basal

O colágeno tipo IV e a laminina representam dois dos principais componentes da membrana basal. Uma variedade de células, incluindo epitélios, endotélios, células de schwann e células musculares lisas, produzem membrana basal. Existem poucas situações em que a localização desses antígenos providencia informações significativas devido à grande distribuição dessas substâncias em lesões epiteliais e mesenquimatosas. A presença de laminina e colágeno tipo IV não diferenciaria necessariamente carcinomas de muitos sarcomas epitelióides, por exemplo.

1.3.7.c. Proteínas receptoras de esteróides

Podem estar presentes em muitos tipos de tecidos e tumores, incluindo sarcomas. São tradicionalmente associadas com tecidos sensíveis a hormônio e com

receptores de esteróides. O desenvolvimento recente de um anticorpo monoclonal específico para proteína receptora de estrógeno permitiu o reconhecimento dessa proteína nos tecidos. Sua localização imunocitoquímica não tem sido possível, provavelmente devido aos seus baixos níveis (WEISS et al., 1986). O desenvolvimento deste anticorpo e o futuro desenvolvimento de anticorpos monoclonais para outros receptores de esteróides sugerem a possibilidade de estudos mais profundos.

1.3.7.d. Produto do gene p53

Trata-se de um gene supressor de tumor localizado no braço curto do cromossomo 17. Codifica uma fosfoproteína nuclear que se liga ao DNA e regula negativamente a divisão celular. Mutações desse gene têm sido identificadas numa variedade grande de tumores como carcinomas de cólon, esôfago, fígado, mama, pulmão e sistema nervoso central. Essa mutação também é encontrada em cerca de 20% a 30% dos sarcomas de partes moles de diversos tipos, notadamente os leiomiossarcomas, fibrohistiocitomas malignos, lipossarcomas e sarcomas sinoviais (SOINI et al., 1992; ANDREASSEN et al., 1993; DEITOS et al., 1993). Parece haver correlação entre anormalidades no *locus* do p53 e aumento da mudança histológica nos sarcomas de partes moles também (DROBNJAK et al., 1994).

1.3.7.e. Bcl-2

A Bcl-2 é uma proteína de membrana mitocondrial, relacionada ao bloqueio da morte celular programada (apoptose). Inicialmente, foi identificada em linfomas foliculares e de células B e, atualmente, é muito útil no diagnóstico de carcinomas e de sarcomas de partes moles, como o sarcoma sinovial, o tumor fibroso solitário e o tumor do estroma gastrointestinal (SUSTER, 2000).

1.3.7.f. CD-99

É uma designação encurtada para o antígeno p30/32^{mic2} que representa o gene produtor do MIC2, uma glicoproteína de superfície celular codificada por um gene localizado nos cromossomos X e Y. Existem três anticorpos para a detecção do CD-99: O13, 12E7 e HBA-71. Pode ser identificado em sarcomas de Ewing, tumores neuroectodérmicos primitivos, linfoma linfoblástico, rabdomiossarcoma, osteossarcoma de células pequenas, carcinomas neuroendócrinos de células pequenas e tumores desmoplásicos de pequenas células redondas (SUSTER, 2000).

1.3.7.g. Caderinas

São moléculas de adesão intercelular cálcio-dependente, localizadas nas junções celulares. Inicialmente foi usada como marcador de células endoteliais, porém estudos recentes provaram não ser específica para estas células. Atualmente é utilizada para o diagnóstico de sarcomas epitelióides e sarcomas sinoviais (SUSTER, 2000).

1.3.7.h. C-kit

O protooncogene c-kit (CD-117) está localizado no cromossomo 4 humano e codifica um receptor transmembrana da tirosina quinase, que é estruturalmente semelhante ao receptor do fator de crescimento derivado das plaquetas e do fator de crescimento estimulador colônico. Ele tem um papel importante na hematopoiese, espermatogênese e na melanogênese. A sua importância está na identificação de neoplasias de partes moles, em especial nas neoplasias do trato gastrointestinal (SUSTER, 2000).

1.3.7.i. Antígeno carcinoembrionário (CEA)

Indicador sorológico muito reconhecido na clínica médica como marcador de crescimento de tumor colônico. É considerado um dos mais confiáveis marcadores para distinguir mesotelioma e adenocarcinoma. A maioria dos mesoteliomas são negativos para

CEA. Epítomos de CEA estão presentes em muitos outros tumores epiteliais (MORAN et al., 2000).

O uso desses anticorpos e de técnicas imuno-histoquímicas para localização de antígenos de diferenciação, hormônios, proteínas do citoesqueleto e uma grande variedade de outros constituintes celulares tem revolucionado literalmente a prática da patologia cirúrgica nas últimas décadas.

Através de um painel imuno-histoquímico adequado para se investigarem as neoplasias prováveis para a faixa etária, o local do tumor e o padrão celular, é possível obter-se o diagnóstico histogenético preciso da neoplasia em muitos casos e a conseqüente decisão pela conduta terapêutica adequada, favorecendo o prognóstico do paciente.

Neste estudo, pretendemos avaliar a freqüência dos casos em que o exame imuno-histoquímico foi decisivo para o diagnóstico conclusivo da neoplasia indiferenciada de cabeça e pescoço.

2. OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho é estudar a ocorrência de neoplasias indiferenciadas em cabeça e pescoço, sua distribuição conforme o padrão celular, a idade do paciente e a localização do tumor, avaliando-se a frequência dos casos em que o exame imuno-histoquímico foi decisivo para o diagnóstico histogenético diferencial.

3. MATERIAL

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

Estudamos retrospectivamente 43 biopsias de neoplasias indiferenciadas de cabeça e pescoço, realizadas no setor de Cabeça e Pescoço da Disciplina de Otorrinolaringologia, Departamento de Oftalmo-Otorrinolaringologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, no período de 1990 a 1997, arquivadas no Departamento de Anatomia Patológica desta faculdade. Os critérios de inclusão foram: localização do tumor em cabeça e pescoço, diagnóstico histopatológico de neoplasia indiferenciada na coloração por hematoxilina e eosina (HE) e quantidade de material suficiente em bloco de parafina para realizar o exame imuno-histoquímico. Foram excluídas neoplasias com diferenciação evidente na coloração rotineira pela HE e os casos com material insuficiente para o exame imuno-histoquímico.

4. MÉTODO

Todas as 43 biopsias fixadas em formalina a 10%, incluídas em parafina e coradas pela hematoxilina e eosina, cujo diagnóstico à microscopia óptica foi de neoplasia indiferenciada, foram revistas e classificadas de acordo com o padrão celular em cinco grandes grupos:

1. Neoplasia de células redondas
2. Neoplasia de células fusiformes
3. Neoplasia de células pleomórficas
4. Neoplasia de células mixóides
5. Neoplasia de células epitelióides

Selecionou-se um painel imuno-histoquímico com anticorpos monoclonais utilizando-se o método complexo **avidina-biotina-peroxidase** (método ABC), conforme a idade do paciente, a localização da neoplasia e o padrão morfológico das células.

O painel imuno-histoquímico selecionado consta dos seguintes anticorpos monoclonais:

EPITELIAIS	AE1/AE3 MNF116 CAM5.2 CEA EMA
LINFÓIDES	LC CD 68 CD 45RO CD 20 CD15 CD30 LISOZIMA
MESENQUIMATOSOS	VIMENTINA DESMINA MIOGLOBINA S 100 FATOR VIII AFP CROMOGRANINA 1A4 HHF-35 HMB-45 NSE

As secções foram desparafinadas e, brevemente, a peroxidase endógena foi bloqueada com peróxido de hidrogênio a 0.3% em metanol. Em seguida, foram incubadas sucessivamente com soro não-imune apropriado e com o antisoro primário apropriado, a 4°C, durante a noite; com anticorpo secundário, biotinizado a 27°C, por 30 minutos; com o reagente do complexo avidina-biotina-peroxidase a 27°C, por 30 minutos, antes da incubação com diaminobenzidina em um tampão Tris HCL.

O diagnóstico final de cada caso quanto à histogênese da neoplasia indiferenciada foi emitido após nova análise microscópica das lâminas coradas pela hematoxilina e eosina, em conjunto com as coradas pelo painel imuno-histoquímico. Os resultados foram divididos de acordo com a localização da neoplasia, com o padrão citoarquitetural das células e com a idade do paciente.

Os nossos resultados são apresentados na forma de tabelas e figuras.

5. RESULTADOS

TABELA 1. Distribuição numérica dos pacientes, quanto ao sexo, em relação ao diagnóstico final.

SEXO	DIAGNÓSTICO FINAL			Total Global
	CONCLUSIVO	INCONCLUSIVO	SUGESTIVO	
Feminino	9	2	3	14
Masculino	17	6	6	29
Total Global	26	8	9	43

P=0,005 (teste Exato de Fisher)

FIGURA 2. Representação gráfica da distribuição numérica dos pacientes, quanto ao sexo, em relação ao diagnóstico final.

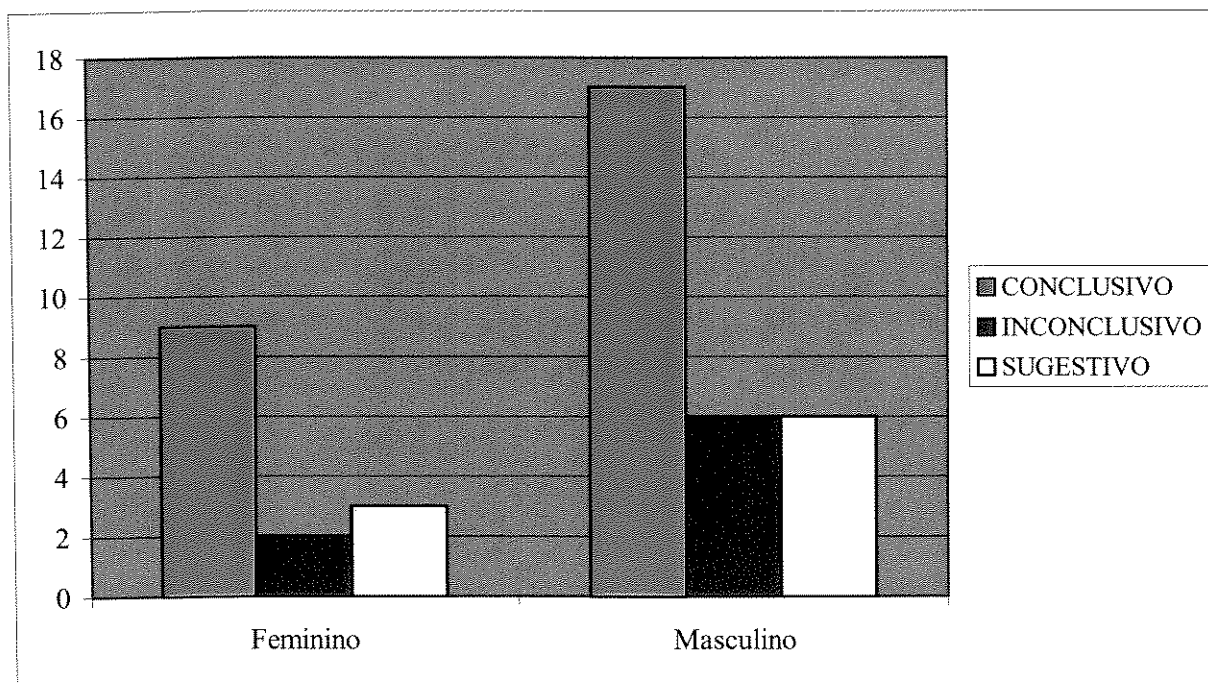


TABELA 2. Distribuição numérica dos pacientes, conforme a faixa etária, segundo o diagnóstico final.

