BETINA WERNER

INDICAÇÕES E CONTRIBUIÇÃO DIAGNÓSTICA DA IMUNO-HISTOQUÍMICA EM PATOLOGIA CIRÚRGICA

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre pelo Curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Fernando Bleggi Torres

CURITIBA

2002

BETINA WERNER

INDICAÇÕES E CONTRIBUIÇÃO DIAGNÓSTICA DA IMUNO-HISTOQUÍMICA EM PATOLOGIA CIRÚRGICA

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre pelo Curso de Pós-graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Fernando Bleggi Torres

CURITIBA

2002

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA CIRÚRGICA
NÍVEL MESTRADO - DOUTORADO

PARECER CONJUNTO DA COMISSÃO EXAMINADORA DA AVALIAÇÃO DE TESE/DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluna: ***Betina Werner***

Título da Dissertação: **"INDICAÇÕES E CONTRIBUIÇÃO DIAGNÓSTICA DA IMUNO-HISTOQUÍMICA EM PATOLOGIA CIRÚRGICA"**

CONCEITOS EMITIDOS:

Prof. Dr. João Carlos Domingues Repka	***- Conceito emitido***	A	***Equivalência*** (10)
Prof. Dr. Antonio Sérgio Brenner	***- Conceito emitido***	A	***Equivalência*** (10)
Profª. Drª. Lúcia de Noronha	***- Conceito emitido***	A	***Equivalência*** (10)

Conceito Final de Avaliação: A (10)

Curitiba, 26 de novembro de 2002

Prof. Dr. João Carlos Domingues Repka

Prof. Dr. Antonio Sérgio Brenner

Profª. Drª. Lúcia de Noronha

AGRADECIMENTOS

Ao PROF. DR. LUIZ FERNANDO BLEGGI TORRES pela revisão e orientação na realização desta Dissertação de Mestrado, e por todo o apoio e todos os conselhos de tutor e amigo ao longo da minha formação acadêmica.

Ao DR. MEHDAD NADJI pelos ensinamentos em patologia, em imuno-histoquímica e de vida, e também pela gentil autorização para a utilização dos dados da Unidade de Imuno-histoquímica do Jackson Memorial Hospital neste trabalho.

Ao DR. JOSÉ FILLUS NETO, SRA. ZAIDA TORRES FILLUS e DR. NIZAN PEREIRA por toda a credibilidade, força, apoio, estímulo e amizade.

Ao meu pai, PROF. DR. PEDRO RIBAS WERNER, por todos os ensinamentos e conselhos desde o dia que nasci e por todas as sugestões, digitalizações, correções, formatações, revisões, configurações, paginações e tabulações necessárias para a elaboração desta dissertação.

A CARLOS SCHNER pela ajuda nas referências bibliográficas e ilustrações, e também pela paciência e compreensão.

Ao PROF. DR. ANTONIO CARLOS L. CAMPOS pelo apoio e revisão desta dissertação.

À minha mãe, MARIDALVA ULTRAMARI WERNER, e irmã, JULIANA WERNER, pelos diferentes modos de contribuição ("o essencial é invisível aos olhos...").

Begin in the beginning, go on until you get to the end, then stop.

Conselho do Rei para Alice, nas suas aventuras no
País das Maravilhas - Lewis Carrol (1832-1898)

SUMÁRIO

SUMÁRIO iv
LISTA DE ILUSTRAÇÕES vi
LISTA DE FIGURAS vi
LISTA DE GRÁFICOS vi
LISTA DE TABELAS vii
RESUMO viii
ABSTRACT ix
1 INTRODUÇÃO 1
2 OBJETIVOS 3
3 REVISÃO DA LITERATURA 4
3.1 História da imuno-histoquímica 4
3.2 Princípios da imunologia 5
3.3 Métodos imunoenzimáticos 6
3.3.1 Método peroxidase-antiperoxidase (PAP) 7
3.3.2 Método avidina-biotina-peroxidase (ABC) 9
3.3.3 Outros métodos imunoenzimáticos 9
3.4 Aspectos técnicos e particularidades da imuno-histoquímica 11
3.4.1 Tecidos fixados em formol e incluídos em parafina 11
3.4.2 Tecidos congelados 12
3.4.3 Inibição da atividade da peroxidase endógena 13
3.4.4 Redução da coloração inespecífica do "fundo" 13
3.4.5 Recuperação antigênica 13
3.4.6 Controles positivos 14
3.4.7 Anticorpos 15
3.5 Anticorpos mais utilizados em imuno-histoquímica para o diagnóstico diferencial de lesões neoplásicas e pseudoneoplásicas 16
3.5.1 Filamentos intermediários 17
3.5.2 Marcadores epiteliais 18
3.5.3 Marcadores neuroendócrinos 18
3.4.4 Marcadores epiteliais específicos para determinados tecidos 18
3.5.5 Marcadores de células germinativas 19
3.5.6 Marcadores vasculares 19
3.5.7 Marcadores de melanoma 20
3.5.8 Marcadores de sarcomas 20
3.5.9 Marcadores de proliferação celular 21
3.5.10 Anticorpos úteis para o diagnóstico de neoplasias hemato-linfóides 21
4 MATERIAL E MÉTODO 24
4.1 Material 24
4.2 Método 24
4.2.1 Procedimento imuno-histoquímico 24
4.2.2 Compilação dos dados 26
4.2.3 Avaliação dos casos 26
5 RESULTADOS 28
5.1 Resultados gerais 28
5.2 Motivo de indicação para o exame imuno-histoquímico 30

5.2.1 Determinação de fatores prognósticos ou índices proliferativos 30
5.2.2 Identificação de microrganismos, células, estruturas ou materiais 31
5.2.3 Definição diagnóstica 31
5.3 Análise dos casos da categoria "diagnóstico diferencial" 32
5.3.1 Resultados qualitativos 33
5.3.2 Resultados quantitativos 38
Locais de biópsia ou órgão de origem 38
Avaliação dos anticorpos 39
Grau de auxílio da imuno-histoquímica no diagnóstico diferencial 39
Dilemas de diagnóstico diferencial para os quais a imuno-histoquímica foi indicada 40
5.4 Avaliação dos casos de citologia 42
6 DISCUSSÃO 43
6.1 Considerações gerais 43
6.2 Delineamento da pesquisa 44
6.3 Contribuição da imuno-histoquímica na solução de problemas de diagnósticos diferenciais em patologia cirúrgica 45
6.4 Situações em que a imuno-histoquímica não contribui na solução de problemas de diagnósticos diferenciais em patologia cirúrgica 49
6.5 Escolha dos anticorpos e interpretação dos resultados da imuno-histoquímica 50
6.6 Aplicação diagnóstica direcionada da imuno-histoquímica 52
6.7 Imunocitoquímica 55
6.8 Controle de qualidade em imuno-histoquímica 57
6.9 Indicação do exame imuno-histoquímico e a relação custo/benefício 60
7 CONCLUSÕES 62
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 63
ANEXOS 68
ANEXO 1 - CARTA DE AUTORIZAÇÃO DO DOUTOR MEHDAD NADJI, CHEFE DA UNIDADE DE IMUNO-HISTOQUÍMICA DO JACKSON MEMORIAL HOSPITAL, MIAMI, ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA, PARA UTILIZAÇÃO DOS DADOS NA PRESENTE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO 68
ANEXO 2 – 835 CASOS AVALIADOS QUANTO AO GRAU DE AUXÍLIO DA IMUNO-HISTOQUÍMICA NA DECISÃO ENTRE DIAGNÓSTICOS DIFERENCIAIS FORMULADOS NAS LÂMINAS CORADAS EM H.E. 69
ANEXO 3 – LISTA DE ANTICORPOS UTILIZADOS PELA UNIDADE DE IMUNO-HISTOQUÍMICA DO JACKSON MEMORIAL HOSPITAL NO ANO DE 1999 COM AS ESPECÍFICAS ABREVIAÇÕES E FONTES COMERCIAIS 70

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE UMA MOLÉCULA DE IMUNOGLOBULINA.....5
FIGURA 2 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO MÉTODO PEROXIDASE ANTIPEROXIDASE.....8
FIGURA 3 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO COMPLEXO ANTÍGENO-ANTICORPO-AVIDINA-BIOTINA-PEROXIDASE.....9
FIGURA 4 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO COMPLEXO ANTÍGENO-ANTICORPO-FOSFATASE ALCALINA ANTI-FOSFATASE ALCALINA.....10
FIGURA 5 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE ANTICORPOS POLICLONAIS LIGANDO-SE A DIVERSOS EPITOPOS DO ANTÍGENO.....15
FIGURA 6 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE ANTICORPOS MONOCLONAIS LIGANDO-SE A UM EPITOPO EPECÍFICO DO ANTÍGENO.....16
FIGURA 7 – DEMONSTRAÇÃO DOS RESULTADOS EM FORMATO DE ORGANOGRAMA PARA EXPLICAÇÃO DA MANEIRA PELA QUAL OS DADOS FORAM CLASSIFICADOS, ANALISADOS E QUANTIFICADOS.....29
FIGURA 8 – CLASSIFICAÇÃO DAS NEOPLASIAS POUCO DIFERENCIADAS OU INDIFERENCIADAS QUANTO AO TAMANHO DAS CÉLULAS E PROVÁVEL DIAGNÓSTICO.....33
FIGURA 9 – NEOPLASIA POUCO DIFERENCIADA DE CÉLULAS GRANDES: CARCINOMA NASOFARÍNGEO (H.E., 100X).....34
FIGURA 10 – NEOPLASIA POUCO DIFERENCIADA DE CÉLULAS GRANDES: CARCINOMA NASOFARÍNGEO (QUERATINA, 100X).....34
FIGURA 11 – ADENOCARCINOMA EM OVÁRIO: METÁSTASE DE ADENOCARCINOMA DE CÓLON (H.E., 100X).....36
FIGURA 12 – ADENOCARCINOMA EM OVÁRIO: METÁSTASE DE ADENOCARCINOMA DE CÓLON (CK20, 100X).....37
FIGURA 13 – ADENOCARCINOMA EM OVÁRIO: METÁSTASE DE ADENOCARCINOMA DE CÓLON (CK7, 100X).....37

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – RESULTADOS QUANTO AO MOTIVO DE INDICAÇÃO PARA O EXAME IMUNO-HISTOQUÍMICO.....30
GRÁFICO 2 – RESULTADOS DA ANÁLISE DOS CASOS DA CATEGORIA "DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL".....39
GRÁFICO 3 – MOTIVOS PELOS QUAIS A IMUNO-HISTOQUÍMICA NÃO AUXILIOU NA DECISÃO DIAGNÓSTICA FINAL.....39
GRÁFICO 4 – PROBLEMAS DE DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL PARA OS QUAIS A IMUNO-HISTOQUÍMICA FOI INDICADA EM 796 CASOS.....41
GRÁFICO 5 – PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS ENCONTRADAS NA PESQUISA ATRAVÉS DO MEDLINE, ENTRE 1960 E 2002, AONDE O TERMO IMUNO-HISTOQUÍMICA APARECE NO TÍTULO OU RESUMO DOS TRABALHOS, E SE LIMITANDO A ESTUDOS QUE FORAM REALIZADOS EM HUMANOS.....43

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – CASOS EM QUE A IMUNO-HISTOQUÍMICA FOI UTILIZADA PARA DETERMINAÇÃO DE FATORES PROGNÓSTICOS OU ÍNDICES PROLIFERATIVOS.....31
TABELA 2 – CASOS EM QUE A IMUNO-HISTOQUÍMICA FOI UTILIZADA PARA IDENTIFICAÇÃO DE MICRORGANISMOS, CÉLULAS, ESTRUTURAS OU MATERIAIS.....31
TABELA 3 – CASOS EM QUE A IMUNO-HISTOQUÍMICA FOI UTILIZADA PARA DEFINIÇÃO DIAGNÓSTICA: CATEGORIA "CONFIRMATÓRIA".....32
TABELA 4 – CASOS EM QUE A IMUNO-HISTOQUÍMICA FOI UTILIZADA PARA DEFINIÇÃO DIAGNÓSTICA: CATEGORIA "MISCELÂNIA".....32
TABELA 5 – PAINEL BÁSICO DE ANTICORPOS UTILIZADOS PARA DIFERENCIAÇÃO DE NEOPLASIAS MALIGNAS INDIFERENCIADAS DE CÉLULAS GRANDES.....33
TABELA 6 – PAINEL BÁSICO DE ANTICORPOS UTILIZADOS PARA DIFERENCIAÇÃO DE ALGUMAS NEOPLASIAS MALIGNAS INDIFERENCIADAS DE CÉLULAS PEQUENAS.....35
TABELA 7 – PAINEL BÁSICO DE ANTICORPOS UTILIZADOS PARA DIFERENCIAÇÃO DE ALGUMAS NEOPLASIAS MALIGNAS INDIFERENCIADAS DE CÉLULAS FUSIFORMES.....35
TABELA 8 – PAINEL DE ANTICORPOS QUE PODE SER UTILIZADO PARA DIFERENCIAÇÃO DE CARCINOMAS EM FÍGADO.....36
TABELA 9 – PAINEL DE ANTICORPOS QUE PODE SER UTILIZADO PARA DIFERENCIAÇÃO DE ALGUNS PROCESSOS LINFOPROLIFERATIVOS..... 38
TABELA 10 – PAINEL DE ANTICORPOS QUE PODE SER UTILIZADO PARA DIFERENCIAÇÃO ENTRE HIPERPLASIA MESOTELIAL REACIONAL, MESOTELIOMA E ADENOCARCINOMA.....38
TABELA 11 – REAÇÕES IMUNO-CITOQUÍMICAS REALIZADAS EM CITOLOGIAS OBTIDAS POR PUNÇÕES ASPIRATIVAS POR AGULHA FINA.....42

RESUMO

Apresenta-se a avaliação retrospectiva de 4459 casos submetidos a análise imuno-histoquímica na Unidade de Imuno-histoquímica do Jackson Memorial Hospital, Miami, EUA, no ano de 1999. Em 3706 casos foi possível a obtenção do mínimo de dados necessários para a realização do presente estudo. Foram avaliados o local da biópsia, o diagnóstico suspeito nas lâminas coradas em hematoxilina e eosina (H.E.), os resultados imuno-histoquímicos e o diagnóstico final. Quanto ao motivo para indicação do exame imuno-histoquímico, em 699 casos (19%), a imuno-histoquímica foi utilizada para determinar fatores prognósticos ou índices proliferativos; sendo que o carcinoma de mama foi o principal componente deste grupo, com 93,2% dos casos. Em 644 casos (17%), a imuno-histoquímica teve como objetivo identificar microrganismos, células, estruturas ou materiais, e a identificação de vírus foi a indicação mais comum, com 78% dos casos. No restante dos casos (2363 – 64%), a imuno-histoquímica teve aplicação diagnóstica propriamente dita. Destes, 835 foram avaliados por um mesmo patologista e a imuno-histoquímica contribuiu para um diagnóstico específico em 83% das vezes e diminuiu o número de diagnósticos diferenciais em 12% dos casos. Somente em 5% das vezes a imuno-histoquímica não auxiliou o patologista no diagnóstico final, principalmente devido à extrema indiferenciação de algumas neoplasias, à presença de necrose extensa e à exigüidade da amostra. Em média, foram usados 4,1 anticorpos por caso. O fígado foi o local de biópsia mais comum. Os principais problemas de diagnóstico diferencial para os quais a imuno-histoquímica foi utilizada foram determinar o local de origem de carcinomas e adenocarcinomas (30% dos casos), diferenciar entre hiperplasia mesotelial reacional, mesotelioma e adenocarcinoma (11% dos casos) e esclarecer a origem de neoplasias indiferenciadas malignas, a partir de três ou mais diagnósticos (9% dos casos).