FAIXA ETÁRIA	DIAGNÓSTICO FINAL			Total Global
	CONCLUSIVO	INCONCLUSIVO	SUGESTIVO	
0-10	3	0	0	3
10 a 20	2	1	1	4
20 a 30	4	1	0	5
30 a 40	1	3	1	5
40 a 50	1	0	2	3
50 a 60	5	1	1	7
60 a 70	9	3	3	15
Acima de 70	1	0	0	1
Total	26	9	8	43

FIGURA 3. Representação gráfica da distribuição numérica dos pacientes, conforme a faixa etária, segundo o diagnóstico final.

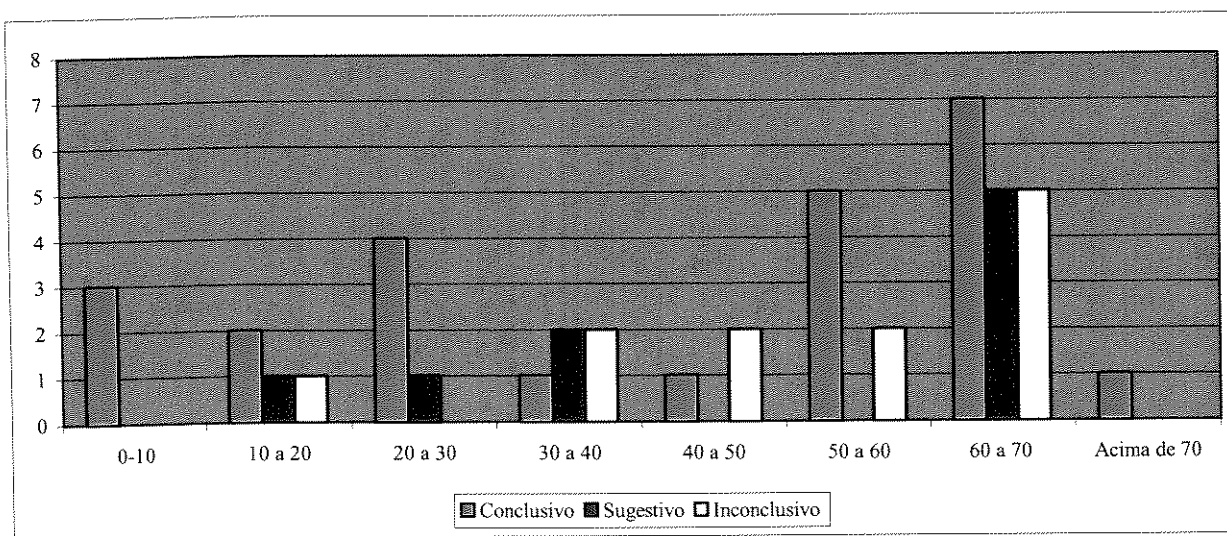


TABELA 3. Distribuição numérica dos padrões celulares das neoplasias indiferenciadas conforme o diagnóstico final.

PADRÃO CELULAR	DIAGNÓSTICO FINAL			Total Global
	CONCLUSIVO	INCONCLUSIVO	SUGESTIVO	
EPITELIÓIDE	5	2	2	9
FUSIFORME	1	1	5	7
MIXÓIDE	4	0	0	4
PLEOMÓRFICA	0	0	1	1
REDONDA	16	5	1	22
Total Global	26	8	9	43

P= 0,0357 (teste de χ^2)

FIGURA 4. Representação gráfica da distribuição numérica dos padrões celulares das neoplasias indiferenciadas conforme o diagnóstico final.

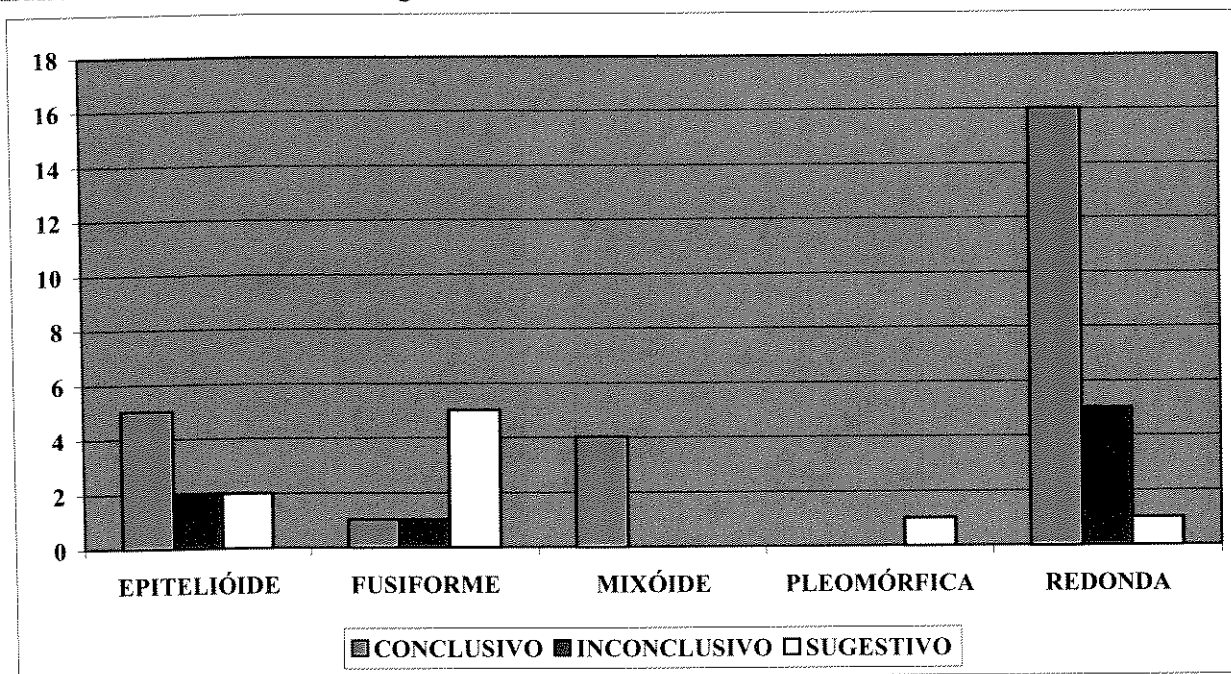


TABELA 4. Distribuição das frequências de localizações das neoplasias indiferenciadas segundo o diagnóstico final.

LOCALIZAÇÃO	DIAGNÓSTICO FINAL			Total Global
	CONCLUSIVO	INCONCLUSIVO	SUGESTIVO	
CAVIDADE ORAL	4	0	0	4
FARINGE	3	4	0	7
LARINGE	0	0	1	1
LINFONODO	8	1	0	9
NARIZ	2	2	1	5
OUVIDO	0	1	1	2
PELE	1	0	1	2
PESCOÇO	3	0	4	7
SEIOS PARANASAIS	5	0	1	6
Total Global	26	8	9	43

FIGURA 5. Representação gráfica da distribuição das frequências de localizações das neoplasias indiferenciadas segundo o diagnóstico final.

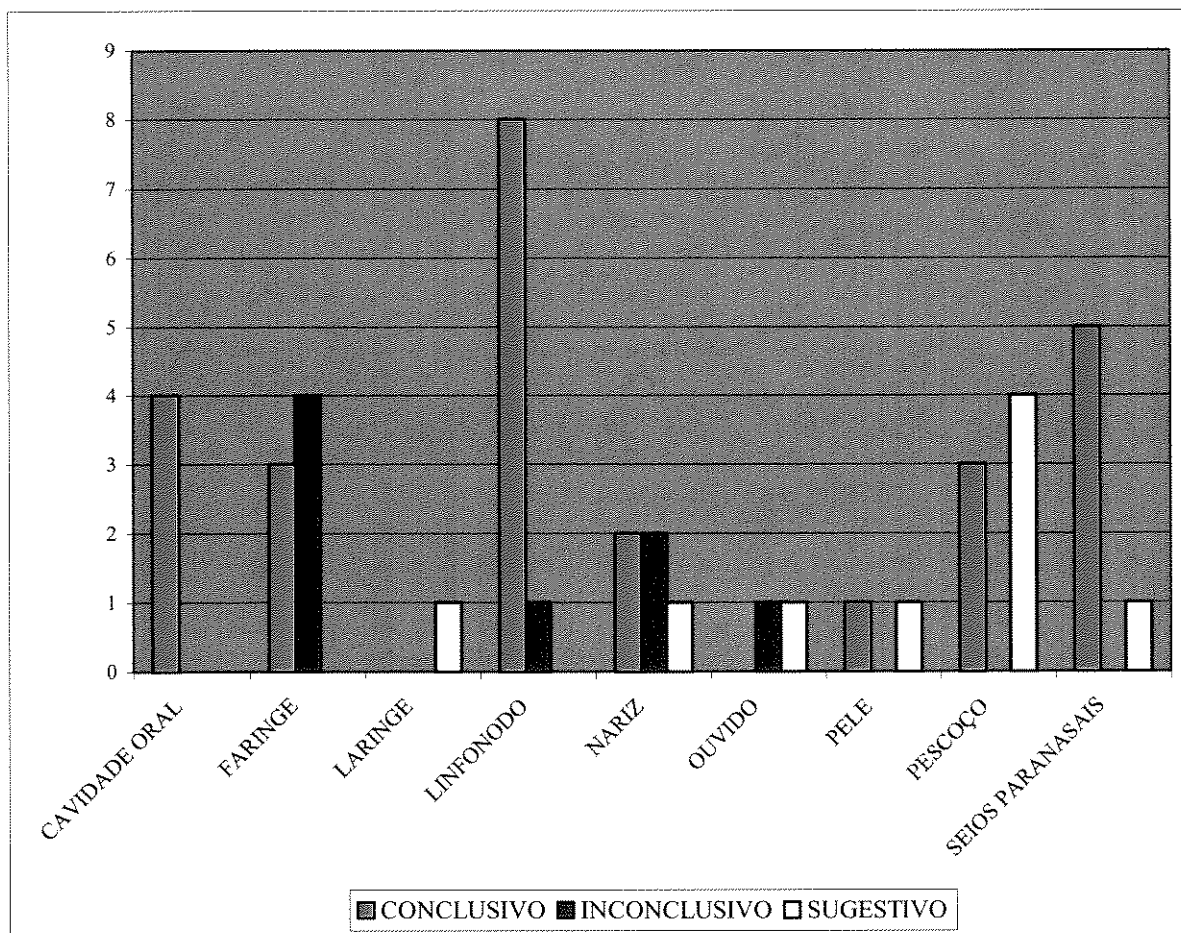


TABELA 5. Distribuição numérica da localização da neoplasia segundo os padrões citoarquiteturais.