ABSTRACT

A retrospective study of the 4,459 cases sent for immunoperoxidase study at the Immunohistochemistry Unit of Jackson Memorial Hospital, Miami, USA, in 1999 is presented. The immunohistochemistry reports of 3,706 cases were properly filled up for the purposes of this study (site of biopsy, suspected diagnosis on haematoxylin and eosin (H&E), antibodies used and final conclusion). In 699 cases (19%) the immunohistochemistry was used to determine prognosis or predict tumor behaviour; breast carcinoma was the most prevalent of that group with 93.2% of cases. Immunohistochemistry was indicated to identify organisms, structures or materials in 644 cases (17%) and in 78% of times immunohistochemistry was used for virus identification. In 2,363 (64%) immunohistochemistry had the purpose of helping out the pathologist in differential diagnosis of tumors. Eight-hundred and thirty five cases were signed out by the same pathologist. In those cases, immunohistochemistry contributed for a specific diagnosis in the great majority of them, or 83%. In 12% immunohistochemistry narrowed down the number of differential diagnosis that was brought up in the H&E slides. Only in 5% of cases immunohistochemistry had no use for the final diagnosis. The main reasons for the lack of contribution of immunohistochemistry were extreme undifferentiation of certain neoplasms, extensive necrosis and size of biopsy specimen. Immunohistochemistry was used in several differential diagnosis settings. The average number of antibodies used per case was 4.1 and liver was the most common site of biopsy. The most important one was to determine the site of origin of carcinomas and adenocarcinomas, in 30% of cases, followed by the differentiation between reactive mesothelial hyperplasia, mesothelioma and adenocarcinoma, in 11% of times. To demonstrate the origin of highly undifferentiated neoplasms was another common indication of immunohistochemistry (9% of cases).

1 INTRODUÇÃO

Imuno-histoquímica é a aplicação dos princípios imunológicos da ligação antígeno-anticorpo para o estudo de células e tecidos. O método consiste da utilização de anticorpos específicos previamente conhecidos e manipulados quimicamente para que, ao se ligarem aos seus antígenos tissulares ou celulares correspondentes, devido a diversas reações e utilização de cromógenos, produzam uma alteração de cor visível ao microscópio óptico, indicando a localização do antígeno em estudo.

A imuno-histoquímica surgiu com as pesquisas em imunopatologia que começaram na década de quarenta. Só a partir de 1974, quando foi possível demonstrar alguns antígenos tissulares pela técnica de imunoperoxidase em tecidos fixados em formalina e incluídos em parafina, é que a imuno-histoquímica foi aceita como um método simples e prático na rotina diagnóstica de patologia cirúrgica [LEONG e WRIGHT (1987), SWANSON (1988) e TAYLOR e COTE (1994)]. O desenvolvimento de anticorpos monoclonais, que propiciaram uma ilimitada fonte de reagentes altamente específicos para a demonstração de vários antígenos tissulares ou celulares, foi outro marcante fato na evolução da imuno-histoquímica. Houve tal avanço na contribuição e na aplicação da imuno-histoquímica na patologia cirúrgica que o fenômeno passou a ser conhecido como "a revolução marrom do laboratório de histopatologia" [LEONG e WRIGHT (1987)].

As reações imuno-histoquímicas podem ser utilizadas nas mais diferentes situações dentro de um laboratório de patologia cirúrgica. As mais importantes são: 1) elucidação do tecido de origem de uma neoplasia indiferenciada; 2) determinação do órgão de origem de uma neoplasia diferenciada; 3) sub-classificação de linfomas; 4) pesquisa de fatores prognósticos, terapêuticos e índices proliferativos de algumas neoplasias; e 5) identificação de estruturas, organismos e materiais secretados pelas células [LEONG e WRIGHT (1987), TAYLOR e COTE (1994), ROSAI (1996), ALVES, BACCHI e VASSALLO (1999), WERNER et al. (2000)].

Apesar de ser um método relativamente simples, a imuno-histoquímica tem certas particularidades e seu resultado é influenciado por diversos fatores, começando pela fixação do espécime, passando pela escolha dos anticorpos a serem analisados em

cada caso e pelas reações propriamente ditas, e chegando até a interpretação das lâminas. Ou seja, o grau de utilidade e contribuição da imuno-histoquímica para resolução de problemas em patologia cirúrgica é diretamente proporcional à experiência das mãos que realizam as reações e dos olhos que interpretam os resultados [LEONG e WRIGHT (1987), TAYLOR e COTE (1994), ROSAI (1996), ALVES, BACCHI e VASSALLO (1999), WERNER et al. (2000)].

Diante do exposto, propõe-se um estudo retrospectivo observacional e descritivo dos resultados das reações imuno-histoquímicas realizadas na Unidade de imuno-histoquímica do Jackson Memorial Hospital, Miami, Estados Unidos da América, no ano de 1999, com intenção de analisar as principais indicações e a contribuição diagnóstica da imuno-histoquímica em patologia cirúrgica.

2 OBJETIVOS

Utilizando-se os exames de imuno-histoquímica realizados no ano de 1999 no Departamento de Patologia do Jackson Memorial Hospital, Universidade de Miami, Estados Unidos, propõe-se:

- analisar a freqüência de casos quanto ao sítio de origem da amostra colhida e o número de anticorpos utilizados em cada caso;
- avaliar o motivo para indicação do exame imuno-histoquímico;
- analisar o grau de auxílio da imuno-histoquímica para o diagnóstico diferencial de neoplasias e lesões pseudoneoplásicas;
- determinar os fatores que influenciam de maneira negativa o grau de auxílio da imuno-histoquímica para o diagnóstico diferencial de neoplasias e lesões pseudoneoplásicas;
- determinar os principais dilemas de diagnóstico diferencial para os quais a imuno-histoquímica é indicada.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 História da imuno-histoquímica

Os primeiros compostos ligados a anticorpos a serem utilizados com o propósito diagnóstico foram os compostos fluorescentes pesquisados por Coons e colaboradores em 1941 [LEONG e WRIGHT (1987), SWANSON (1988), TAYLOR e COTE (1994) e ROSAI (1996)]. Estes compostos, quando excitados pela luz ultravioleta, emitem diferentes cores, como por exemplo, verde no caso do isotiocianato ou vermelho no caso da rodamina, e as reações onde os antígenos tissulares ou celulares estão presentes são visualizadas por microscópio óptico em campo escuro. O uso destes compostos na rotina cirúrgica é limitado pelo fato das reações necessitarem de tecido fresco ou congelado, pela falta de detalhes morfológicos na análise dos tecidos e pela efemeridade das colorações.

O sucesso da imunofluorescência em patologia de pesquisa criou uma necessidade urgente por um método de marcação antigênica alternativa que pudesse ser aplicado à patologia cirúrgica diagnóstica. Depois de vários anos de pesquisa chegou-se à conclusão que técnicas imunoenzimáticas, ou seja, as que utilizam anticorpos ligados a enzimas ao invés de compostos fluorescentes eram as mais promissoras. Os complexos "enzima-anticorpo" retêm as suas propriedades imunológicas e enzimáticas, e são capazes de, ao mesmo tempo, ligarem-se especificamente ao antígeno pesquisado e mudar a cor de um cromógeno apropriado. Vários sistemas enzimáticos foram pesquisados, incluindo peroxidase, glicose oxigenase e fosfatase alcalina [LEONG e WRIGHT (1987), SWANSON (1988), TAYLOR e COTE (1994) e ROSAI (1996)].

O passo crucial para a ampla utilização dos métodos imunoenzimáticos foi dado em 1974 quando foi possível estudar alguns antígenos utilizando-se a técnica de imunoperoxidase em tecidos fixados em formalina e incluídos em parafina [LEONG e WRIGHT (1987), SWANSON (1988), TAYLOR e COTE (1994) e ROSAI (1996)]. Devido à sua versatilidade, sensibilidade e especificidade, a imuno-histoquímica utilizando técnicas imunoenzimáticas é amplamente consagrada como a melhor "coloração especial" disponível num laboratório de anatomia patológica [LEONG e

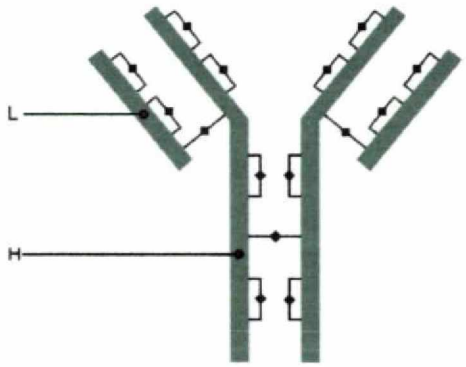
WRIGHT (1987), SWANSON (1988), SCHMITT et al. (1991), TAYLOR e COTE (1994), ROSAI (1996), TORRES et al. (1998), ALVES, BACCHI e VASSALLO (1999), WERNER et al. (2000), TAYLOR (2000), RAAB (2000), HSI (2001)]. Hoje em dia, a imuno-histoquímica deixou de ser encarada como "técnica de ponta" ou "método avançado" no diagnóstico de neoplasias de difícil solução na coloração de hematoxilina e eosina (H.E.), e passou a ser vista como mais uma coloração auxiliar em patologia cirúrgica.

3.2 Princípios da imunologia

Anticorpo é uma molécula que tem a propriedade de combinar-se especificamente a uma segunda molécula, chamada de antígeno. Além disso, a produção de um anticorpo em um animal é induzida especificamente pela presença de um antígeno e esta é a base da resposta imunológica [LEONG e WRIGHT (1987), SWANSON (1988), TAYLOR e COTE (1994)].

Os anticorpos são moléculas de imunoglobulinas que consistem de duas unidades básicas: um par de cadeias leves (κ ou λ) e um par de cadeias pesadas (α, γ, μ, δ ou ε) ligadas entre si por ligações de dissulfídios. O sítio de ligação do antígeno na molécula de imunoglobulina é chamado de idiotopo e é formado pelas terminações "N" de uma cadeia leve e de uma cadeia pesada. A variação na composição dos aminoácidos destas regiões é o que fornece a variabilidade e a especificidade das moléculas de imunoglobulinas (figura 1) [SWANSON (1988), TAYLOR e COTE (1994)].

FIGURA 1 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE UMA MOLÉCULA DE IMUNOGLOBULINA



Legenda: (L) cadeia leve, (H) cadeia pesada
FONTE: BOENISH (2001)

Antígeno é qualquer tipo de molécula suficientemente complexa que possui uma estrutura tridimensional relativamente rígida e que seja estranha ao organismo no qual é introduzido. Um antígeno pode ter uma ou mais regiões que induzam a formação de anticorpos. Estas regiões são chamadas de epitopos e são elas que se ligam aos idiotopos dos anticorpos [SWANSON (1988), TAYLOR e COTE (1994)].

As moléculas de imunoglobulinas são suficientemente complexas para elas mesmas servirem de antígenos quando introduzidas em um organismo. A imunoglobulina pode servir tanto de anticorpo, ligando-se especificamente a antígenos tissulares ou celulares, como antígeno, sendo sítio de ligação para outros anticorpos. Nas reações imuno-histoquímicas, chama-se de anticorpo primário aquele que se liga diretamente ao antígeno pesquisado, anticorpo secundário ao anticorpo que se liga ao anticorpo primário, e assim sucessivamente. Estas formas de ligação entre anticorpos e antígenos são amplamente exploradas pelas técnicas imuno-histológicas, e elas são os princípios da grande especificidade e versatilidade do método [SWANSON (1988), TAYLOR e COTE (1994)].

Além da especificidade das ligações, há grande afinidade entre as moléculas de anticorpos e antígenos, fazendo com que as ligações sejam estáveis e duradouras. Tanta especificidade e afinidade permitem que os anticorpos sejam utilizados como sondas para detecção de antígenos localizados em tecidos ou preparações celulares. Contudo, os anticorpos não podem ser visualizados por microscopia óptica ou eletrônica a não ser que estejam marcados de alguma maneira que permita a sua visualização. Existem inúmeras maneiras de se marcar o anticorpo para esta finalidade. Uma delas é a marcação de anticorpos com compostos fluorescentes, como explicado anteriormente. Outra forma é a utilização de ouro ou mercúrio para marcar os anticorpos e visualizá-los com a utilização de microscopia eletrônica. A terceira e mais importante forma é a marcação de anticorpos com enzimas, que na presença de um sistema de substratos adequado, induz a formação de um produto colorido, detectável pelo olho humano ao microscópio óptico [SWANSON (1988), TAYLOR e COTE (1994)].