LOCALIZAÇÃO	PADRÃO CELULAR					Total Global
	Cél. Redondas	Cél. Epitelióides	Cél. Fusiformes	Mixóide	Cél. Pleomórficas	
Seios Paranasais	2	3	0	1	0	6
Pescoço	3	1	2	0	1	7
Ouvido	0	2	0	0	0	2
Pele	0	1	1	0	0	2
Linfonodo	7	1	0	1	0	9
Nariz	2	1	1	1	0	5
Cavidade Oral	3	0	1	0	0	4
Laringe	0	0	1	0	0	1
Faringe	5	0	1	1	0	7
Total	22	9	7	4	1	43

FIGURA 6. Representação gráfica da distribuição numérica da localização da neoplasia segundo os padrões citoarquiteturais.

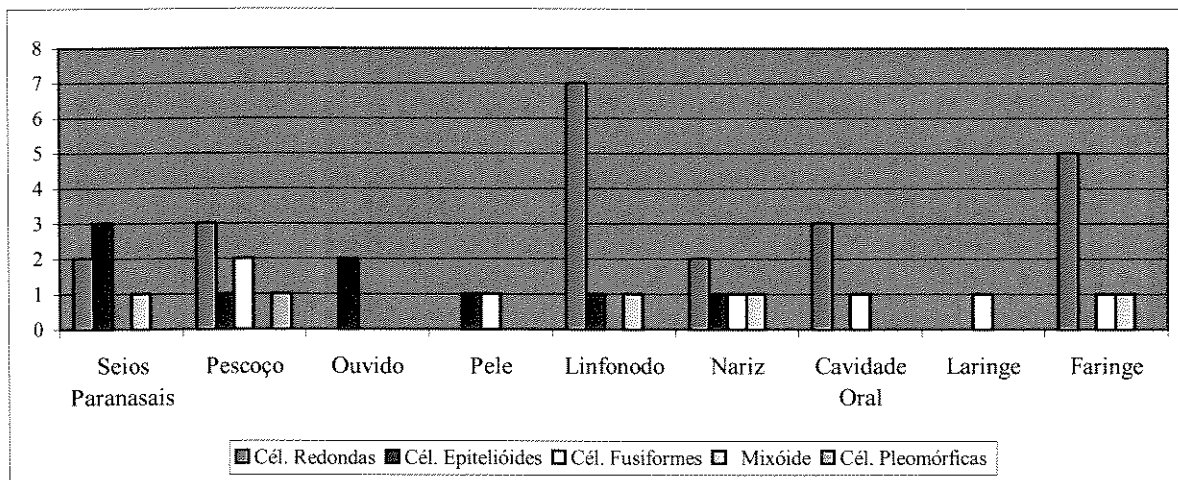


TABELA 6. Distribuição numérica da faixa etária dos pacientes conforme os padrões citoarquiteturais das neoplasias.

LOCALIZAÇÃO	PADRÃO CELULAR					Total Global
	Cél. Redondas	Cél. Epitelióides	Cél. Fusiformes	Mixóide	Cél. Pleomórficas	
0-10	0	2	0	1	0	3
10 a 20	3	0	0	0	1	4
20 a 30	2	1	2	0	0	5
30 a 40	1	3	0	1	0	5
40 a 50	1	1	1	0	0	3
50 a 60	3	2	1	1	0	7
60 a 70	11	0	3	1	0	15
Acima de 70	1	0	0	0	0	1
Total	22	9	7	4	1	43

FIGURA 7. Representação gráfica da distribuição numérica da faixa etária dos pacientes conforme os padrões citoarquiteturais das neoplasias.

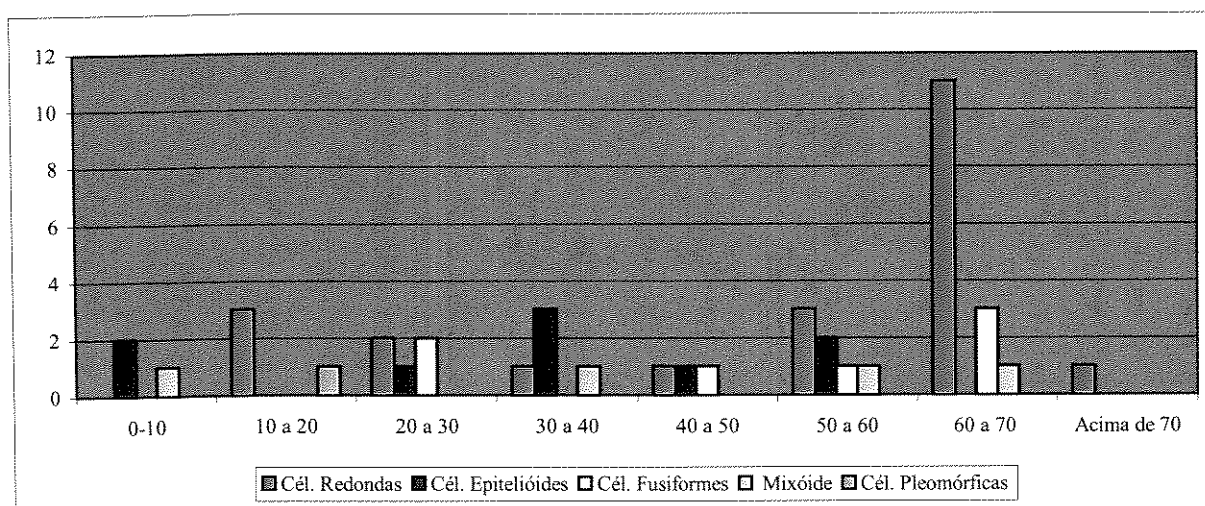


TABELA 7. Distribuição numérica das localizações das neoplasias segundo a faixa etária.

LOCALIZAÇÃO	FAIXA ETÁRIA								Total Global
	0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	60-70	> 70	
Seios Paranasais	1	0	1	1	0	2	0	1	6
Pescoço	1	1	1	1	0	1	2	0	7
Ouvido	0	0	0	1	1	0	0	0	2
Pele	0	0	0	0	0	1	1	0	2
Linfonodo	0	2	1	0	0	2	4	0	9
Nariz	1	0	0	1	0	0	3	0	5
Cavidade Oral	0	0	1	0	1	0	2	0	4
Laringe	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Faringe	0	1	1	1	1	1	2	0	7
Total	3	4	5	5	3	7	15	1	43

FIGURA 8. Representação gráfica da distribuição numérica das localizações das neoplasias segundo a faixa etária dos pacientes.

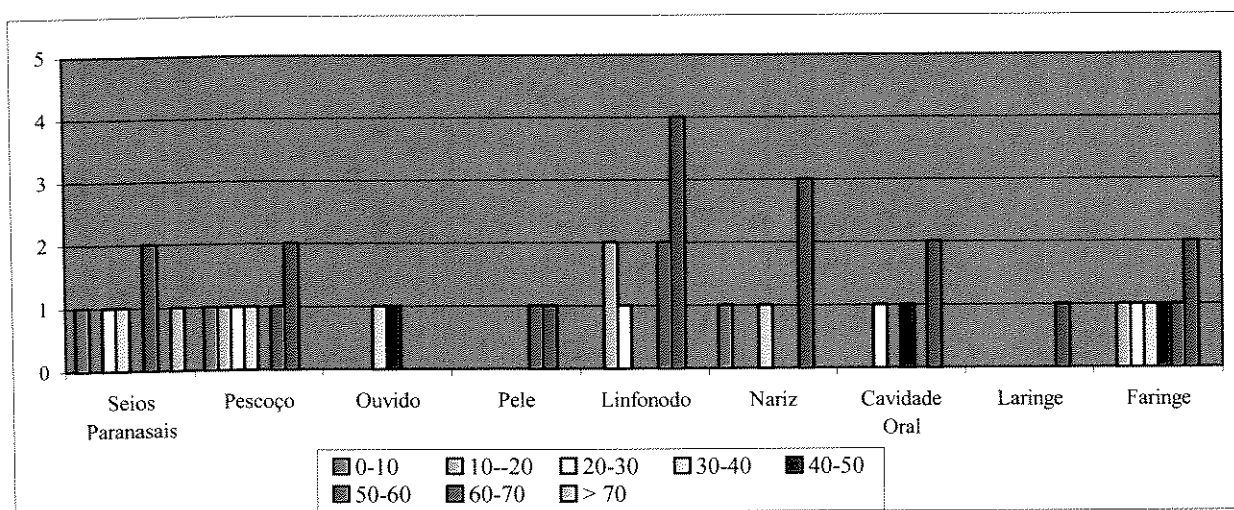


TABELA 8. Distribuição numérica, segundo padrão celular, relativa ao diagnóstico final conclusivo e ao tipo de tumor.

PADRÃO CELULAR	DIAGNÓSTICO CONCLUSIVO			TOTAL
	CARCINOMA	LINFOMA	OUTROS	
REDONDAS	8	8	0	16
EPITELIÓIDES	3	0	2	5
FUSIFORMES	0	0	1	1
PLEOMÓRFICAS	0	0	0	0
MIXÓIDE	0	1	3	4
TOTAL	11	9	6	26

FIGURA 9. Representação gráfica da distribuição numérica, segundo padrão celular, relativa ao diagnóstico final conclusivo e ao tipo de tumor.