3.3 Métodos imunoenzimáticos

Os métodos imunoenzimáticos, ou "técnicas imuno-histoquímicas" como são mais conhecidos na prática de patologia cirúrgica, baseiam-se na ligação de uma enzima

ativa a um anticorpo específico, utilizando-se a atividade enzimática da enzima para produzir uma mudança de coloração de um substrato nos locais onde o complexo anticorpo-enzima está localizado no tecido. Com a produção de uma cor a localização da ligação do anticorpo ao antígeno tecidual ou celular pesquisado pode ser visível [SWANSON (1988), TAYLOR e COTE (1994), ALVES, BACCHI e VASSALLO (1999) e BOENISH (2001)].

Existe um grande número de técnicas imuno-histoquímicas [SWANSON (1988), TAYLOR e COTE (1994), ALVES, BACCHI e VASSALLO (1999) e BOENISH (2001)]. Isto se deve a variações quanto ao número de anticorpos aplicados nos métodos, aos tipos de enzimas utilizadas e aos tipos de substâncias não-imunológicas introduzidas nas reações. Quanto ao número de anticorpos aplicados nos métodos, eles podem ser métodos diretos ou indiretos.

Método direto – este é o método mais simples de todos, no qual o complexo anticorpo-enzima primário é introduzido diretamente sobre o tecido ou preparado citológico em estudo. Com a adição do substrato para a enzima, os locais aos quais os conjugados se ligaram são revelados. Apesar de serem extremamente rápidos, estes métodos são pouco específicos e têm difícil controle da qualidade das reações [TAYLOR e COTE (1994)].

Método indireto – neste método, o tecido ou preparado citológico em estudo é incubado com um anticorpo primário, é lavado, e em seguida é aplicado um conjugado anticorpo-enzima, cujo anticorpo tem especificidade contra o anticorpo primário. Todos os sistemas de detecção mais comumente aplicados são baseados em variações dos métodos indiretos, como será comentado adiante [TAYLOR e COTE (1994)].

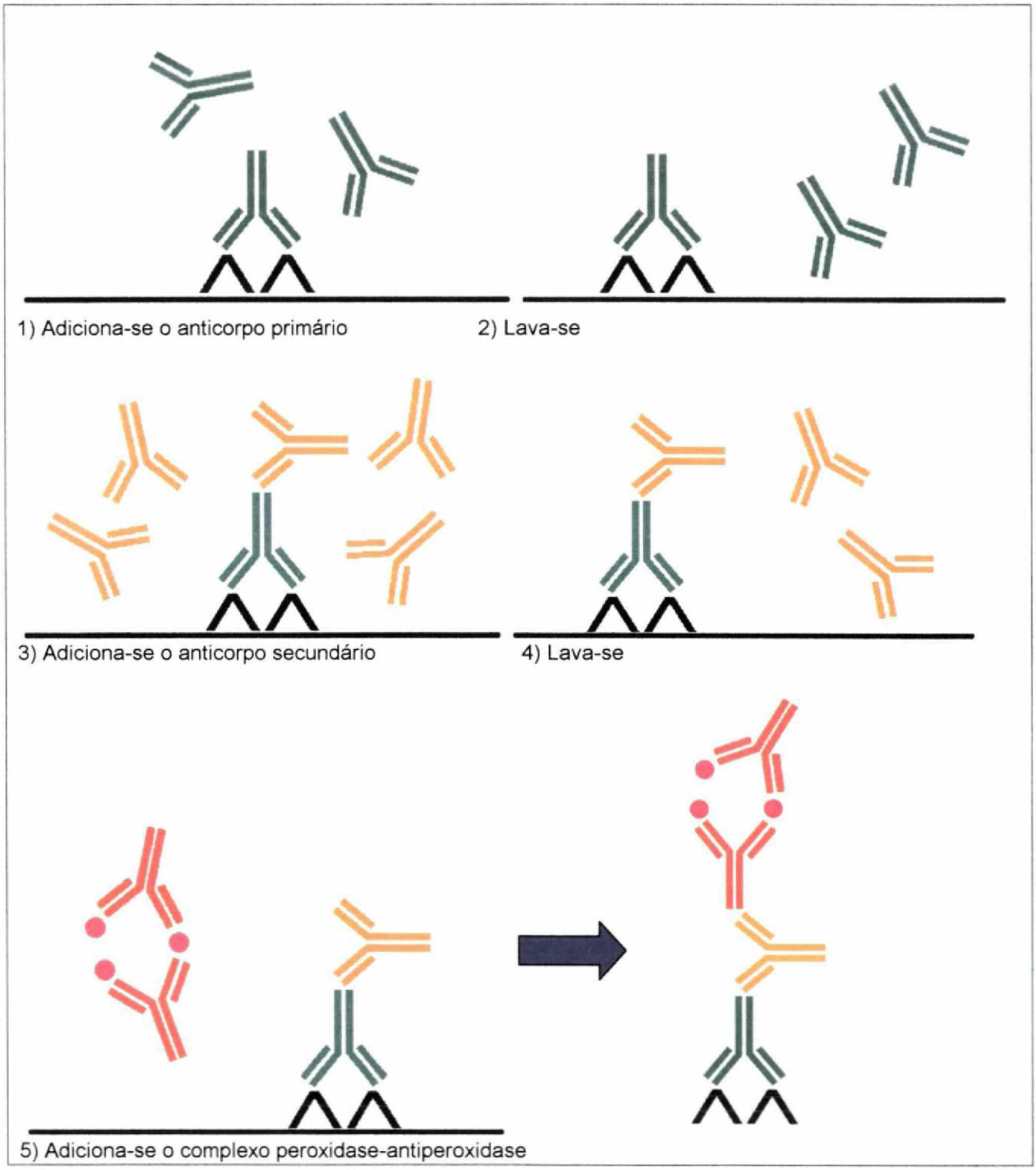
Os métodos imunoenzimáticos mais comumente utilizadas em nosso meio são: método de imunocomplexo do tipo peroxidase-antiperoxidase e técnica imunoenzimática avidina-biotina [SWANSON (1988), TAYLOR e COTE (1994), ALVES, BACCHI e VASSALLO (1999) e BOENISH (2001)].

3.3.1 Método peroxidase-antiperoxidase (PAP)

Este método consiste na aplicação de um anticorpo secundário que se liga tanto ao anticorpo primário como a um imunocomplexo do tipo enzima-anticorpo, no caso, peroxidase-antiperoxidase. O segundo anticorpo age como uma ponte entre o primeiro

anticorpo e o complexo peroxidase-antiperoxidase; são utilizados três moléculas de antígeno (peroxidase) que se ligam a duas moléculas de anticorpo (figura 2) [TAYLOR e COTE (1994)].

FIGURA 2 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO MÉTODO PEROXIDASE ANTI-PEROXIDASE

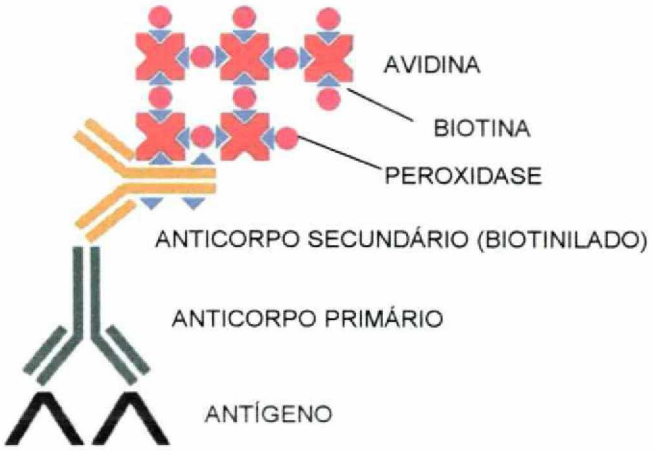


FONTE: Adaptado de TAYLOR, C. R.; COTE, R. J. **Major Problems in Pathology**. 2. ed. Nova Iorque: W.B. Saunders Company, 1994. v. 19: Immunomicroscopy: a diagnostic tool for the surgical pathologist.

3.3.2 Método avidina-biotina-peroxidase (ABC)

A avidina é uma glicoproteína básica com quatro sítios de ligação com alta afinidade pela biotina, um tipo de vitamina, e qualquer uma das duas podem ser conjugadas à enzima peroxidase para serem utilizadas em reações imuno-histoquímicas. Um anticorpo biotinilado (isto é, conjugado com biotina) serve como ponte entre o anticorpo primário (aquele que se liga diretamente ao antígeno) e o complexo enzimático avidina-biotina-peroxidase. Neste caso, usufrui-se da intensa afinidade da biotina pela avidina, que é muito mais forte que a afinidade do anticorpo pelo antígeno e que produz uma reação praticamente irreversível, para que o anticorpo marcado ligue-se com alta sensibilidade ao antígeno correspondente (figura 3) [TAYLOR e COTE (1994)].

FIGURA 3 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO COMPLEXO ANTÍGENO-ANTICORPO- AVIDINA-BIOTINA-PEROXIDASE



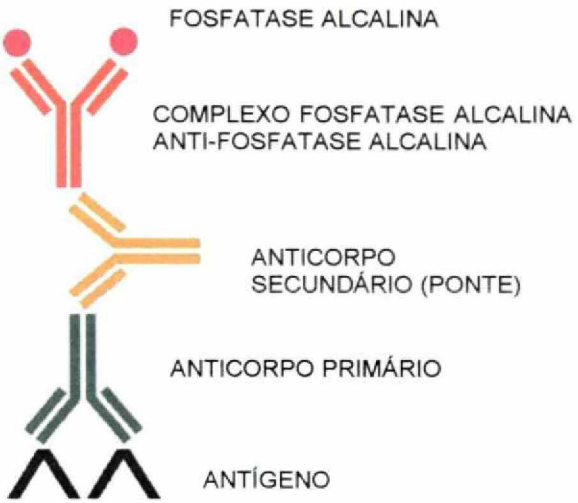
FONTE BOENISH (2001)

3.3.3 Outros métodos imunoenzimáticos

Método fosfatase alcalina anti-fosfatase alcalina (APAAP) – tecnicamente, este método é muito parecido ao peroxidase-antiperoxidase; a diferença é no complexo enzimático empregado. Este método é particularmente útil quando se trata de tecidos ou preparados citológicos com alta concentração de peroxidase endógena (comentada adiante), como medula óssea e tecido linfóide. Ele também é usado quando se realiza

dupla marcação imunoenzimática num mesmo tecido ou preparado citológico. Um antígeno é pesquisado com o método peroxidase-antiperoxidase que usa um substrato de coloração marrom, e o outro antígeno é pesquisado com o método fosfatase alcalina anti-fosfatase alcalina que usa um substrato de cor vermelha. Outra diferença em relação ao método peroxidase-antiperoxidase é que no método fosfatase alcalina anti-fosfatase alcalina são utilizados duas moléculas de enzima (fosfatase alcalina) e um anticorpo. Este tipo de ligação é muito semelhante ao normalmente encontrado em anticorpos bivalentes e faz com que os complexos fosfatase alcalina anti-fosfatase alcalina possam ser arquivados por prolongados períodos [TAYLOR e COTE (1994)].

FIGURA 4 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO COMPLEXO ANTÍGENO-ANTICORPO-FOSFATASE ALCALINA ANTI-FOSFATASE ALCALINA (APAAP)



FONTE: BOENISH (2001)

Método da proteína A – a proteína A faz parte da parede celular da maioria das sepas de *Staphylococcus aureus*. Esta proteína tem alta afinidade por imunoglobulinas de diversas espécies mamárias, como o homem, coelho e camundongo e isto permite que a proteína A seja utilizada de diversas maneiras nas técnicas imunoenzimáticas. Uma delas é introduzir um conjugado da proteína A com peroxidase ou fosfatase alcalina sobre um tecido ou preparado citológico em estudo após a aplicação do anticorpo primário, que geralmente é uma imunoglobulina de coelho ou camundongo [TAYLOR e COTE (1994)].

Método estreptavidina-biotina – neste caso, a avidina é substituída pela estreptavidina, glicoproteína análoga à avidina que é isolada da bactéria *Streptomyces*

avidinii. Como a avidina, a estreptavidina tem alta afinidade pela biotina, e as reações imunoenzimáticas que usam esta proteína têm grande sensibilidade e especificidade na detecção dos sítios de ligação dos anticorpos, com menor coloração inespecífica, quando comparado ao método avidina-biotina. Tanto a enzima peroxidase como a fosfatase alcalina podem ser usadas como conjugados [TAYLOR e COTE (1994)].

3.4 Aspectos técnicos e particularidades da imuno-histoquímica

Para que as reações imuno-histoquímicas forneçam resultados de qualidade e que auxiliem o patologista na decisão diagnóstica, vários cuidados devem ser tomados desde a obtenção do espécime até as reações imuno-histoquímicas propriamente ditas [NADJI (1986), SWANSON (1988), TAYLOR e COTE (1994), e WEISS e CHANG (1999)].

3.4.1 Tecidos fixados em formol e incluídos em parafina

A aplicação da imuno-histoquímica em tecidos fixados em formol e incluídos em parafina é o fator responsável pela grande popularidade e ampla utilização do método pelos patologistas cirúrgicos.

Não existe um fixador ideal para ser utilizado nas reações imuno-histoquímicas. O formol a 10%, fixador de rotina em qualquer laboratório de patologia, tem um efeito deletério sobre algumas proteínas plasmáticas, como as cadeias de imunoglobulina, mas a grande maioria dos antígenos suporta a ação do formol, podendo ser detectados pela imuno-histoquímica após métodos de recuperação antigênica, explicados mais adiante [NADJI (1986), SWANSON (1988), TAYLOR e COTE (1994) e WEISS e CHANG (1999)].

Outros fixadores apresentam vantagens e desvantagens no seu uso, entre elas: 1) fixadores contendo álcool são bons para o estudo dos filamentos intermediários, mas eles encolhem e endurecem o tecido, prejudicando a morfologia; 2) fixadores que contêm ácido pícrico, como a solução de Bouin, são mais interessantes para a detecção de antígenos virais ou hormônios peptídeos, mas não possuem outras vantagens em relação ao formol; 3) fixador B5 e outros fixadores contendo mercúrio são especialmente úteis para a detecção dos marcadores de células linfóides, mas não são recomendáveis para o estudo de outros antígenos, já que neste caso, a reação de

fundo é muito acentuada [NADJI (1986), SWANSON (1988), TAYLOR e COTE (1994) e WEISS e CHANG (1999)].

Mais do que o tipo de fixador usado, a fixação imediata, adequada e homogênea do espécime é fundamental para o estudo imuno-histoquímico. Espécimes fixados demais, de menos, ou desigualmente fornecem resultados pobres quando submetidos à análise imuno-histoquímica [NADJI (1986), SWANSON (1988), TAYLOR e COTE (1994) e WEISS e CHANG (1999)].

O processamento do espécime, desde a sua clivagem, com os sucessivos banhos em soluções químicas, até o emblocamento final em parafina, não provoca efeitos deletérios significativos sobre os antígenos celulares. Não há prejuízo algum nos resultados imuno-histoquímicos nos tecidos processados desta maneira com os sistemas de detecção e de recuperação antigênicas disponíveis no mercado hoje em dia [NADJI (1986), SWANSON (1988), TAYLOR e COTE (1994) e WEISS e CHANG (1999)].

3.4.2 Tecidos congelados

Cortes de tecido congelado realizados em criostato eram preferíveis no início do desenvolvimento da técnica por causa da redução da detecção dos antígenos teciduais pela imuno-histoquímica que ocorre na fixação e processamento dos espécimes. Apesar disso, o uso de tecidos congelados está cada vez mais em desuso devido à introdução no mercado de sistemas de detecção altamente sensíveis e meios de recuperação antigênica [NADJI (1986), SWANSON (1988), TAYLOR e COTE (1994) e WEISS e CHANG (1999)].

Quando o congelamento é necessário, no caso da utilização de anticorpos que só funcionam com este tipo de método, o mesmo deve ser feito de imediato, com o uso de nitrogênio líquido. Se o armazenamento dos espécimes for necessário, ele deve ser feito em congelador de -70° C e quando armazenados de maneira adequada, não há perda antigênica significativa [NADJI (1986), SWANSON (1988), TAYLOR e COTE (1994) e WEISS e CHANG (1999)].

3.4.3 Inibição da atividade da peroxidase endógena

Nos métodos imunoenzimáticos a enzima peroxidase é ligada de alguma maneira ao anticorpo, para que a mesma entre em contato com o antígeno a ser pesquisado. Quando o cromógeno é adicionado (diaminobenzidina, na maioria das vezes), a enzima "quebra" o peróxido de hidrogênio, libera oxigênio e muda a cor da diaminobenzidina para um precipitado marrom. Acontece que algumas células têm, normalmente, atividade da enzima peroxidase, o que pode causar positividade inespecífica da reação imuno-histoquímica. Para que isto seja minimizado, previamente à etapa de adição do cromógeno, as lâminas são mergulhadas numa solução com peróxido de hidrogênio e metanol, na tentativa de bloquear esta atividade endógena da peroxidase [NADJI (1986), SWANSON (1988), TAYLOR e COTE (1994) e WEISS e CHANG (1999)].

3.4.4 Redução da coloração inespecífica do "fundo"

Por "fundo" se entende todo o tecido que suporta as células que contêm os antígenos a serem estudados. Quanto mais limpo é o fundo, maior é o contraste da reação positiva, e mais fácil e específica é a interpretação dos resultados. Colágeno, tecido muscular liso e estriado, e células ricas em mitocôndrias como hepatócitos e oncócitos, todos inconvenientemente podem captar o cromógeno, produzindo um fundo indesejável. Isto é ainda mais freqüente no caso de anticorpos policlonais. Algumas medidas que reduzem a coloração de fundo são pré-incubação com soluções protéicas, utilização de anticorpos monoclonais e uso das mais altas diluições possíveis dos anticorpos [NADJI (1986), SWANSON (1997), TAYLOR e COTE (1994) e WEISS e CHANG (1999)].

3.4.5 Recuperação antigênica

Fixadores que contém aldeído, como a formalina, provocam alterações protéicas (*cross-linkages*) que "escondem" os epitopos dos antígenos. As duas maneiras mais utilizadas em imuno-histoquímica para desmascarar os antígenos são a digestão por proteases e a recuperação dos antígenos através do calor [NADJI (1986), SWANSON (1988), TAYLOR e COTE (1994), SWANSON (1997) e WEISS e CHANG (1999)].

O uso de proteases, ou seja, enzimas proteolíticas, como a tripsina e a pepsina, entre outras, é útil em determinadas situações, e tem inúmeras variáveis: 1) a pré-

digestão enzimática não é recomendável para todos os antígenos; 2) não existe uma enzima proteolítica universal; a escolha vai depender do tipo de antígeno, localização do mesmo na célula e tipo de fixador utilizado (p.ex., a pré-digestão com tripsina melhora a qualidade da reação imuno-histoquímica das citoqueratinas em tecidos fixados em formol); 3) as concentrações das proteases, temperatura e tempo de incubação variam de acordo com os antígenos; e 4) quanto mais fixado for o tecido, maior é o tempo de digestão necessário para a recuperação dos antígenos [NADJI (1986), SWANSON (1988), TAYLOR e COTE (1994), SWANSON (1997) e WEISS e CHANG (1999)].

O aquecimento dos cortes histológicos em solução tamponada ajuda a recuperar antígenos mascarados pela fixação ou processamento dos mesmos, apesar do mecanismo não ser totalmente compreendido. Hoje em dia, existem três tipos de mecanismos de aquecimento utilizados na imuno-histoquímica: forno de microondas, panela de pressão e autoclave [NADJI (1986), SWANSON (1988), TAYLOR e COTE (1994), SWANSON (1997) e WEISS e CHANG (1999)].

3.4.6 Controles positivos

Os resultados das reações imuno-histoquímicas só são aceitos se controles positivos forem realizados em cada procedimento, como em qualquer outra reação imunológica. Para cada anticorpo utilizado deve-se fazer simultaneamente uma reação com o mesmo anticorpo em um corte tecidual que sabidamente contém o antígeno que está sendo pesquisado. Se a reação controle for positiva, isto significa que o anticorpo está "funcionando", e que se a reação imuno-histoquímica for negativa no caso em estudo, realmente não existe aquele antígeno no tecido, ou seja, o resultado negativo é real [NADJI (1986), SWANSON (1988), TAYLOR e COTE (1994), SWANSON (1997), WEISS e CHANG (1999) e BOENISH (2001)].

Provavelmente, os controles mais confiáveis em imuno-histoquímica são os chamados "internos", isto é, reações negativas e positivas encontradas no mesmo caso em que está sendo pesquisado um antígeno, mas longe da área em questão. Por exemplo, na pesquisa de receptor de estrogênio em carcinoma mamário, é sempre interessante encontrar ductos mamários normais com seus núcleos positivos para o receptor de estrogênio e núcleos de nervos ou vasos sangüíneos, negativos. Já que

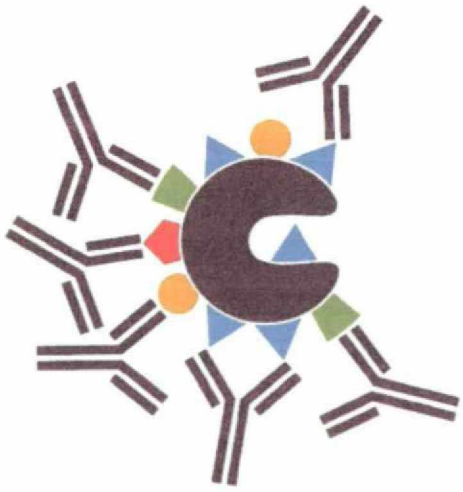
todo o corte histológico foi submetido à mesma fixação e processamento, se as células do carcinoma forem negativas, e as células dos ductos normais forem positivas, o carcinoma mamário em questão é realmente negativo para o receptor de estrogênio [NADJI (1986), SWANSON (1988), TAYLOR e COTE (1994), SWANSON (1997), WEISS e CHANG (1999) e BOENISH (2001)].

3.4.7 Anticorpos

Existem dois tipos de anticorpos utilizados nas técnicas imuno-histoquímicas, os policlonais e os monoclonais [SWANSON (1988), TAYLOR e COTE (1994)].

Anticorpos policlonais – anticorpos policlonais são aqueles obtidos através da purificação do soro de um coelho previamente sensibilizado por um antígeno que contém diversos epitopos. Diversos clones de plasmócitos produzem diferentes anticorpos contra vários epitopos de um mesmo antígeno. Conseqüentemente, os anticorpos presentes no soro são imunoquimicamente desiguais; eles reagem com diversos epitopos do antígeno contra os quais foram produzidos. Os anticorpos policlonais, de um modo geral, são bastante sensíveis mas, por outro lado, menos específicos (figura 5) [SWANSON (1988), TAYLOR e COTE (1994)].

FIGURA 5 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE ANTICORPOS POLICLONAIS LIGANDO-SE A DIVERSOS EPITOPOS DO ANTÍGENO



FONTE: BOENISH (2001)

Anticorpos monoclonais – os anticorpos monoclonais são produzidos por um único clone de linfócitos B. O animal utilizado geralmente é um camundongo previamente sensibilizado por um antígeno. Linfócitos B do baço deste animal são fusionadas a uma cultura de células de mieloma animal geneticamente manipuladas e que perderam a capacidade de produzir as suas próprias imunoglobulinas. Após a hibridização, as células neoplásicas passam a produzir apenas um anticorpo contra um epitopo do antígeno, de maneira clonal. Utilizando técnicas complicadas e laboriosas, os clones celulares são separados, bem como os anticorpos produzidos por cada clone. Estes anticorpos são imunoquimicamente idênticos entre si e reagem contra um epitopo específico do antígeno contra o qual eles foram produzidos. Apesar dos anticorpos monoclonais serem relativamente menos sensíveis, eles são altamente específicos (figura 6) [SWANSON (1988), TAYLOR e COTE (1994)].

FIGURA 6 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE ANTICORPOS MONOCLONAIS LIGANDO-SE A UM EPITOPO EPECÍFICO DO ANTÍGENO



FONTE: BOENISH (2001)

3.5 Anticorpos mais utilizados em imuno-histoquímica para o diagnóstico diferencial de lesões neoplásicas e pseudoneoplásicas

Denomina-se de "painel" o grupo de anticorpos escolhidos pelo patologista para cada caso a ser submetido à análise imuno-histoquímica, e a escolha do painel é muito particular para cada caso, pois depende das hipóteses diagnósticas formuladas pelo patologista na análise das lâminas coradas em H.E.

O número de anticorpos comercialmente disponíveis para fins diagnósticos ultrapassa os 500 e tem as mais variadas aplicações [ALVES, BACCHI e VASSALLO (1999), WEISS e CHANG (1999) e TAYLOR e COTE (1994)].

Em seguida, alguns dos anticorpos mais úteis na prática cirúrgica diária com alguns comentários sobre a sua estrutura molecular, reatividade e aplicação diagnóstica [ALVES, BACCHI e VASSALLO (1999), WEISS e CHANG (1999) e TAYLOR e COTE (1994)].

3.5.1 Filamentos intermediários

Os filamentos intermediários, que possuem este nome por terem tamanhos intermediários entre os microfilamentos e os microtúbulos, fazem parte do cito-esqueleto da maioria das células. O valor diagnóstico destes filamentos está no fato de que tipos específicos de células produzem tipos específicos de filamentos intermediários, e os mesmos filamentos são encontrados nas neoplasias correspondentes. Em se tratando de utilidade diagnóstica, os filamentos intermediários mais importantes são: queratina, vimentina, desmina, proteína ácida fibrilar glial e neurofilamento.

Queratina (KER) – a queratina não é um único filamento intermediário, mas uma família de aproximadamente 20 proteínas com pesos moleculares variando entre 44 e 68 kilodaltons. Geralmente queratinas de baixo peso molecular são expressas em epitélios simples ou viscerais e queratinas de alto peso molecular são expressas em epitélios mais complexos e do tipo escamoso. Via de regra, neoplasias de origem epitelial, ou seja, carcinomas, expressam queratinas. As citoqueratinas números 7 (CK7) e 20 (CK20) possuem baixo peso molecular. A CK7 é positiva em adenocarcinomas em geral, excluindo-se o carcinoma de cólon, e nos carcinomas uroteliais. A CK20 é positiva em adenocarcinomas mucinosos, como o adenocarcinoma de cólon, e é positiva em carcinomas uroteliais; a CK20 também marca os carcinomas de Merkel.

Vimentina (VIM) – a vimentina é o filamento intermediário mais comum das células mesenquimais e hemato-linfóides. No entanto, também são expressas em células epiteliais de diversas origens.

Desmina (DES) – a desmina é o filamento intermediário das células musculares.

Proteína ácida fibrilar glial (GFAP) – GFAP é o filamento intermediário dos astrócitos e algumas células mioepiteliais.
Neurofilamento – neurofilamento é o filamento intermediário das células neuronais.

3.5.2 Marcadores epiteliais

Antígeno carcino-embrionário (CEA) – o CEA (CD66e) é a única proteína relativamente específica para diferenciação epitelial de uma família de proteínas de diferenciação de linhagem hemato-linfática (os "CDs" – do inglês *cluster differentiation* – vistas mais adiante). O CEA é positivo em alguns carcinomas, como o de origem gastrintestinal, pulmonar e o carcinoma medular de tireóide, e exibe um padrão de coloração canalicular nos hepatocarcinomas. O valor diagnóstico do CEA está no fato dele ser quase sempre negativo em carcinomas renais, prostáticos e no mesotelioma maligno.
Antígeno de membrana epitelial (EMA) – o EMA está presente em quase todas as células epiteliais, mas não pode ser considerada específica, já que ele é expresso também por plasmócitos e outras células linfóides. Este anticorpo é especialmente útil para se descartar hipóteses diagnósticas de carcinoma hepatocelular, adrenal ou embrionário, já que o EMA quase nunca é positivo nestas neoplasias.