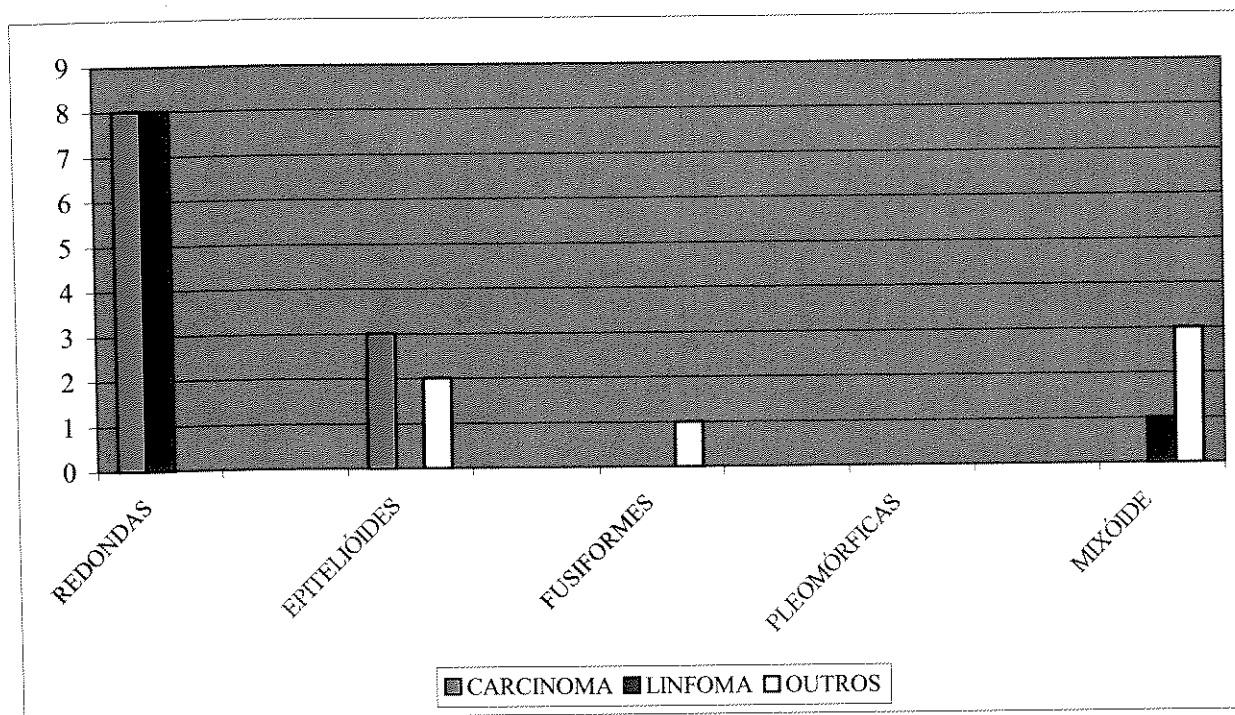
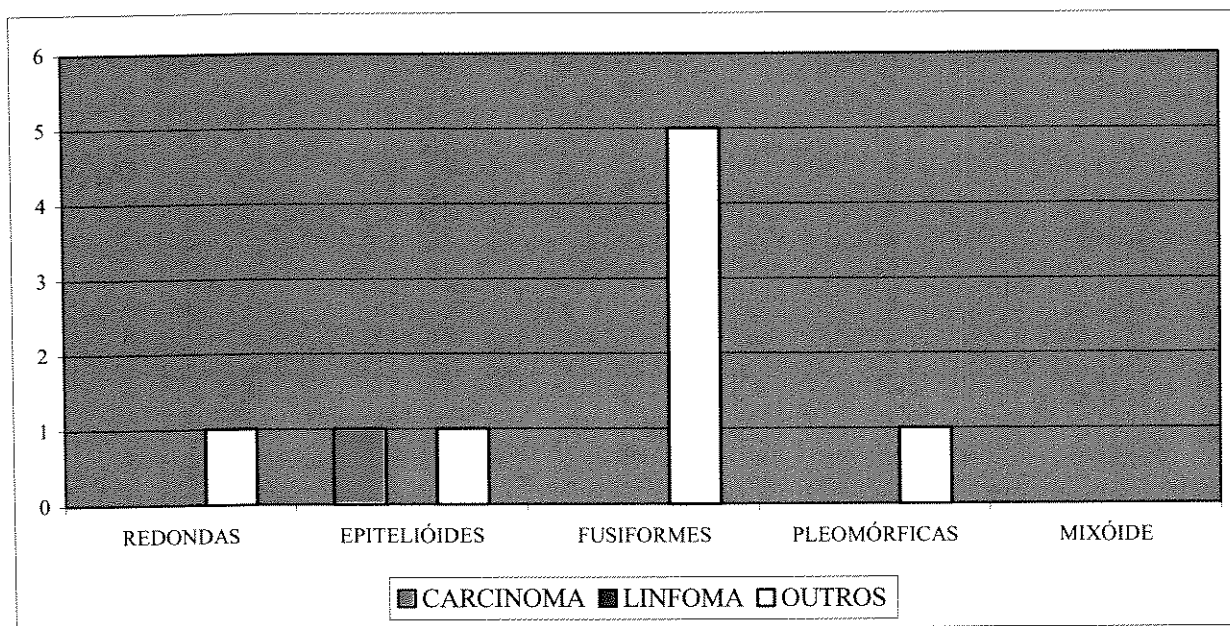


TABELA 9. Distribuição numérica, segundo padrão celular, relativa ao diagnóstico final sugestivo e ao tipo de tumor.

PADRÃO CELULAR	DIAGNÓSTICO SUGESTIVO			TOTAL
	CARCINOMA	LINFOMA	OUTROS	
REDONDAS	0	0	1	1
EPITELIÓIDES	1	0	1	2
FUSIFORMES	0	0	5	5
PLEOMÓRFICAS	0	0	1	1
MIXÓIDE	0	0	0	0
TOTAL	1	0	8	9

FIGURA 10. Representação gráfica da distribuição numérica, segundo padrão celular, em relação ao diagnóstico final sugestivo e ao tipo de tumor.



6. DISCUSSÃO

Os estudos imuno-histoquímicos nas últimas décadas vêm revolucionando os conhecimentos da patologia cirúrgica, uma vez que o diagnóstico histopatológico correto de uma neoplasia é fundamental para a conduta terapêutica adequada, além de influir diretamente no prognóstico do paciente, principalmente com as novas drogas e terapêuticas disponíveis atualmente (GATTER & MASON, 1982; CAVERIVIÈRE et al., 1985; COINDRE et al., 1986; KAHN, BAUMAL & FROM, 1986; ABEMAYOR et al., 1987; LEONG & WRIGHT, 1987; DE LELLIS & DAYAL, 1988; LINDER, 1990; KAMEL et al., 1991; SCHMITT et al., 1991; LEONG & WANNAKRAIROT, 1992; VEGE et al., 1994; MILROY & FERLITO, 1995).

Desde que COONS et al. (1942) descreveram, pela primeira vez, o uso de anticorpos para localização de pneumococos em tecidos, as técnicas imuno-histoquímicas têm sido implementadas ao longo das décadas. Destacam-se os trabalhos de KÖHLER & MILSTEIN (1975) no desenvolvimento de anticorpos monoclonais; as novas técnicas de coloração utilizando métodos imuno-histoquímicos descritas por STERNBERGER (1979) e HSU et al. (1981); os métodos descritos por LEONG et al. (1985) para aumentar a recuperação de antígenos mediante o aquecimento das biopsias e os novos anticorpos mais sensíveis e específicos que estão sendo produzidos continuamente.

Por meio desses estudos, desenvolveu-se enormemente a possibilidade de auxílio no diagnóstico nas biópsias pouco representativas ou mal preservadas, na classificação dos tumores, na identificação da origem de um carcinoma, na demonstração de micrometástases, no reconhecimento de novas entidades tumorais, no fornecimento de informações prognósticas ou na demonstração de microorganismos (ORDOÑEZ, 1998; CHAN, 2000).

Aproximadamente entre 5-10% de todos os tumores corados pelas técnicas habituais permanecem não classificados ou chamados de indiferenciados, pouco diferenciados, pleomórficos, anaplásicos, células grandes etc., termos estes que não indicam a sua origem (MACKAY & ORDOÑEZ, 1982; GATTER et al., 1985; ERLANDSON & CORDON-CARDO, 1988; VEGE et al., 1994).

Em cabeça e pescoço, especificamente, a literatura não apresenta muitos trabalhos de casuísticas referentes a aplicação de técnicas imuno-histoquímicas para a identificação dos tumores indiferenciados (ABEMAYOR et al., 1987; DARROUZET et al., 1989; GALLO, GRAZIANI & FINI-STORCHI, 1993; MILROY & FERLITO, 1995).

No nosso material, ao todo observaram-se 43 pacientes. Houve 29 pacientes do sexo masculino (67,45%) e quatorze do sexo feminino (32,55%), numa proporção de 2:1. Foi possível o diagnóstico conclusivo em dezessete (58,62%) homens e nove (64,29%) mulheres (TABELA 1, FIGURA 2).

Nas 43 biopsias avaliadas, a faixa etária variou de dois a 89 anos, com média de 45,44 anos. A média etária dos homens foi de 43,62 anos e, das mulheres, 49,21 anos.

Na nossa casuística, as neoplasias indiferenciadas afetaram todas as faixas etárias, sendo a sétima década a mais prevalente (15) (34,88%). A faixa etária com maior dificuldade em se estabelecer diagnóstico conclusivo foi na quarta década (20%) e na quinta década (33,33%) de vida, sendo muito útil nas outras: primeira década (100%), acima de 70 anos (100%), terceira década (80%), sexta década (71,43%) e sétima década (60%) (TABELA 2, FIGURA 3).

Segundo estudos realizados por AZAR et al (1982), COINDRE et al. (1986), VEGE et al (1994), as neoplasias indiferenciadas incidem em todas as faixas etárias, ocorrendo de forma mais prevalente na sexta década de vida, sendo a maioria homens, num percentual de 60 a 75% das casuísticas. SCHMITT et al. (1991), na sua casuística, encontraram uma proporção de 1:1 em relação ao sexo. O nosso estudo demonstra que as neoplasias indiferenciadas, apesar de ocorrerem em todas as idades, é bem mais prevalente em pacientes adultos e idosos, com predomínio nos homens.

Neste estudo, houve uma maior incidência de tumores indiferenciados de células redondas (51,16%), seguido pelos tumores de células epitelióides (20,93%), de células fusiformes (16,28%), pelos tumores mixóides (9,30%) e pelos tumores de células pleomórficas (2,33%). O maior índice de conclusão foi nos tumores mixóides (4) (100%), em que pese o pequeno número de casos, seguidos pelos tumores de células redondas (16)

(72,73%) e pelos de células epitelióides (5) (62,5%). O grupo de maior dificuldade para se estabelecer diagnóstico conclusivo foi o de tumores de células fusiformes (1) (14,28%). No único caso de tumores de células pleomórficas, não foi possível o diagnóstico conclusivo (TABELA 3, FIGURA 4).

Segundo LEONG & WANNAKRAIROT (1992), as neoplasias mais comumente vistas em tumores indiferenciados são as de células redondas e as de células fusiformes, tendo, na sua casuística, conseguido fazer o diagnóstico definitivo em 70% dos de células redondas e 92% dos de células fusiformes, dados que diferem dos nossos achados. SCHMITT et al. (1991), no seu estudo de 959 biopsias de todas as regiões do corpo, encontraram neoplasias de células redondas e fusiformes mais freqüentemente.