3.5.3 Marcadores neuroendócrinos

Cromogranina (CHR) – as cromograninas fazem parte de uma família de proteínas encontradas na matriz dos grânulos neurossecretórios, e por isso são marcadores específicos de diferenciação neuroendócrina.
Sinaptofisina (SIN) – a sinaptofisina é uma proteína originalmente isolada nas vesículas pré-sinápticas dos neurônios. Devido aos modernos métodos de recuperação antigênica, este anticorpo tornou-se mais um marcador de diferenciação neuroendócrina.

3.4.4 Marcadores epiteliais específicos para determinados tecidos

Hormônios polipeptídios endócrinos – existem vários anticorpos específicos para hormônios produzidos por determinadas células, como por exemplo: tireoglobulina e calcitonina (tireóide); LH, FSH, GH e TSH (hipófise); insulina, gastrina, somatostatina e VIP (ilhotas pancreáticas); PTH (paratireóide); e inibina (ovário e adrenal). Cada um

fibroblastos embrionários, células musculares lisas e células nervosas. O CD34 é de grande ajuda no diagnóstico dos tumores estromais gastrintestinais.

Fator VIII – o fator VIII, ou fator de Von Willebrand, é altamente específico para neoplasias de origem vascular.

3.5.7 Marcadores de melanoma

Proteína S100 – esta proteína é uma proteína ligada ao cálcio, composta por duas subunidades β e duas subunidades α. A proteína S100 com duas subunidades alfa é encontrada em células musculares do coração e músculo esquelético; a que tem uma subunidade alfa e outra beta é encontrada em melanócitos, condrócitos, células mioepiteliais e células gliais; e finalmente, a proteína S100 que tem duas subunidades beta são encontradas nas células de Schwann e nas células de Langerhans. Geralmente, os preparados de anticorpos da proteína S100 mais utilizados são policlonais, portanto a proteína S100 não é específica para a marcação de melanomas.

HMB45 – este anticorpo reconhece uma glicoproteína presente nos pré-melanossomos, por isto é bastante específica como marcador de proliferações melanocíticas. Além disso, O HMB45 pode ser encontrado em tumores que têm pré-melanossomos na sua composição, como o angiomiolipoma renal, tumor de células claras do pulmão e na linfangioleiomiomatose, entre outros.

3.5.8 Marcadores de sarcomas

CD99 – este anticorpo, que marca a glicoproteína MIC2, é bastante útil para a identificação de casos de sarcoma de Ewing e de tumor primitivo neuroectodérmico (PNET), pois é geralmente negativo no neuroblastoma, osteossarcoma de células pequenas, retinoblastoma, tumor de Wilms, tumor de células pequenas e redondas desmoplásico e rabdomiossarcoma alveolar.

Actina músculo específica (MSA) – a forma monoclonal deste anticorpo que é específica para células musculares lisas é o HHF-35, já que esta proteína também pode ser encontrada em células não musculares. Os anticorpos HHF-35 reagem contra as actinas presentes em músculo liso, estriado e cardíaco, além de células mioepiteliais e miofibroblastos.

Actina específica para músculo liso (SMA) – por ser específico para a actina de músculo liso, este anticorpo monoclonal não cora neoplasias de origem em musculatura estriada.

Colágeno IV – o colágeno do tipo IV é o principal componente da membrana basal e a pesquisa deste anticorpo é útil em diversas situações da patologia cirúrgica.

3.5.9 Marcadores de proliferação celular

Ki-67 – o anticorpo Ki-67 reconhece células em todas as fases da divisão celular, ou seja, G1, S, G2 e M, sendo ausente na fase G0. A sua aplicação é importante para determinar o grau de proliferação celular de uma neoplasia.

Oncoproteínas – dentre elas, o p53 é a oncoproteína de maior importância na rotina de uma unidade de imuno-histoquímica com fins diagnósticos. O p53 é uma proteína importante para a promoção da apoptose. Em geral, a positividade imuno-histoquímica para a proteína p53 reflete a presença de mutações desta proteína na célula. Já que a maioria das mutações na p53 provocam um aumento da sua vida média, ocorre um acúmulo da mesma na célula e isto propicia a sua detecção pela imuno-histoquímica. Acontece que o p53 pode ser expresso tanto por células neoplásicas como por células não neoplásicas, em atividade proliferativa, devendo ser usada com cautela em diagnósticos diferenciais.

c-erbB-2 – este é o produto do oncogene her-2/neu e está fortemente ligado ao prognóstico de carcinomas mamários.

3.5.10 Anticorpos úteis para o diagnóstico de neoplasias hemato-linfóides

Em relação aos marcadores de lesões hemato-linfóides, por muitos anos, o único método de fenotipagem de linfomas em cortes histológicos era por coloração imuno-histoquímica de tecidos congelados e fixados em acetona [ALVES, BACCHI e VASSALLO (1999), WEISS e CHANG (1999) e TAYLOR e COTE (1994)]. Nos dias de hoje, quase todas as neoplasias de linhagem hemato-linfopoiética podem ser adequadamente estudadas quando fixadas em formol e incluídas em parafina. Isto se deve ao grande desenvolvimento de anticorpos monoclonais que funcionam bem em cortes histológicos em parafina, e pelo aprimoramento de técnicas de recuperação antigênica. Mas mesmo com todo este avanço, em alguns casos, tecido congelado

ainda é necessário para o estudo de alguns anticorpos que têm melhor desempenho com este processamento [ALVES, BACCHI e VASSALLO (1999), WEISS e CHANG (1999) e TAYLOR e COTE (1994)].

Os anticorpos que identificam as células hemato-linfopoiéticas fazem parte da família CD (*cluster differentiation*), ou seja, diferenciação da linhagem celular. Com estes e outros anticorpos, o método imuno-histoquímico permite diferenciar proliferações linfóides de outras não-linfóides, determinar a linhagem celular (p.ex, linfócitos T *versus* B), distinguir entre processos malignos e benignos, e diferenciar entre doença de Hodgkin e Linfoma não-Hodgkin [ALVES, BACCHI e VASSALLO (1999), WEISS e CHANG (1999) e TAYLOR e COTE (1994)].

CD45 – o CD45 é o antígeno leucocitário comum (LCA) e via de regra, ele está presente em todas as células linfóides e seus precursores.

CD45RO – este é um subtipo do antígeno CD45 que é expresso basicamente em linfócitos T, granulócitos e macrófagos.

CD3 – o anticorpo CD3 é um excelente marcador de linfócitos T, sendo positivo em vários tipos de linfomas de origem T e quase sempre negativo em linfomas de origem B.

CD20 – o CD20 faz parte de um grupo de anticorpos que reconhece uma proteína de membrana que é restrita a células linfóides da linhagem B.

CD23 – como o CD20, este anticorpo também marca células da linhagem B. O seu uso mais importante está na diferenciação entre leucemia linfocítica crônica/linfoma linfocítico e linfoma das células do manto, sendo positivo nos primeiros e negativo no último.

Cadeias leves de imunoglobulina – as cadeias leves de imunoglobulina kappa e lambda são expressas por plasmócitos normais ou neoplásicos e por quase todos os linfomas B plasmacitóides, entre outros. Kappa e lambda são particularmente interessantes na diferenciação entre proliferação plasmocitária reacional e plasmocitoma, já que o último, por ser clonal, expressa apenas uma das cadeias, e nos processos reacionais geralmente encontra-se expressão de ambas as cadeias.

Bcl-2 – este anticorpo reconhece um oncogene que diminui a taxa de morte celular, isto é, que previne a morte celular programada (apoptose). Geralmente o bcl-2 está presente em processos neoplásicos e serve principalmente para a diferenciação entre proliferação linfóide reacional e linfoma folicular, sendo positivo nos centros germinativos do último.

CD15 – o anticorpo CD15 é expresso por neutrófilos, monócitos e alguns tipos de linfócitos T. A maior positividade para este anticorpo é encontrada na doença de Hodgkin, quando é muito útil nesta definição diagnóstica. Além disso, o CD15 pode ser encontrado num grande número de adenocarcinomas.

CD30 – como no caso do CD15, este anticorpo é particularmente útil no diagnóstico de alguns linfomas: linfoma anaplásico de grandes células, linfoma de Hodgkin e papulose linfomatóide, entre outros. O carcinoma embrionário, apesar da origem em células germinativas, expressa este anticorpo num grande número de casos.

CD68 – este anticorpo reage contra uma glicoproteína de lisossomos, o que lhe confere forte expressão em células da linhagem macrofágica/monocítica. Ele não é porém, específico, já que o CD68 pode ser encontrado em neoplasias de outras linhagens, como por exemplo, leucemia mielóide crônica, alguns linfomas não-Hodgkin e mastocitoma.

ALK – fruto da t(2;5)(p23;q35), a proteína ALK é associada ao linfoma anaplásico de grandes células, sendo positiva num número significativo de casos.

Mieloperoxidase (MPO) – a mieloperoxidase é um dos principais constituintes dos grânulos primários de células mielóides, sendo importante principalmente para o diagnóstico de leucemia mielóide aguda e cloroma.

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 Material

Utilizou-se 4459 exames imuno-histoquímicos realizados durante o ano de 1999 na Unidade de Imuno-histoquímica do Jackson Memorial Hospital, Universidade de Miami, Escola de Medicina, com autorização do Dr. Mehdad Nadji, chefe daquela Unidade (anexo 1).

4.2 Método

4.2.1 Procedimento imuno-histoquímico

Todas as reações foram realizadas na Unidade de Imuno-histoquímica do Jackson Memorial Hospital. O método imunoenzimático utilizado foi o estreptavidina-biotina-peroxidase e um aquecedor a vapor foi usado para a recuperação antigênica, quando necessário. A seguir o procedimento imuno-histoquímico passo a passo:

1. os blocos de parafina contendo os fragmentos teciduais ou células a serem estudados são cortados em secções de 3 microns;
2. coloca-se as lâminas contendo os cortes de parafina na estufa de 37°C, pelo período noturno (*overnight*) para que a parafina derreta;
3. banha-se em xilol por dez minutos;
4. hidrata-se as secções de parafina com banhos consecutivos em soluções com concentrações decrescentes de álcool: dois banhos em álcool absoluto, dois banhos em álcool a 95% e um banho em álcool a 90%, um minuto em cada;
5. bloqueia-se a atividade endógena da peroxidase com uma solução de peróxido de hidrogênio a 6%, por três minutos;
6. lava-se as lâminas em água corrente por um minuto;
7. banha-se as lâminas em solução tamponada de citrato (DAKO S1968) por um minuto;

8. prepara-se a solução para recuperação antigênica da DAKO (*Target retrieval solution* – DAKO S1699) com água destilada em aquecedor a vapor, por 20 minutos, para que a solução atinja uma temperatura de 90°C;

9. coloca-se as lâminas na solução preparada, no interior do aquecedor a vapor, por 20 minutos;

10. retira-se as lâminas do aquecedor para que esfriem por 20 minutos;

11. coloca-se as lâminas em solução tamponada de citrato por dois minutos, em temperatura ambiente (esta fase pode demorar de dois minutos a 18 horas, dependendo da necessidade);

12. aplica-se o sistema de bloqueio da biotina (DAKO X0590): incuba-se as lâminas em solução de avidina por seis minutos, lava-se, incuba-se as lâminas em solução de biotina por seis minutos e se lava;

13. adiciona-se o anticorpo primário a cada lâmina e incuba-se por 30 minutos em câmara úmida;

14. banha-se as lâminas em solução tamponada de citrato por dois minutos e em seguida, seca-se o excesso da solução de cada lâmina;

15. adiciona-se a solução de união (*linking solution* – DAKO KO690 LSAB) que contém os anticorpos secundários;

16. banha-se em solução tamponada de citrato por dois minutos, depois se banha em água destilada por três minutos, e em seguida banha-se novamente em solução tamponada de citrato por dois minutos;

17. seca-se o excesso da solução de cada lâmina e adiciona-se o conjugado peroxidase-estreptavidina;

18. banha-se em solução tamponada de citrato por dois minutos e em seguida submerge-se as lâminas em solução contendo o cromógeno diaminobenzidina (DAB DAKO K3468) por dez minutos;

19. banha-se as lâminas em solução tamponada de citrato por dez minutos e em seguida, lava-se em água corrente por quatro minutos;

20. seca-se as lâminas e em seguida cora-se em hematoxilina para antígenos citoplasmáticos ou com fast green com adição de sulfato cúprico para os antígenos nucleares;

21. hidrata-se as lâminas com banhos consecutivos em soluções com concentrações decrescentes de álcool: dois banhos em álcool absoluto, dois banhos em álcool a 95%, e um banho em álcool a 90%, um minuto em cada;

22. limpa-se as lâminas com xilol e aplica-se a lamínula.

Os passos 12 a 22 foram realizados de maneira totalmente automatizada por um aparelho da empresa DAKO – DAKO Autostainer Universal Staining System. O aparelho consiste de: 1) um sistema horizontal processador de lâminas desenvolvido para funcionar de maneira otimizada com os reagentes da DAKO em tecidos incluídos em parafina e fixados em formalina, em cortes histológicos de tecidos congelados e em preparados citológicos; 2) um computador de mesa; 3) um programa de computador que gerencia e organiza todo o procedimento e 4) uma impressora.

A Unidade de Imuno-histoquímica do Jackson Memorial Hospital dispõe de aproximadamente 153 anticorpos. As diluições eram variadas, dependendo de cada anticorpo, e passavam por ajustes diários para se obter os melhores resultados. Controles positivos foram realizados para cada anticorpo. As reações imuno-histoquímicas foram analisadas diariamente pelo Dr. Nadji, ou raramente por outro patologista sênior quando aquele estava impossibilitado por motivo de viagem ou de saúde.

4.2.2 Compilação dos dados

A partir das requisições dos exames imuno-histoquímicos realizados em 1999, criou-se um banco de dados no computador utilizando o programa Excel 97 da Microsoft com as seguintes entradas, ou variáveis: a) número de identificação do caso; b) órgão ou local da biópsia; c) diagnóstico de suspeita nas lâminas coradas em hematoxilina e eosina (H.E.); d) diagnóstico diferencial; e) anticorpos e respectivos resultados; e f) diagnóstico final.

4.2.3 Avaliação dos casos

Com os casos organizados num banco de dados, as seguintes variáveis foram analisadas:

- órgão ou local da biópsia;
- qualidade do material (biópsia ou preparado citológico); e

- número de anticorpos por caso.

Além disso, os casos foram classificados de duas maneiras. Uma em relação ao motivo da indicação para o exame imuno-histoquímico e outro em relação ao grau de contribuição da imuno-histoquímica para o diagnóstico final.

Quanto ao motivo de indicação para o exame imuno-histoquímico, os casos foram classificados em três categorias:

A. Determinação de fatores prognósticos ou índices proliferativos (ex.: análise do receptor de estrogênio no carcinoma mamário).

B. Identificação de microrganismos, células, estruturas ou materiais (ex.: detecção da presença do vírus da hepatite B em biópsias hepáticas).

C. Definição diagnóstica, aonde os casos foram subdivididos em três outras categorias:

1) Categoria "confirmatória": a imuno-histoquímica foi utilizada para confirmar a hipótese diagnóstica formulada nas lâminas coradas em H.E.

2) Categoria "diagnóstico diferencial": quando a imuno-histoquímica foi utilizada no diagnóstico diferencial de lesões neoplásicas e pseudoneoplásicas suspeitadas nas lâminas coradas em H.E. Nestes casos foram determinados os dilemas de diagnósticos diferenciais para os quais a imuno-histoquímica foi aplicada (ex.: diferenciar carcinoma de melanoma; definir o sítio primário de adenocarcinomas; classificar linfomas, entre outros).

3) Categoria "miscelânea": a imuno-histoquímica foi utilizada para diagnóstico em situações não citadas anteriormente (ex.: definição de hormônios secretados por tumores de hipófise, análise dos ductos hepáticos em fígados transplantados, entre outros).

Quanto ao grau de contribuição da imuno-histoquímica no diagnóstico final, nos casos da categoria "definição diagnóstica", os mesmos foram classificados em: 1) a imuno-histoquímica rendeu um diagnóstico específico; 2) a imuno-histoquímica diminuiu o número de diagnósticos diferenciais; ou 3) a imuno-histoquímica não contribuiu para a conclusão diagnóstica. Os motivos pelos quais a imuno-histoquímica não auxiliou no diagnóstico final foram igualmente avaliados.

5 RESULTADOS

5.1 RESULTADOS GERAIS

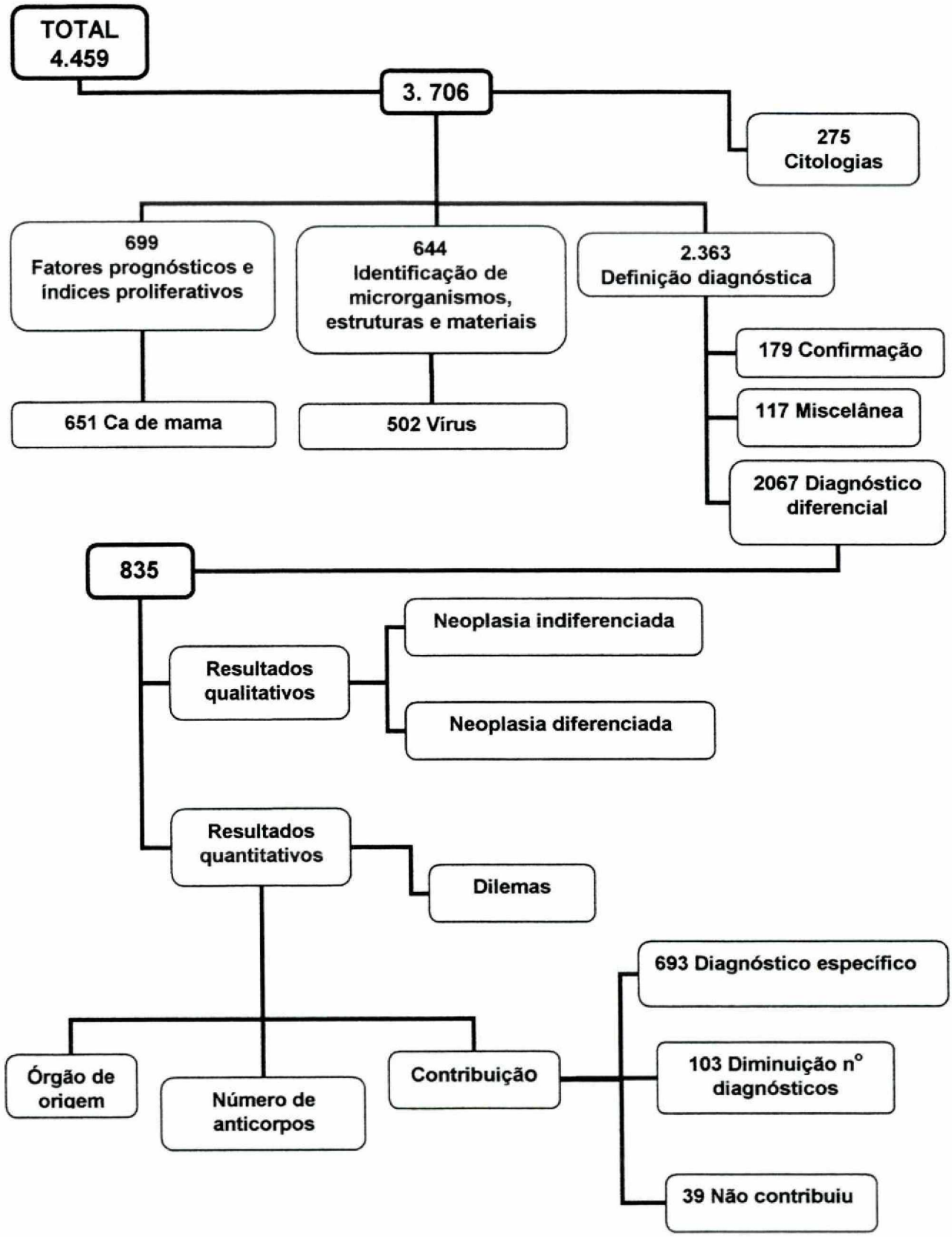
No ano de 1999, o Departamento de Patologia do Jackson Memorial Hospital realizou 32.558 biópsias, 41.432 citologias e recebeu 3.990 casos para consulta em patologia cirúrgica e citopatologia, provenientes de outras regiões dos Estados Unidos da América e de outros países.

Neste mesmo ano, a Unidade de Imuno-histoquímica daquele hospital realizou 4459 exames. A figura 7 mostra um organograma que explica o modo pelo qual todos os casos foram classificados, analisados e quantificados. Em 3706 casos foi possível a obtenção do mínimo de dados necessários para o desenvolvimento dos objetivos propostos, entre eles, dados referentes a local da biópsia, diagnósticos suspeitos nas lâminas coradas em hematoxilina e eosina (H.E.), resultados das colorações imuno-histoquímicas, e diagnósticos finais. Destes 3706 casos, 3431 eram biópsias e 275 eram preparados citológicos.

Os 3706 casos foram analisados quanto ao motivo de indicação da imuno-histoquímica: para determinação de fatores prognósticos ou índices proliferativos; para identificação de microrganismos, células, estruturas ou materiais ou para definição diagnóstica. Os casos em que a imuno-histoquímica foi indicada para definir o diagnóstico foram divididos em três grupos: confirmação, miscelânea e diagnóstico diferencial. Dos 2067 casos deste último grupo, escolheu-se 835 casos que tinham os formulários de solicitação de exame imuno-histoquímico completamente preenchidos e que foram analisados por um único patologista.

Estes 835 casos foram analisados de uma maneira qualitativa e outra quantitativa. Os resultados qualitativos são referentes ao modo de abordagem do patologista ao analisar um caso a ser submetido ao exame imuno-histoquímico. Os resultados quantitativos se referem à análise do órgão de origem da biópsia, ao número de anticorpos utilizado em cada caso, ao grau de contribuição da imuno-histoquímica para o diagnóstico final e à avaliação dos dilemas de diagnósticos diferenciais para os quais o patologista utiliza a imuno-histoquímica para auxiliá-lo na decisão do diagnóstico final.

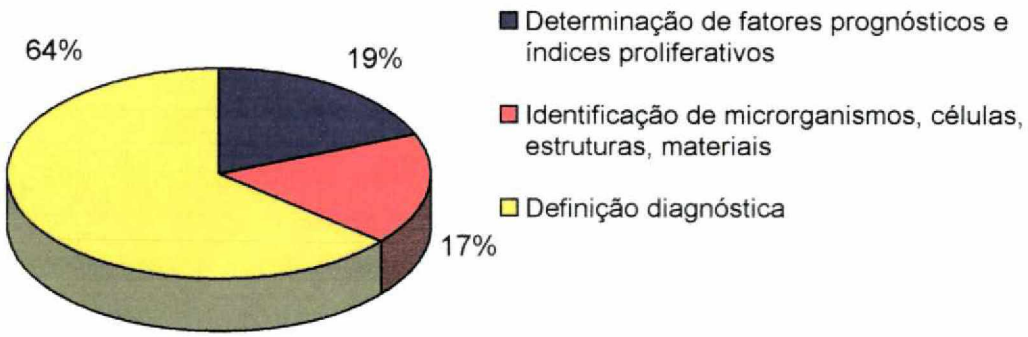
FIGURA 7 – DEMONSTRAÇÃO DOS RESULTADOS EM FORMATO DE ORGANOGRAMA PARA EXPLICAÇÃO DA MANEIRA PELA QUAL OS DADOS FORAM CLASSIFICADOS, ANALISADOS E QUANTIFICADOS



5.2 MOTIVO DE INDICAÇÃO PARA O EXAME IMUNO-HISTOQUÍMICO

Nos 3706 casos em que todos os dados necessários para a realização deste trabalho estavam disponíveis, 699 tiveram como motivo de solicitação de exame imuno-histoquímico a determinação de fatores prognósticos ou índices proliferativos; a imuno-histoquímica foi utilizada para identificação de microrganismos, células, estruturas ou materiais em 644 casos; e em 2363 casos a imuno-histoquímica foi utilizada para definir o diagnóstico (gráfico 1).

GRÁFICO 1 – RESULTADOS QUANTO AO MOTIVO DE INDICAÇÃO PARA O EXAME IMUNO-HISTOQUÍMICO



5.2.1 Determinação de fatores prognósticos ou índices proliferativos

Nos 699 casos em que a imuno-histoquímica foi utilizada para determinação de fatores prognósticos ou índices proliferativos, a pesquisa de receptores hormonais e de marcadores de proliferação celular em carcinomas de mama foi o grupo mais prevalente, com 651 casos (93,2%). O restante dos casos são mostrados com mais detalhes na tabela 1.

TABELA 1 – CASOS EM QUE A IMUNO-HISTOQUIMICA FOI UTILIZADA PARA DETERMINAÇÃO DE FATORES PROGNÓSTICOS OU ÍNDICES PROLIFERATIVOS

INDICAÇÃO	NÚMERO DE CASOS
[1]Carcinoma de mama	651
Pesquisa de HER2/neu	18
Pesquisa de p53	18
Pesquisa de ki67	8
Receptor de progesterona nas fibromatoses	4
TOTAL	699

(1) o painel de anticorpos constava de receptor de estrogênio e HER2/neu podendo estar acompanhado de receptor de progesterona, p53 e KI-67.

5.2.2 Identificação de microrganismos, células, estruturas ou materiais

Nos casos onde a imuno-histoquímica contribuiu para a identificação de microrganismos, células, estruturas ou materiais, ou seja, 644 casos, as pesquisas de vírus foram as mais solicitadas (78%). Na tabela 2 estão expostos os demais casos que pertencem a este grupo.

TABELA 2 – CASOS EM QUE A IMUNO-HISTOQUÍMICA FOI UTILIZADA PARA IDENTIFICAÇÃO DE MICRORGANISMOS, CÉLULAS, ESTRUTURAS OU MATERIAIS

INDICAÇÃO	NÚMERO DE CASOS
Vírus	502
Pneumocysti carinii	80
Toxoplasma gondii	15
Helycobacter pylori	2
Fungos	2
Células ganglionares na Doença de Hirschsprung	22
Camada basal em ductos mamários	3
Mioglobina em túbulos renais	3
Fibroelastoma em válvula aórtica	2
Amilóide	2
Células trofoblásticas	2
Tecido mamário em axila	1
Cisto de fundo de saco vaginal	1
Contaminantes	2
Ductos biliares em fígados cirróticos	1
Amígdala normal	1
Tecido tireoidiano em mediastino	1
Vasos em seio nasal	1
Tecido linfóide em nódulo mesentérico	1
TOTAL	644

5.2.3 Definição diagnóstica

A imuno-histoquímica foi utilizada para definição diagnóstica em 2363 casos. Em relação às três categorias nos quais eles foram subdivididos, 179 casos fizeram parte da categoria "confirmatória", 117 casos na categoria "miscelânea" e 2067 casos na

categoria "diagnóstico diferencial". Os detalhes das duas primeiras categorias podem ser vistas nas tabelas 3 e 4, respectivamente.

TABELA 3 – CASOS EM QUE A IMUNO-HISTOQUÍMICA FOI UTILIZADA PARA DEFINIÇÃO DIAGNÓSTICA: CATEGORIA "CONFIRMATÓRIA"

INDICAÇÃO	NÚMERO DE CASOS
Pesquisa da camada basal em carcinoma de próstata	92
Pesquisa de metástases em linfonodos	31
(1)Documentação de carcinoma, melanoma, etc	42
Confirmação da presença de células inflamatórias	11
(1)Documentação de carcinoma infiltrando pele	2
Auxílio na medida de invasão de um melanoma	1
TOTAL	179

(1) Diagnóstico já firmado no H.E.