As neoplasias de pequenas células redondas compreendem um grupo de neoplasias malignas altamente agressivas, composto de células indiferenciadas relativamente pequenas e monótonas, comumente vista na infância e não menos freqüente em adultos, sempre presente nos relatos de neoplasias indiferenciadas. Em crianças, o diagnóstico diferencial inclui: sarcoma de Ewing, neuroepitelioma periférico, neuroblastoma periférico, rabdomiossarcoma, tumor desmoplásico de pequenas células redondas, linfoma, osteossarcoma de pequenas células redondas e condrossarcoma mesenquimal. Aproximadamente 25% dos sarcomas de pequenas células redondas ou células fusiformes, excluindo-se neuroblastoma e linfoma não Hodgkin, em partes moles nas crianças e adolescentes, são diagnosticados de forma equivocada baseados em critérios histológicos inadequados ou arbitrários (ERLANDSON & CORDON-CARDO, 1988).

Nos adultos, os diagnósticos diferenciais incluem: carcinoma de células pequenas, linfomas, neuroblastoma olfatório, carcinoma neuroendócrino cutâneo, melanoma de pequenas células e sarcoma granulocítico (DEVOE & WEIDNER, 2000).

O padrão celular de células redondas concentrou-se principalmente na sétima década de vida, sendo o local mais comum os linfonodos (7) casos (31,82%), seguidos pela faringe (5) casos (22,73%) e cavidade oral e pescoço (3) casos (13,64%).

As neoplasias de células epitelioídes concentraram-se da quarta à sexta década, sendo os seios paranasais e a orelha os locais mais acometidos (5) casos (55,55%). As neoplasias de células fusiformes e mixóides não apresentaram um local preferencial de acometimento. A única neoplasia de células pleomórficas ocorreu na segunda década de vida, acometendo o pescoço (TABELA 6, FIGURA 7).

Os principais locais de acometimento das neoplasias indiferenciadas foram os linfonodos (20.93%), faringe e pescoço (16.28%), seios paranasais (13.95%), cavidade nasal (11.63%), seguidos da cavidade oral, do ouvido, da pele e da laringe (TABELA 5, FIGURA 6).

O padrão citoarquitetural de células redondas foi o mais comum nos linfonodos (7) casos (77.78%), em que foi feito o diagnóstico de cinco linfomas, três carcinomas e um inconclusivo. COINDRE et al. (1986), avaliando 144 biopsias seqüenciais de neoplasias indiferenciadas de várias localizações, encontraram uma prevalência de 42% nos linfonodos. LEONG & WANNAKRAIROT (1992) estudaram 557 neoplasias pouco diferenciadas de células redondas (419) e fusiformes (138) de todas as localizações. Havia 126 (30,07%) linfonodos acometidos nas neoplasias de células redondas, sendo 90 carcinomas, 51 melanomas e 45 linfomas. Numa casuística de 949 biopsias com diagnóstico de neoplasias indiferenciadas de todas as regiões do corpo, SCHMITT et al. (1991) observaram 14% de neoplasias indiferenciadas presentes nos linfonodos. Já VEGE et al. (1994) encontraram 10,03% de neoplasias indiferenciadas nos linfonodos, numa amostragem de 145 biopsias seqüenciais, de todas as localizações, com diagnóstico de neoplasia indiferenciada.

Nos diversos trabalhos da literatura, mesmo os que descrevem amostras de diversas regiões do corpo, há sempre maior incidência de neoplasias indiferenciadas nos linfonodos. Isso se deve à maior incidência de tumores da linhagem linfóide nestes locais e da dificuldade de se conseguir um diagnóstico conclusivo pela técnica convencional de coloração devido à multiplicidade de padrões morfológicos. Além disso, as metástases para linfonodos em cabeça e pescoço são muito freqüentes.

O diagnóstico histopatológico, após o exame imuno-histoquímico, foi conclusivo nas neoplasias indiferenciadas da cavidade oral (100%), dos linfonodos (88.89%) e dos seios paranasais (83.33%). Em relação aos tumores da faringe, o diagnóstico foi inconclusivo em 57.14% (TABELA 4, FIGURA 5).

A maior incidência das neoplasias ocorreu na sétima década de vida, sendo influenciada diretamente pelas neoplasias de células redondas (11) casos (73.33%), e os linfonodos foram o local de maior incidência (4) casos (26.67%), com diagnóstico de linfoma em todos. As neoplasias de faringe e pescoço mostraram-se distribuídas da segunda à sexta década de vida (TABELA 7, FIGURA 8).

Os testes imuno-histoquímicos são muito utilizados para o diagnóstico diferencial entre linfoma e carcinoma. Em boa parte dos casos, em que havia diagnóstico incorreto ou chamado de indiferenciado, as neoplasias eram da linhagem linfóide. Certamente, estes achados denunciam o prognóstico do paciente, uma vez que os linfomas têm sobrevida mais longa que os carcinomas (GATTER, 1985; COINDRE et al, 1986).

Muitos trabalhos realizados em banco geral de biopsias mostram predomínio dos linfomas sobre os carcinomas. Em nosso estudo, encontramos 12 (27,91%) carcinomas, 9 (20,93%) linfomas, outros 14 tumores (32,56%) e nenhum melanoma (TABELAS 8 e 9, FIGURAS 9 e 10) .

Estes achados podem ser explicados pelo fato de os carcinomas representarem as neoplasias mais comuns em cabeça e pescoço.

GATTER et al. (1984) encontraram 78,94% de linfomas em 38 biopsias de várias localizações. VEGE et al. (1994) relatam 57% de linfomas em 49 tumores originariamente indiferenciados nos linfonodos, cavidade oral, estômago e esôfago. GATTER et al. (1985) encontraram 66% de linfomas, numa proporção de 3:1 carcinoma, em amostras de tumores de várias localizações, sendo 23% em linfonodos. Relata, ainda, 67% de linfomas nos tumores identificados previamente como carcinomas. MICHIE et al. (1987) estudaram 120 neoplasias indiferenciadas de diversas localizações, encontrando 61

(50,83%) linfomas, 17 (14,16%) carcinomas e 25 (20,83%) melanomas. COINDRE et al. (1986) encontraram 57% de linfomas em 144 neoplasias indiferenciadas.

Nossos achados concordam com os de DARROUZET et al. (1989), que, avaliando 33 casos de tumores cervicofaciais, encontraram 12 (36,36%) carcinomas e três (9,09%) linfomas; com AZAR et al. (1982), que encontraram 19 (33,93%) carcinomas, 15 (26,79%) linfomas, sete (12,5%) melanomas e nove (16,07%) outros tumores.

Utilizando-se um painel imuno-histoquímico específico para identificar a neoplasia indiferenciada, de acordo com os diagnósticos diferenciais mais prováveis, é possível chegar a um diagnóstico conclusivo na maior parte dos casos. Vários são os autores que propõem um painel mínimo de anticorpos para detectar as principais neoplasias, minimizando os erros de interpretação, em virtude da complexa e sobreposta expressão antigênica das células tumorais (GATTER et al., 1984, 1985; CAVERIVIÈRE et al., 1985; ABEMAYOR et al., 1987; LEONG & WRIGHT, 1987; MICHIE et al., 1987; DARROUZET et al., 1989; SCHMITT et al., 1991; VEGE et al., 1994).

GATTER et al. (1984, 1985), CAVERIVIÈRE et al. (1985) e COINDRE et al. (1986) conseguiram a conclusão diagnóstica em mais de 90% dos casos de neoplasia indiferenciada das várias partes do corpo. LEONG & WANNAKRAIROT (1992) obtiveram êxito em 75,4% dos casos, ocorrendo o mesmo achado no trabalho de PLOTSKY et al. (1990) em neoplasias em crianças. LEONG & WRIGHT (1987), MICHIE et al. (1987), SCHMITT et al. (1991) e VEGE et al. (1994), conseguiram êxito em torno de 85% dos casos. DARROUZET et al. (1989), avaliando casos específicos de tumores cérvico-faciais, obtiveram diagnóstico conclusivo em 66,67% dos casos.

Os resultados obtidos pelo nosso estudo mostram que foi possível a orientação diagnóstica em 35 (81,40%) das biopsias, sendo que foi conclusivo em 26 (60,47%) deles. Em oito (18,6%) casos, não foi possível a orientação diagnóstica, provavelmente por limitação técnica, por alterações nos antígenos durante a fixação dos tecidos ou por ausência verdadeira de diferenciação celular.

Esses achados mostram, de maneira clara e contundente, que o exame imuno-histoquímico desempenha papel fundamental na investigação e definição da origem da neoplasia indiferenciada, contribuindo para a orientação adequada do tratamento e, conseqüentemente, melhorando o prognóstico do paciente oncológico de cabeça e pescoço.

7. CONCLUSÕES

Com este estudo sobre neoplasias indiferenciadas na cabeça e pescoço, podemos concluir:

1. O exame imuno-histoquímico foi decisivo no diagnóstico de 81,40% das neoplasias indiferenciadas da cabeça e pescoço, permitindo diagnóstico conclusivo em 60,47% dos casos e sugerindo-o em 20,93%;
2. Os padrões citoarquiteturais dessas neoplasias foram: de células redondas, 51,16%; de células epitelióides, 20,93%; de células fusiformes, 16,28%; tumores mixóides, 9,30% e de células pleomórficas, 2,33%;
3. As neoplasias indiferenciadas da cabeça e pescoço foram mais prevalentes na sétima década de vida (34,88%);
4. Os locais mais atingidos foram os linfonodos, 20,93%; faringe e pescoço, 16,28%; seios paranasais, 13,95% e cavidade nasal, 11,63%.

8. SUMMARY

Head and neck and skull base undifferentiated tumors are not unusual. They can arise in mucosa such as in salivary glands, soft tissues or in lymph nodes. Suitable therapy and prognosis of every case depends upon precise histopathological diagnosis.

In this paper we evaluated the occurrence of these tumors in our service and the way in which they are distributed according to cellular pattern, patient's age and tumors localization. Besides, we studied the role of immunohistochemical techniques concerning conclusive diagnosis.

We reviewed 43 biopsies performed in our service from January 1990 to December 1997, diagnosed as undifferentiated tumors. We applied an immunohistochemical panel according to the method avidin-biotin-peroxidase complex. The final diagnosis was achieved after comparison to the biopsies stained with hematoxylin and eosin technique.