TABELA 4 – CASOS EM QUE A IMUNO-HISTOQUÍMICA FOI UTILIZADA PARA DEFINIÇÃO DIAGNÓSTICA: CATEGORIA "MISCELÂNIA"

INDICAÇÃO	NÚMERO DE CASOS
Pesquisa de ductos biliares em biópsias de fígados transplantados	87
Pesquisa da melanócitos em biópsias de pele com vitiligo	13
Painel hormonal de adenomas de hipófises	12
Pesquisa de alfa-1-antitripsina em biópsias de fígado	3
Diagnóstico diferencial entre cartilagem e queratina	1
Painel hormonal de um caso de tumor de ilhotas pancreáticas	1
TOTAL	117

5.3 ANÁLISE DOS CASOS DA CATEGORIA "DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL"

Dos 2067 casos desta categoria, escolheu-se 835 casos ou da rotina cirúrgica do Jackson Memorial Hospital ou casos submetidos à consulta, que possuíam os diagnósticos diferenciais formulados nas lâminas coradas em hematoxilina e eosina (H.E.), o resultado dos anticorpos pesquisados e o diagnóstico final no próprio formulário de solicitação de imuno-histoquímica, o que facilitou a análise dos dados (anexo 2). O restante dos casos não possuíam a conclusão da análise imuno-histoquímica naquele formulário. O resultado final com a conclusão do exame imuno-histoquímico era firmado apenas no laudo patológico definitivo, o que tornava mais laborioso a sua obtenção. Além disso, estes 835 casos foram analisados, desde a formulação dos diagnósticos diferenciais nas lâminas coradas em H.E., escolha do painel de anticorpos e interpretação dos resultados imuno-histoquímicos por um único patologista (Dr. Mehdad Nadji) o que tornou o grupo mais homogêneo.

5.3.1 Resultados qualitativos

A imuno-histoquímica foi aplicada tanto em casos inflamatórios como neoplásicos. Nos primeiros, a imuno-histoquímica era necessária quando o caráter inflamatório ou reacional da proliferação celular ou tissular em questão era colocado em dúvida. Ou seja, não havia condições de se descartar a hipótese de processo neoplásico nas lâminas coradas em H.E. Por outro lado, toda vez que uma neoplasia tinha indicação para o exame imuno-histoquímico, ou se tratava de uma neoplasia pouco diferenciada ou indiferenciada, ou se tratava de uma neoplasia relativamente diferenciada que necessitava de um diagnóstico mais específico quanto ao órgão de origem.

Neoplasias indiferenciadas – No caso das neoplasias pouco diferenciadas ou indiferenciadas, elas eram classificadas como de células grandes, pequenas ou fusiformes, e a partir desta classificação escolhia-se o painel com os anticorpos mais pertinentes (figuras 8, 9 e 10 e as tabelas 5, 6 e 7).

FIGURA 8 – CLASSIFICAÇÃO DAS NEOPLASIAS POUCO DIFERENCIADAS OU INDIFERENCIADAS QUANTO AO TAMANHO DAS CÉLULAS E PROVÁVEL DIAGNÓSTICO

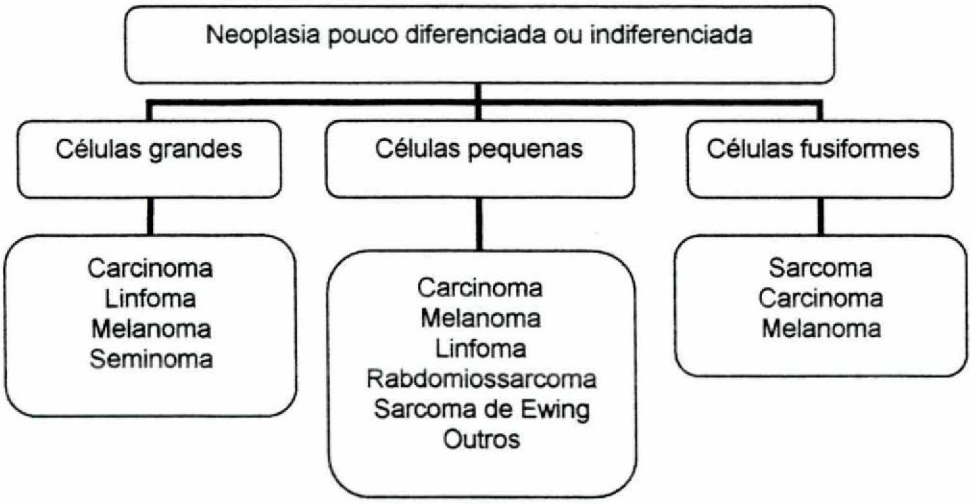


TABELA 5 – PAINEL BÁSICO DE ANTICORPOS UTILIZADOS PARA DIFERENCIAÇÃO DE NEOPLASIAS MALIGNAS INDIFERENCIADAS DE CÉLULAS GRANDES

	KER	LCA	PLAP	S100
Carcinoma	+	-	-	-
Linfoma	-	+	-	-
Melanoma	-	-	-	+
Seminoma	-	-	+	-

Legenda: (KER) queratina; (LCA) antígeno leucocitário comum; (PLAP) fosfatase ácida placentária; (S100) proteína S-100; (+) resultado positivo na grande maioria dos casos; (-) resultado negativo na grande maioria dos casos.

FIGURA 9 – NEOPLASIA POUCO DIFERENCIADA DE CÉLULAS GRANDES: CARCINOMA NASOFARÍNGEO (H.E., 100X)

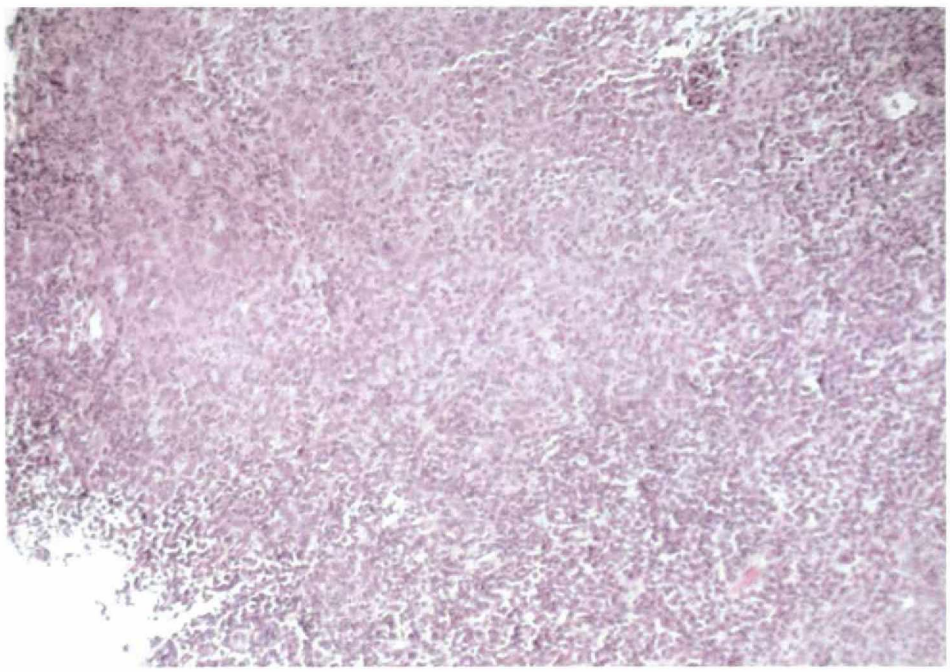
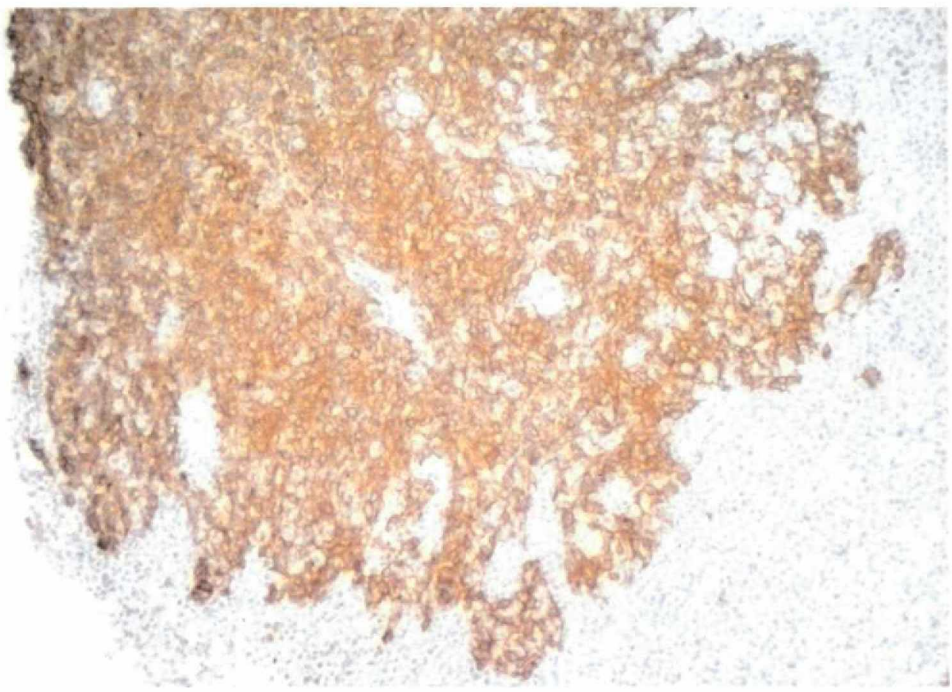


FIGURA 10 – NEOPLASIA POUCO DIFERENCIADA DE CÉLULAS GRANDES: CARCINOMA NASOFARÍNGEO (QUERATINA, 100X)



Nota: Observar positividade da reação na neoplasia e negatividade da reação nas células linfóides.

TABELA 6 – PAINEL BÁSICO DE ANTICORPOS UTILIZADOS PARA DIFERENCIAÇÃO DE ALGUMAS NEOPLASIAS MALIGNAS INDIFERENCIADAS DE CÉLULAS PEQUENAS

	KER	LCA	S100	DESM	CD99
Carcinoma	+	-	-	-	-
Linfoma	-	+	-	-	-
Melanoma	-	-	+	-	-
Rabdomiossarcoma	-	-	-	+	-
Sarcoma de Ewing	-	-	-	-	+

Legenda: (KER) queratina; (LCA) antígeno leucocitário comum; (S100) proteína S-100; (DESM) desmina; (CD99) glicoproteína MIC 2; (+) resultado positivo na grande maioria dos casos; (-) resultado negativo na grande maioria dos casos.

TABELA 7 – PAINEL BÁSICO DE ANTICORPOS UTILIZADOS PARA DIFERENCIAÇÃO DE ALGUMAS NEOPLASIAS MALIGNAS INDIFERENCIADAS DE CÉLULAS FUSIFORMES

	KER	S100	HMB45	DESM
Carcinoma	+	-	-	-
Melanoma	-	+	+	-
Leiomiossarcoma	-	-	-	+
Sarcoma neurogênico	-	+	-	-
Fibrohistiocitoma maligno	-	-	-	-

Legenda: (KER) queratina; (S100) proteína S-100; (DESM) desmina; (+) resultado positivo na grande maioria dos casos; (-) resultado negativo na grande maioria dos casos.

Neoplasias diferenciadas – No caso de neoplasias relativamente diferenciadas, quando o patologista, nas lâminas coradas em H.E., conseguia determinar a origem do tecido, ou seja, se a neoplasia se originava em epitélio glandular, ou tecido linfóide, ou tecido mesenquimal, entre outros, a imuno-histoquímica era utilizada na tentativa de se determinar o órgão de origem, rendendo um diagnóstico mais específico, utilizando painéis de anticorpos mais direcionados.

Algumas das aplicações importantes do método foram decisão entre adenocarcinomas primários *versus* metastáticos, órgão de origem de adenocarcinomas metastáticos e determinação da origem tecidual de sarcomas. A tabela 8 mostra um painel de anticorpos utilizados para o diagnóstico diferencial de neoplasias mais diferenciadas e as figuras 10, 11 e 12 ilustram uma das situações.

TABELA 8 – PAINEL DE ANTICORPOS QUE PODE SER UTILIZADO PARA DIFERENCIAÇÃO DE CARCINOMAS EM FÍGADO

	CK7	CK20	HCC	CEA	EMA	RCA	TTF-1
Hepatocarcinoma	+	-	+	(1)+	-	-	-
Metástase de adenocarcinoma pulmonar	+	-	-	+	+	-	+
Metástase de adenocarcinoma de cólon	-	+	-	+	+	-	-
Metástase de adenocarcinoma renal	+	-	-	-	+	+	-
Metástase de carcinoma transicional	+	+	-	+/-	+	-	-

Legenda: (CK7) citoqueratina 7; (CK20) citoqueratina 20; (HCC) antígeno do hepatocarcinoma; (CEA) antígeno carcinoembrionário; (EMA) antígeno da membrana epitelial; (RCA) antígeno do carcinoma renal; (TTF-1) fator de transcrição da tireóide; (+) resultado positivo na grande maioria dos casos; (-) resultado negativo na grande maioria dos casos; (+/-) resultado positivo ou negativo.
(1) Padrão canalicular de positividade.