The most frequent localization of undifferentiated tumors was lymph nodes, 20,93%; pharynx and neck, 16,28%; paranasal sinus, 13,95% and nasal cavity, 11,63%. They were more prevalent on seventh decade of life (34,88%), and twice more prevalent in men than women. The immunohistochemical technique allowed conclusive diagnosis in 60,47% of tumors and was suggestive in 20,93% of the biopsies. The most prevalent cellular pattern was round cell (51,16%), followed by epithelioid cell (20,93%), spindle cell (16,28%), myxoid pattern (9,30%) and pleomorphic cell (2,33%). The results of this work demonstrate the role of immunohistochemical technique on conclusive diagnosis of undifferentiated tumors.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABEMAYOR, E.; KESSLER, D. J.; WARD, P. H.; FU, Y.S. – Evaluation of poorly differentiated head and neck neoplasms. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, **113**: 506-509, 1987.
- ALTMANNNSBERGER, M.; OSBORN, M.; TREUNER, J. - Diagnosis of human childhood rhabdomyosarcoma by antibodies to desmin, the structural protein of muscle specific intermediate filaments. **Vichows Arch. [Cell Pathol.]**, **39**: 203, 1982.
- ALTMANNNSBERGER, M.; WEBER, K.; DROSTE, R.; OSBORN, M. - Desmin is a specific marker for rhabdomyosarcomas of human and rat origin. **Am. J. Pathol.**, **118**: 85, 1985.
- AMBROS, I.M.; AMBROS, P.F.; STREHL, S. - MIC2 is a specific marker for Ewing's sarcoma and peripheral primitive neuroectodermal tumors: evidence for a common histogenesis for Ewing's sarcoma and peripheral primitive neuroectodermal tumors from MIC2 expression and specific chromosome aberration. **Cancer**, **667**: 1886, 1991.
- AZAR, H. A.; ESPINOZA, C. G.; RICHMAN, A. V.; SABA, S. R.; WANG, T. - Undifferentiated large cell malignancies: An ultrastructural and immunocytochemical study. **Human Pathol.**, **13**: 323-33, 1982.
- AVRAMEAS, S. - Coupling of enzymes to proteins with glutaraldehyde. Use of the conjugates for the detection of antigens and antibodies. **Immunochemistry**, **6**: 43-52, 1969.
- BATTIFORA, H. – Assessment of antigen damage in immunohistochemistry. The vimentin internal control. **Am. J. Clin. Pathol.**, **96**: 669-71, 1991.
- BATTIFORA, H. - Recent progress in the immunohistochemistry of solid tumors. **Semin. Diagn. Pathol.**, **1**: 252, 1984.
- BATTIFORA, H.; ALSABEH, R.; JENKINS, K. A. - Epitope retrieval (unmasking) in immunohistochemistry. **Adv. Pathol. Lab. Med.**, **8**: 101-18, 1995.

- BEN-ZE'EV, A. & RAZ, A. - Relationship between the organization and synthesis of vimentin and the metastatic capability of B16 melanoma cells. **Cancer Res.**, **45**: 2632, 1985.
- BOROWITZ, M. J.; STEVANOVIC, G.; GOTTFRIED, M. - Differential diagnosis of undifferentiated malignant tumors with monoclonal antibody T 29/33. **Human Pathology**, **15 (10)**: 928-934, 1984.
- CAMPOS, H. – **Estatística experimental não paramétrica**. Piracicaba, USP, 1979. 343p.
- CAVAZZANA, A.O.; SCHMIDT, D.; NINFO, V. - Spindle cell rhabdomyosarcoma: a prognostically favorable variant of rhabdomyosarcoma. **Am. J. Surg. Pathol.**, **16**: 229, 1992.
- CAVERIVIÈRE, P.; SAATI, T. A.; VOIGT, J. J.; DELSOL, G. - Diagnostic des tumeurs indifférenciées à l'aide d'anticorps monoclonaux utilisables sur coupes en paraffine. **La Presse Médicale**, **14 (32)**: 1691-1695, 1985.
- CERIANI, R. L.; THOMSON, K.; PETERSON, J. A. - Surface differentiation antigens of human mammary epithelial cells carried on the human milk fat globule. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, **74**:582, 1977.
- CHAN, J. K. C. - Advances in immunohistochemistry: Impact on Surgical Pathology Practice. **Seminars in Diagnostic Pathology** **17(3)**: 170-177, 2000.
- CHU, P. G.; CHANG, K. L.; ARBER, D. A.; WEISS, L. M. - Immunophenotyping of hematopoietic neoplasms. **Semin. Diagn. Pathol.**, **17(3)**: 236-56, 2000.
- COINDRE, J. M.; TANGUY, F.; MERLÍO, J. P.; DE MASCAREL, I.; DE MASCAREL, A.; TROJANI, M. - The value of immunohistological techniques in undifferentiated cancers. **Tumori**, **72**: 539-44, 1986.
- CONNELL, N. D. & RHEINWALD, J. G. - Regulation of the cytoskeleton in mesothelial cells: Reversible loss of keratin and increase in vimentin during rapid growth in culture. **Cell**, **34**: 245-253, 1983.

- COONS, A.; CREECH, J.J.; JONES, R. N.; BERLINGER, E. - The demonstration of pneumococcal antigen in tissue by the use of fluorescent antibody. **J. Immunol.**, **45**: 159-170, 1942.
- COOPER, D.; SCHERMER, A.; SUN, T.T. - Biology of disease. Classification of human epithelia and their neoplasms using monoclonal antibodies to keratins: Strategies, applications and limitations. **Lab. Invest.**, **52**: 243, 1985.
- CORSON, J. M.; WEISS, L. M.; BANKS-SCHLEGEL, S. P. - Keratin proteins in synovial sarcoma. **Am. J. Surg. Pathol.**, **7**: 107, 1983.
- DAHL, D. - The vimentin – GFA protein transition in rat neuroglia cytoskeleton occurs at the time of myelination. **J. Neurosci Res.**, **6**: 741, 1981.
- DAMJANOV, I. - Antibodies to intermediate filaments and histogenesis. **Lab. Invest.**, **47**: 215, 1982.
- DARROUZET, V.; STOLL, D.; BENASSAYAG, C.; DEMINIÈRE, C. - Apport de l'immunohistochimie dans le diagnostic des cancers cervico-faciaux. **Revue Laryngo**, **110(2)**: 201-204, 1989.
- DE LELLIS, R. A. & DAYAL, Y. - Principles of immunohistochemistry as applied to the surgical pathology of neoplasms. In: AZAR, H. A., ed. - **Pathology of Human Neoplasms**. New York, Raven Press, 1988.
- DEI TOS, A. P.; DOGLIONI, C.; LAURINO, L. - P-53 protein expression in nonneoplastic and benign and malignant neoplasms of soft tissue. **Histopathology**, **22**: 45, 1993.
- DELSOL, G.; STEIN, H.; PULFORD, K. A. F. - Human lymphoid cells express epithelial membrane antigen. **Lancet**, **2**: 1124, 1984.
- DENK, H.; KREPLER, R.; ATRLIEB, U. - Proteins of intermediate filaments: Na immunohistochemical and biochemical approach to the classification of soft tissue tumors. **Am. J. Pathol.**, **110**: 193, 1983.

- DEVOE, K. & WEIDNER, N. - Immunohistochemistry of small round cell tumors. **Semin. Diagn. Pathol.**, **17(3)**: 216-24, 2000.
- DE YOUNG, R. B. & WICK, M. R. - Immunohistologic evaluation of metastatic carcinomas of unknown origin: An algorithmic approach. **Semin. Diagn. Pathol.**, **17(3)**: 184-93, 2000.
- DE YOUNG, B. R.; WICK, B. R.; FITZGIBBON, J. F. - CD-31: an immunospecific marker for endothelial differentiation in human neoplasms. **Appl. Immunohistochem.**, **1**: 97, 1993.
- DROBNJAK, M.; LATRES, E.; POLLACK, D. - Prognostic implications of p53 nuclear overexpression and high proliferation index of ki67 in adult soft tissue sarcomas. **J. Natl. Cancer Inst.**, **86**: 549, 1994.
- DU BOULAY, C. E. H. - Demonstration of alpha-1-antitrypsin and alpha-1-antichymotrysin in fibrous histiocytomas using the immunoperoxidase technique. **Am. J. Surg. Pathol.**, **6**: 559, 1982.
- ENZINGER, F. M. & WEISS, S. W. - Immunohistochemistry of soft tissue lesions. In: ENZINGER, F. M. & WEISS, S. W, **Soft Tissue Tumors**, St. Louis, Mosby, 139-163, 1995.
- ERLANDSON, R. A. & CORDON-CARDO, C. - Neoplasms of complex or uncertain histogenesis. In: AZAR, H. A. **Pathology of Human Neoplasms**, New York, Raven Press, 533-611, 1988.
- EUSEBI, V.; BONDI, A.; ROSAI, J. - Immunohistochemical localization of myoglobin in nonmuscular cells, **Am. J. Surg. Pathol.**, **8**: 51, 1984.
- FER, M. C.; GRECO, A.; OLDMAN, R. K. - Poorly differentiated neoplasms and tumors of unknown origin: Introduction. **Semin. Oncol.** **9**: 393-395, 1982.

- FU, Y. S. & PERZIN, K. H. - Non epithelial tumors of the nasal cavity, paranasal sinuses, and nasopharynx: a clinicopathologic study VI. Fibrous tissue tumors (fibroma, fibromatosis, fibrosarcoma). **Cancer**, **37**: 2912-2928, 1976.
- GALLO, O.; GRAZIANI, P.; FINI-STORCHI, O. – Undifferentiated carcinoma of the nose and paranasal sinuses. An immunohistochemical and clinical study. **Ear Nose Throat J.**, **72(9)**: 588-90, 593-5, 1993.
- GATTER, K. C.; HERYET, A.; ALCOCK, C.; MASON, D. Y. – Clinical importance of analysing malignant tumors of uncertain origin with immunohistological techniques. **Lancet**, **8**: 1302-5, 1985.
- GATTER, K. C.; HERYET, A.; ALCOCK, C.; PULFORD, K. A.; HEYDERMAN, E.; TATLOR-PAPADIMITRIOU, J.; STEIN, H.; MASON, D. Y. – The differential diagnosis of routinely processed anaplastic tumors using monoclonal antibodies. **Am. J. Clin. Pathol.**, **82**: 33-43, 1984.
- GATTER, K. C. & MASON, D. Y. - The use of monoclonal antibodies for histopathologic diagnosis of human malignancy. **Semin. Oncol.**, **9 (4)**: 517-525, 1982.
- GOODMAN, M. I. & PILCH, B. Z. - Tumors of the respiratory tract. In: FLETCHER, C. D. M. **Diagnosis Histopathology of tumors**. Edinburg, Chirchill Livingstone, 79-126, 1995.
- GOULD, V. E.; WIEDENMANN, B.; LEE, I. - Synaptophysin expression in neuroendocrine neoplasms as determined by immunocytochemistry. **Am. J. Pathol.**, **126**: 243, 1987.
- GOWN, A. M.; BOYD, H. C.; CHANG, Y. - Smooth muscle cells can express cytokeratins of “simple” epithelium. Immunocytochemical and biochemical studies in vitro and in vivo. **Am. J. Pathol.**, **132**: 223, 1988.
- GRAY, M. H.; ROSENBERG, A. E.; DICKERSIN, G. R. - Cytokeratin expression in epithelioid vascular neoplasms. **Human Pathol.**, **21**: 212, 1990.

- GRAY, M. H.; ROSENBERG, A. E.; DICKERSIN, G. R. - Glial fibrillary acidic protein and keratin expression by benign and malignant nerve sheath tumors. **Human Patol.**, **20**: 1089, 1989.
- HEYDERMAN, E.; STEELE, K.; ORMEROD, M. G. - A new antigen on the epithelial membrane: Its immunoperoxidase localization in normal and neoplastic tissues. **J. Clin. Pathol.**, **32**:35, 1979.
- HSU, S. M. & RAINE, L. - The use of avidin-biotin peroxidase in diagnostic and research pathology. In: DE LELLIS, R. A., ed. - **Advances in Immunohistochemistry**, New York, Masson Publishing, 1984, pp. 31-42.
- HSU, S. M.; RAINE, L.; FANGER, H. - Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedure. **J. Histochem. Cytochem.**, **29**: 577-580, 1981.
- HUVOS, A. G. - Salivary Glands. In: STENBERG, S. S., ed. - **Diagnostic surgical pathology**, New York, Raven Press, 807, 1994.
- JONES, R. R.; SPAULL, J.; SPRY, C. - Histogenesis of Kaposi's sarcoma in patients with and without acquired immune deficiency syndrome (AIDS). **J. Clin. Pathol.**, **39**: 742, 1986.
- KAHN, H.; BAUMAL, R.; FROM, L. - Role of immunohistochemistry in the diagnosis of undifferentiated tumors involving the skin. **J. Am. Acad. Dermatol.**, **14**(6): 1063-72, 1986.
- KAMEL, O. W.; ROUSE, R. V.; WARNKE, R. A. - Heterogeneity of epithelial marker expression in routinely processed, poorly differentiated carcinomas. **Arch. Pathol. Lab. Med.**, **115**: 566-70, 1991.
- KINDBLON, L. G.; SEIDAL, T.; KARLSSON, K. - Immunohistochemical localization of myoglobin in human muscle tissue and embryonal and alveolar rhabdomyosarcoma. **Acta Pathol. Microbiol. Scand. (A)**, **90**: 167, 1982.

- KNOWLES, D. M.; TOLIDJIAN, B.; BARBOE, C. - Monoclonal antihuman monocyte antibodies OKMI and OKMS possess distinctive tissue distribution including differential reactivity with vascular endothelium. **J. Immunol.**, **132**: 2170, 1984.
- KÖHLER, G. & MILSTEIN, C. - Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. **Nature**, **256(7)**: 495-7, 1975.
- LEONG, A. S. Y.; DAYMON, M. E.; MILIOS, J. - Microwave irradiation as a form of fixation for light and electron microscopy. **J. Pathol.**, **146** : 313-21, 1985.
- LEONG, A. S. Y. & DUNCIS, C. G. - A method of rapid fixation of large biopsy specimens using microwave irradiation. **Pathology**, **18**:222-5, 1986.
- LEONG, A. S. Y. & WANNAKRAIROT, P. - A retrospective analysis of immunohistochemical staining in identification of poorly differentiated round cell and spindle cells tumors-results, reagents and costs. **Pathology**, **24(4)**: 254-60, 1992.
- LEONG, A. S. Y. & WRIGHT, J. - The contribution of immunohistochemical staining in the tumor diagnosis. **Histopathology**, **11**: 1295-1305, 1987.
- LINDER, J. - Immunohistochemistry in surgical pathology. The case of the undifferentiated malignant neoplasm. **Clin. Lab. Med.**, **10(1)**: 59-76, 1990.
- MACKAY, B. & ORDOÑEZ, N. G. - The role of the pathologist in the evaluation of poorly differentiated tumors. **Semin. Oncol.**, **9**:396-415, 1982.
- MEISTER, P. & NATHRATH, W. - Immunohistochemical characterization of histiocytic tumors. **Diagn. Histopathol.**, **4**: 79, 1981.
- MICHAELS, L. - Neuroectodermal tumors. In: MICHAELS, L., ed. - **Ear, Nose and Throat Histopathology**. Berlin, Springer-Verlag, 89, 1987.
- MICHIE, S. A.; SPAGNOLO, D. V.; DUNN, K. A.; WARNKE, R. A.; ROUSE, R. V. -A panel approach to the evaluation of the sensitivity and specificity of antibodies for the

- diagnosis of routinely processed histologically undifferentiated human neoplasms. **Am. J. Clin. Pathol.**, **88**: 457-62, 1987.
- MIETTINEN, M. - Antibody specific to muscle actins in the diagnosis and classification of soft tissue tumors. **Am. J. Pathol.**, **130**: 205, 1988.
- MIETTINEN, M. - Optimization of immunostaining of intermediate filament proteins in formaldehyde-fixed and paraffin-embedded tissue. **Pathol. Res. Pract.**, **184**: 431, 1989.
- MIETTINEN, M.; LEHTO, V. P.; BADLEY, R. A. - Alveolar rhabdomyosarcoma: demonstration of the muscle type of intermediate filaments protein, desmin as a diagnostic aid. **Am. J. Pathol.**, **108**: 426, 1982.
- MIETTINEN, M.; LINDENMAYER, A. E.; CHAUBAL, A. - Endotelial cell markers CD31, CD34 and BNH9 antibody to H and Y antigens: evaluation of their specificity and sensitivity in the diagnosis of vascular tumors and comparison with von Willebrand factor. **Mod. Pathol.**, **7**: 82, 1994.
- MILROY, C. M.; FERLITO, A. - Immunohistochemical markers in the diagnosis of neuroendocrine neoplasms of the head and neck. **Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.**, **104**: 413-18, 1995.
- MOLL, R.; COWIN, P.; KAPPRELL, H. P.; FRANKE, W. W. - Desmosomal proteins: New markers for identification and classification of tumors. **Lab. Invest.**, **54**: 4, 1986.
- MOLENAAR, W. M.; & MUNTHINGHE, F. L. H. - Expression of neural cell adhesion molecules and neurofilament protein isoforms in Ewing's sarcoma of bone and soft tissue sarcomas other than rhabdomyosarcoma. **Human Pathol.**, **30**: 1207-12, 1999.
- MOMOSE, H.; MEHTA, P.; BATTIFORA, H. - Antigen retrieval by microwave irradiation in lead thiocyanate: comparison with protease digestion retrieval. **Appl. Immunohist.**, **1**: 77, 1993.

- MORAN, C. A.; WICK, M. R.; SUSTER, S. – The role of immunohistochemistry in the diagnosis of malignant mesothelioma. **Semin. Diagn. Pathol.**, **17(3)**: 178-83, 2000.
- MORRISON, C. D. & PRAYSON, R. A. - Immunohistochemistry in the diagnosis of neoplasms of the central nervous system. **Semin. Diagn. Pathol.**, **17(3)**: 204-15, 2000.
- MUKAI, M. - Immunohistochemical localization of S-100 protein and peripheral nerve myelin proteins (P2 protein, P0 protein) in granular cell tumors. **Am. J. Pathol.**, **112**: 139, 1983.
- NADJI, M. & MORALES, A. R. - **Immunoperoxidase techniques: a practical approach to tumor diagnosis**. Chicago, American Society of Clinical Pathologists Press, 1986.
- NAKAJIMA, T.; WATANABE, S.; SATO, Y. - Immunohistochemical demonstration of S-100 protein in malignant melanoma and pigmented nevus and its diagnostic application. **Cancer**, **50**: 912, 1982.
- NAKANE, P. K. & PIERCE, G. B. Jr. - Enzyme-labeled antibodies: Preparation and application for localization of antigen. **J. Histochem. Cytochem.**, **14**: 929-931, 1966.
- NICKOLOFF, B. J. - The human progenitor cell antigen (CD-34) is localized on endothelial cells, dermal dendritic cells, and perifollicular cells in formalin-fixed normal skin, and on proliferating endothelial cells and stromal spindle-shaped cells in Kaposi's sarcoma. **Arch. Dermatol.**, **127**: 523, 1991.
- ORDOÑEZ, N. G. - Desmoplastic small round cell tumor: Um ultrastructural and immunohistochemical study with emphasis on new immunohistochemical markers. **Am. J. Surg. Pathol.**, **22(11)**: 1314-27, 1998.
- ORDOÑEZ, N. G. & BATSAKIS, J. G. - Comparison of *Ulex europaeus* I lectin VIII related antigen in vascular lesions. **Arch. Pathol. Lab. Med.**, **108**: 129, 1984.
- OSBORN, M.; DEBUS, E.; WEBER, K. - Monoclonal antibodies specific for vimentin. **Eur. J. Cell Biol.**, **34**: 137, 1984.

- OSBORN, M.; DIRK, T.; KAESER, H. - Immunohistochemical localization of neurofilaments and neuron-specific enolase, in human nonendocrine tumors and derived cell lines. **Lab. Invest.**, **54**: 554, 1986.
- PARHAM, D. M.; WEBBER, B.; HOLT, H. - Immunohistochemical study of childhood rhabdomyosarcomas and related neoplasms: results of an Intergroup Rhabdomyosarcoma study project. **Cancer**, **67**: 3072, 1991.
- PERENTES, E. & RUBSTEIN, L. J. - Recent applications of immunoperoxidase histochemistry in human neuro-oncology. **Arch. Pathol. Lab. Med.**, **111**: 796, 1987.
- PEROSIO, P. M. & BROOKS, J. J. - Expression of nerve growth factor receptor in paraffin-embedded soft tissues tumors. **Am. J. Pathol.**, **132**: 152, 1988.
- PINKUS, G. S. & KURTIN, P. J. - Epithelial membrane antigen – A diagnostic discriminant in surgical pathology. **Human Pathol.**, **16**: 929-940, 1985.
- PLOTSKY, C.; JAFFE, R.; CURLEY, J.; BLATT, J. - A retrospective review of undifferentiated malignancy in childhood. **Am. J. Pediatr. Hematol. Oncol.**, **12(2)**: 141-6, 1990.
- RAMAEKERS, F. C. S.; PUTS, J. J. G.; MOESKER, O. - Antibodies to intermediate filament protein in the immunohistochemical identification of human tumours: An overview. **Histochem. J.**, **15**: 691, 1983.
- RANGDAENG, S. & TRUONG, L. D. - Comparative immunohistochemical staining for desmin and muscle specific actin: a study of 576 cases. **Am. J. Clin. Pathol.**, **96**: 32, 1991.
- ROBERT, N. J.; GARNICK, M. B.; FREI, E. - Cancers of unknown origin: Current approaches and futures perspectives. **Semin. Oncol.**, **9**: 526-531, 1982.
- ROHOLL, P. J. M.; KLEYNE; VAN UNNIK, J. A. M. - Characterization of tumor cells in malignant fibrous histiocytoomas and other soft tissue tumors, in comparison with

- malignant histiocytes. II. Immunoperoxidase study on crostat sections. **Am. J. Pathol.**, **121**: 269, 1985.
- SCHESTED, M. & HOU-JENSEN, K. - Factor VIII-related antigen as an endothelial cell marker in benign and malignant disease. **Virchows Arch. (Pathol. Anat.)** **391**: 217, 1981
- SCHLINGEMANN, R. O.; DINGJAN, G. M.; EMEIS, J. J. - Monoclonal antibody Pal-E specific for endothelium. **Lab. Invest.**, **52**: 71, 1985.
- SIEGEL, S. – **Estatística não paramétrica (para ciências do comportamento)**. São Paulo, McGraw-Hill, 1975. 350p.
- SLOAN, J. P. & ORMEROD, M. G. - Distribution of epithelial membrane antigen in normal and neoplastic tissues and its value in diagnostic tumor pathology. **Cancer** **47**:1786, 1981.
- SMITH, M. E. F.; COSTA, M. J.; WEISS, S. W. - Evaluation of CD-68 and other histiocytic antigens in angiomatoid malignant fibrous histiocytoma. **Am. J. Surg. Pathol.**, **15**: 757, 1991.
- SCHMITT, F. C.; KIMMID, P. A.; CAMPOS, P. F.; BACCHI, C. E. - Utilidade dos métodos imuno-histoquímicos para o diagnóstico anátomo-patológico. **Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. S. Paulo**, **46(1)**: 26-30, 1991.
- SOINI, Y.; VAHAKANGAS, K.; NUORVA, K. - P 53 immunohistochemistry in malignant fibrous histiocytoma and other mesenchymal tumours. **J. Pathol.**, **168**: 29, 1992.
- STEPHENSON, T. J. & MILLS, P. M. - Monoclonal antibodies to blood group isoantigens: na alternative marker to factor VIII – related antigen for benign and malignant vascular endothelial cells. **J. Pathol.**, **147**: 139, 1985.
- STERNBERGER, L.A. - The unlabeled antibody peroxidase method. In: **Immunocytochemistry**, New York, J. Wiley, 1979, pp. 104-169.

- SUSTER, S. - Recent advances in the application of immunohistochemical markers for the diagnosis of soft tissue tumors. **Semin. Diagn. Pathol.**, **17**(3): 225-35, 2000.
- SZPAK, G. A.; JOHNSTON, W. W.; ROGGLI, V. - The diagnostic distinction between malignant mesothelioma of the pleura and adenocarcinoma of the lung as defined by a monoclonal antibody (B72.3). **Am. J. Pathol.**, **122**: 252, 1986.
- THEAKER, J. M.; GILLET, M. B.; FLEMING, K. A.; GATTER, K. C. - Epithelial membrane antigen expression by meningiomas and the perineurium of the peripheral nerve. **Arch. Pathol. Lab. Med.**, **111**: 409, 1987.
- THOMAS, P.; BATTIFORA, H.; MANDERINO, G. L. - A monoclonal antibody against neuron-specific enolase: immunohistochemical comparison with a polyclonal antiserum. **Am. J. Clin. Pathol.**, **88**: 146, 1987.
- TRICHE, T. - Diagnosis of small round cell tumors of childhood. **Bull. Cancer (Paris)** **75**: 297-310, 1988.
- TSUKADA, T.; TIPPENS, D.; GORDON, D. - HHF35, a muscle-actin-specific monoclonal antibody. I. Immunocytochemical characterization. **Am. J. Pathol.**, **126**: 51, 1987.
- VANSTAPEL, M. J.; GATTER, K. C.; DE WOLF-PEETERS, C. - New sites of human S-100 immunoreactivity detected with monoclonal antibodies. **Am. J. Clin. Pathol.**, **85**: 160, 1986.
- VEGE, D. S.; SOMAN, C. S.; JOSHI, U. A.; GANESH, B.; YADAV, J. N. - Undifferentiated tumors: An immunohistochemical analysis on biopsies. **J. Surg. Oncol.**, **57**(4): 273-6, 1994.
- VIRTANEN, I.; LETHTO, V. P.; LEHTONEN, E. - Expression of intermediate filaments in cultured cells. **J. Cell Sci.**, **50**: 45, 1981.
- WEISS, S. W.; LANGLOSS, J. M.; ENZINGER, F. M. - Value of S-100 protein in the diagnosis of soft tissue tumors with particular reference to benign and malignant schwann cell tumors. **Lab. Invest.**, **49**: 299, 1983.

WEISS, S. W.; LANGLOSS, J. M.; SHMOOKLER, B. S. – Estrogen receptor protein in bone and soft tissue tumors. **Lab. Invest.**, **54**: 689, 1986.

WICK, M. R.; SWANSON, P. E.; SCHEITHAUER, B. W. - Malignant peripheral nerve sheath tumor: an immunohistochemical study of 62 cases. **Am. J. Clin. Pathol.**, **87**: 425, 1987.

10. BIBLIOGRAFIA DE NORMATIZAÇÕES

FERNANDES, F.; LUFT, C. P.; GUIMARÃES, F. M. – Dicionário Brasileiro Globo. 52ª edição. São Paulo, Editora Globo, 1999. 1921p.

CECOTTI, H. M.; SOUSA, D. D. – Manual para normalização de dissertação e tese. Piracicaba, FOP – UNICAMP, 1999. 56p.

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS, UNICAMP. – Normas, procedimentos e orientações para publicação de dissertações e teses. Campinas, Ed. SAD – OF. CIR / PRPG / 06 / 95 – DELIBERAÇÃO CCPG – 001/98 - Normas ABNT, 1997. 8p.

NOMINA ANATOMICA. Trad. Comissão de Nomenclatura da Sociedade Brasileira de Anatomia. 5ª ed., Rio de Janeiro, Medsi, 1984. 110p.

11. ANEXOS

Tabela Distribuição de frequências associando os diagnósticos provisório e definitivo

DIAGNÓSTICO DEFINITIVO	DIAGNÓSTICO PROVISÓRIO								Total Global
	NBF	NBM	NMCR	NME	NMF	NMM	NMP	NMF	
ADENOCARCINOMA				2					2
CARCINOMA NEUROENDÓCRINO			1						1
CARCINOMA POUCO DIFERENCIADO				1					1
CEC			1						1
CEC INDIFERENCIADO			1						1
CEC POUCO DIFERENCIADO			4						4
CEC POUCO INDIFERENCIADO			1						1
FIBROHISTIOCITOMA MALIGNO					1				1
HEMANGIOENDOTELIOMA				1					1
INCONCLUSIVO			5	2				1	8
LEIOMIOMA/MIOFIBROMA	1								1
LINFOMA			3						3
LINFOMA			1						1
LINFOMA ANAPLÁSICO DE GRANDES CÉLULAS						1			1
LINFOMA DE CÉLULAS B			1						1
LINFOMA NÃO HODGKIN			1						1
LINFOMA NÃO HODGKIN DE CÉLULAS B			1						1
LINFOMA PLEOMÓRFICO DE GRANDES CÉLULAS			1						1
MELANOMAXSCHWANOMAXFIBROSARCOMA					1				1
MIOFIBROMA	1								1
MIXOMA		2							2
NEOPLASIA MESENQUIMATOSA CARTILAGINOSA		1							1
SARCOMA EPITELIÓIDE				1					1
SARCOMA FUSOCELULAR					1				1
SARCOMA PLEOMÓRFICO							1		1
SUGEST DE CARCINOMA				1					1
SUGEST DE NEURILEMOMA	1								1
SUGEST DE PARAGANGLIOMA				1					1
SUGESTIVO DE SARCOMA EWING			1						1
Total Global	3	3	22	9	3	1	1	1	43
NBF NEOPLASIA BENIGNA FUSIFORME									
NBM NEOPLASIA BENIGNA MIXÓIDE									
NMCR NEOPLASIA MALIGNA CÉLULAS REDONDAS									
NME NEOPLASIA MALIGNA EPITELIÓIDE									
NMF NEOPLASIA MALIGNA FUSIFORME									
NMM NEOPLASIA MALIGNA MIXÓIDE									
NMP NEOPLASIA MALIGNA PLEOMÓRFICA									
NMF NEOPLASIA MALIGNA FUSIFORME									

TABELA - Distribuição de antígenos comuns em tecidos normais e neoplasias de partes moles

Antígeno	Tecido Normal	Tumores
Actina (HHF-35)	Tecido muscular liso, esquelético e cardíaco. Miofibroblastos Células mioepiteliais	• Tumores musculares lisos, esquelético e cardíaco. • Variedade de tumores e pseudotumores com miofibroblastos ou diferenciação miofibroblástica, não se limitando a fascíte nodular, tecido de granulação, escaras, fibromatose, fibrossarcoma e histiocitoma fibroso maligno
CD-34	Células hematopoiéticas Endotélio Células dendríticas dérmicas e perianexiais Células dendríticas endoneurais	• Dermatofibrossarcoma protuberans • Tumor fibroso solitário • Tumor benigno da bainha de nervos • Sarcoma epitelióide • Tumor do estroma gastrointestinal
Citoqueratina	Epitélio Mesotélio	• Tumores epiteliais, mesotelioma, sarcoma epitelióide, sarcoma sinovial, cordoma, tumor rabdoíde • Raros em sarcomas de diversos tipos: leiomiossarcoma, fibrohistiocitoma maligno, tumor maligno de bainha de nervo periférico, rabdomiossarcoma, tumor desmoplásico de pequenas células em crianças, tumor vascular epitelióide
Desmina	Músculo liso, esquelético e cardíaco	• Tumores de músculo liso, esquelético e cardíaco • Expressão aberrante em raros a ocasionais tumores não musculares, incluindo fibrohistiocitoma angiomatóide, sarcoma de Ewing, lipossarcoma. Fibrohistiocitoma maligno
Antígeno de membrana epitelial	Epitélio Perineuro Células meningoteliais	• Sarcoma sinovial, sarcoma epitelióide, perineurinoma, mesotelioma (variável), neurofibroma (variável), meningioma
Antígeno associado ao fator VIII	Endotélio vascular Endotélio linfático (variável)	• Tumores vasculares benignos, linfangiomas (variável), hemangioendotelioma, angiossarcoma (variável)
Proteína S-100	Células de Schwan, células gliais, Músculo esquelético Condrócitos Lipócitos Células mioepiteliais Subtipos de macrófagos	• Tumores malignos e benignos da bainha de nervos, melanomas, condromas, alguns condrossarcomas, lipomas, alguns lipossarcomas, histiocitose X, elementos de sustentáculos em paragangliomas, neuroblastoma, rabdomioma, alguns rabdomiossarcomas
Vimentina	Muitos tecidos mesenquimais	• Muitos tumores mesenquimais, alguns carcinomas, melanoma

FONTE – ENZINGER & WEISS (1995)

MARCADORES TUMORAIS