FIGURA 11 – ADENOCARCINOMA EM OVÁRIO: METÁSTASE DE ADENOCARCINOMA DE CÓLON (H.E. 100X)

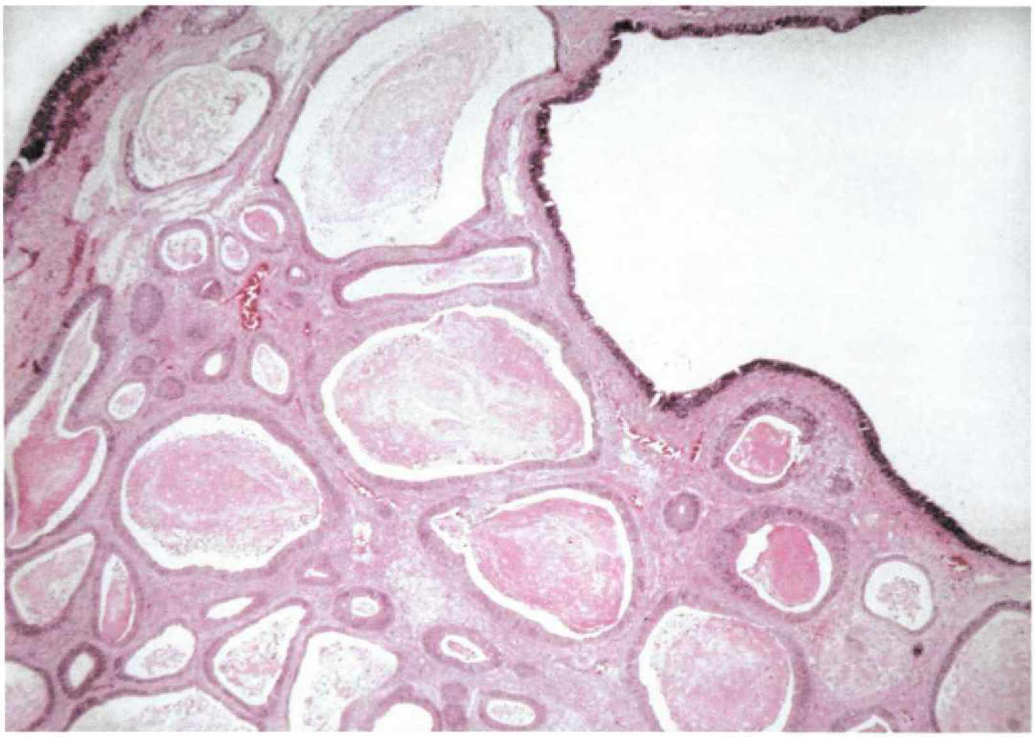


FIGURA 12 – ADENOCARCINOMA EM OVÁRIO: METÁSTASE DE ADENOCARCINOMA DE CÓLON (CK20, 100X)



Nota: Observar positividade da reação nas glândulas neoplásicas.

FIGURA 13 – ADENOCARCINOMA EM OVÁRIO: METÁSTASE DE ADENOCARCINOMA DE CÓLON (CK7, 100X)



Nota: Observar a negatividade da reação nas glândulas neoplásicas.

Outras duas importantes situações nas quais a imuno-histoquímica foi utilizada foram diferenciar entre hiperplasias linfocitárias de caráter reacional e linfomas, e classificar linfomas. O painel de anticorpos que pode ser utilizado naquelas situações está exposto na tabela 9.

TABELA 9 – PAINEL DE ANTICORPOS QUE PODE SER UTILIZADO PARA DIFERENCIAÇÃO DE ALGUNS PROCESSOS LINFOPROLIFERATIVOS

	CD3	CD20	BCL-2	CD30
Hiperplasia linfóide folicular	+	+	(1) -	-
Linfoma folicular	-	+	(1) +	-
Linfoma de células T	+	-	-	-
Linfoma de células B	-	+	-	-
Linfoma anaplásico	-	-	-	+

Legenda: (+) resultado positivo na grande maioria dos casos; (-) resultado negativo na grande maioria dos casos.
(1) Nos centros germinativos

O painel de anticorpos utilizado quando a imuno-histoquímica foi indicada para diferenciar entre hiperplasia mesotelial reacional, mesotelioma e adenocarcinoma pulmonar é apresentado na tabela 10.

TABELA 10 – PAINEL DE ANTICORPOS QUE PODE SER UTILIZADO PARA DIFERENCIAÇÃO ENTRE HIPERPLASIA MESOTELIAL REACIONAL, MESOTELIOMA E ADENOCARCINOMA

	EMA	CALRET	CEA
Hiperplasia mesotelial reacional	(1) -	+	-
Mesotelioma	+	+	-
Adenocarcinoma pulmonar	+	-	+

Legenda: (EMA) antígeno de membrana epitelial; (CALRET) calrretinina; (CEA) antígeno carcinoembrionário; (+) resultado positivo na grande maioria dos casos; (-) resultado negativo na grande maioria dos casos.
(1) Pode ocorrer uma positividade focal e discreta

5.3.2 Resultados quantitativos

Locais de biópsia ou órgão de origem

Os três locais de biópsias mais freqüentes nesta categoria foram fígado, com 90 casos, pulmão com 78 casos e linfonodo com 58 casos.

Avaliação dos anticorpos

Nos 3706 casos estudados, foram utilizados 81 anticorpos diferentes, provenientes de várias companhias (anexo 3).

Nos 835 casos estudados na categoria "diagnóstico diferencial", o número de anticorpos, por caso, variou de um a 15, com média de 4,1 anticorpos por caso.

Grau de auxílio da imuno-histoquímica no diagnóstico diferencial

Nos 835 casos, os resultados foram os seguintes: a imuno-histoquímica rendeu um diagnóstico específico em 693 casos; a imuno-histoquímica diminuiu o número de diagnósticos diferenciais, auxiliando parcialmente o patologista em 103 casos; a imuno-histoquímica não contribuiu em nada para a conclusão diagnóstica em 39 casos (gráfico 2). O motivo para o qual a imuno-histoquímica não auxiliou o patologista na decisão diagnóstica final foram: 1) extrema indiferenciação de algumas neoplasias, em 10 casos; 2) presença de necrose extensa em determinadas neoplasias, em 18 casos; e 3) exigüidade da amostra, em 22 casos (gráfico 3).

GRÁFICO 2 – GRAU DE CONTRIBUIÇÃO DA IMUNO-HISTOQUÍMICA PARA O DIAGNÓSTICO PATOLÓGICO FINAL

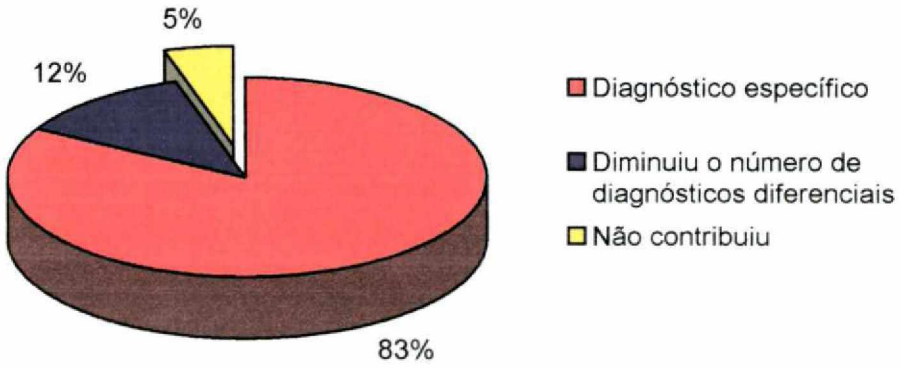
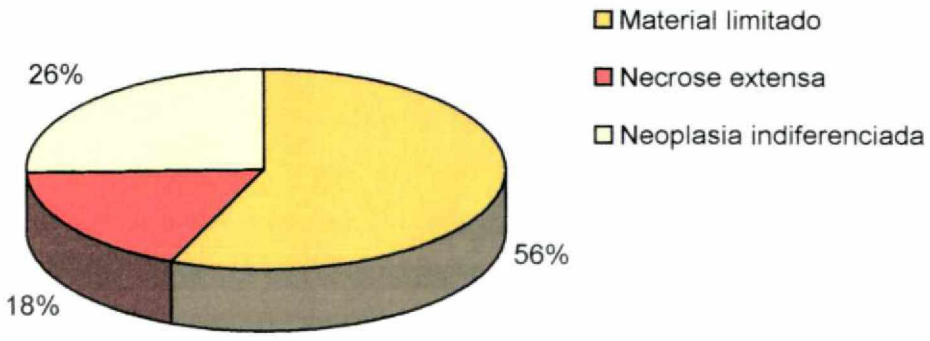


GRÁFICO 3 – MOTIVOS PELOS QUAIS A IMUNO-HISTOQUÍMICA NÃO AUXILIOU NA DECISÃO DIAGNÓSTICA FINAL



Dilemas de diagnóstico diferencial para os quais a imuno-histoquímica foi indicada

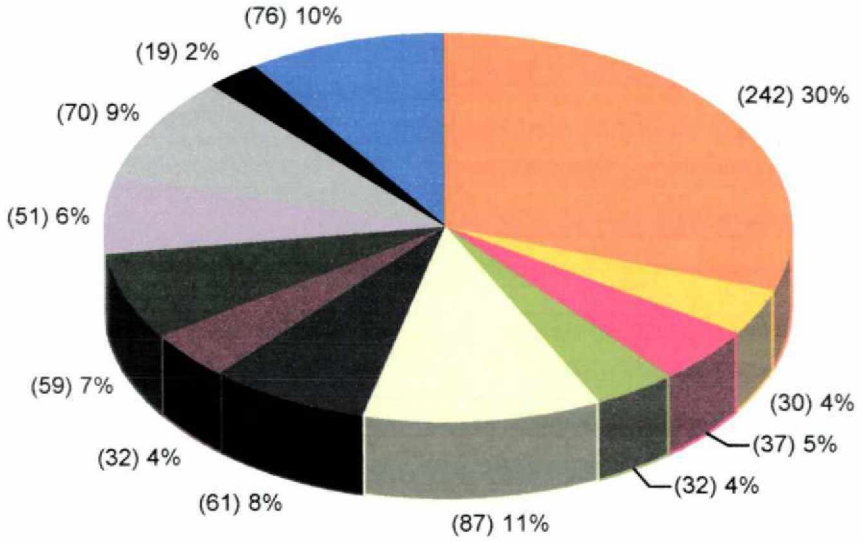
Nos 796 casos aonde a imuno-histoquímica foi útil para o diagnóstico final, encontrou-se 12 situações diferentes (gráfico 4):

- depois de estabelecido o diagnóstico de carcinoma ou adenocarcinoma no H.E. a imuno-histoquímica foi utilizada para determinação do órgão de origem, ou sítio primário (ex.: hepatocarcinoma *versus* adenocarcinoma metastático);
- depois de estabelecido o diagnóstico de linfoma no H.E. a imuno-histoquímica foi utilizada para determinação do tipo de linfoma (ex.: linfoma B de grandes células *versus* linfoma anaplásico);
- a imuno-histoquímica foi utilizada para o diagnóstico diferencial entre processo neoplásico e pseudoneoplásico (ex.: tecido de granulação e carcinoma);
- a imuno-histoquímica teve como finalidade diferenciar entre hiperplasia linfóide ou infiltrado inflamatório e linfoma, ou plasmocitose reacional e plasmocitoma ou mieloma múltiplo;
- a imuno-histoquímica foi indicada para diferenciar entre hiperplasia mesotelial reacional, mesotelioma e adenocarcinoma;
- nos casos de neoplasias fusocelulares benignas e malignas, a imuno-histoquímica foi indicada para determinar o tecido de origem (ex.: leiomiossarcoma *versus* tumor do estroma gastrintestinal);
- a imuno-histoquímica foi indicada para o diagnóstico diferencial entre carcinoma e melanoma;
- a imuno-histoquímica foi utilizada para o diagnóstico diferencial entre carcinoma e linfoma;
- a imuno-histoquímica foi indicada para o diagnóstico diferencial entre carcinoma e sarcoma;
- frente a uma neoplasia maligna totalmente indiferenciada no H.E., a imuno-histoquímica foi indicada para determinar o tecido de origem da neoplasia, com mais de dois diagnósticos diferenciais (ex.: carcinoma *versus* melanoma *versus* linfoma);
- a imuno-histoquímica foi indicada para determinar o tecido de origem de uma neoplasia do grupo conhecido como neoplasia maligna de células pequenas e azuis, que inclui sarcoma de Ewing, tumor primitivo neuroectodérmico periférico (PNET),

neuroblastoma, rabdomiossarcoma, tumor desmoplásico de células redondas, linfoma/leucemia, carcinoma de pequenas células, osteossarcoma de pequenas células e condrossarcoma mesenquimal [DEVOE e WEIDNER (2000)];

- a imuno-histoquímica foi utilizada para resolver problemas de diagnósticos diferenciais não citados anteriormente (ex.: glioblastoma *versus* carcinoma metastático).

GRÁFICO 4 – PROBLEMAS DE DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL PARA OS QUAIS A IMUNO-HISTOQUÍMICA FOI INDICADA EM 796 CASOS



Legenda:
- determinação do órgão de origem, ou sítio primário de um carcinoma (n=242);
- classificação do tipo de linfoma (n=30);
- diferenciar entre processo neoplásico e pseudoneoplásico (n=37);
- diferenciar entre hiperplasia linfóide ou infiltrado inflamatório e linfoma, ou plasmocitose reacional e plasmocitoma ou mieloma múltiplo (n=32);
- diferenciar entre hiperplasia mesotelial reacional, mesotelioma e adenocarcinoma (n=87);
- determinar o tecido de origem de neoplasias fusocelulares benignas e malignas (n=61);
- diagnóstico diferencial entre carcinoma e melanoma (n=32);
- diagnóstico diferencial entre carcinoma e linfoma (n=59);
- diagnóstico diferencial entre carcinoma e sarcoma (n=51);
- neoplasia maligna indiferenciada, com mais de dois diagnósticos diferenciais (n=70);
- determinar o tecido de origem de uma neoplasia do grupo conhecido como neoplasia maligna de células pequenas e azuis (n=19);
- problemas de diagnósticos diferenciais não citados anteriormente (n=76).

NOTA: número em parênteses representa o número de casos em cada categoria.

5.4 AVALIAÇÃO DOS CASOS DE CITOLOGIA

Dentre 3706 casos de imuno-histoquímica realizados no ano de 1999, 275 foram realizados em preparados citológicos, entre eles, esfregaços, blocos celulares ou *cytospin*. Houve 112 casos de imuno-citoquímica em preparados citológicos de líquidos (peritoneal, pericárdico, pleural, suco gástrico, lavado brônquico, líquor), 150 casos de punções aspirativas por agulha fina de órgãos e tumores sólidos (tabela 11), duas imuno-citoquímicas realizadas em esfregaços cervico-vaginais e em 11 casos não foi possível de se determinar a exata origem do material.

TABELA 11 – REAÇÕES IMUNO-CITOQUÍMICAS REALIZADAS EM CITOLOGIAS OBTIDAS POR PUNÇÕES ASPIRATIVAS POR AGULHA FINA

LOCAL DE PUNÇÃO	NÚMERO DE CASOS
Mama	104
Tumor cervical	7
Fígado	7
Linfonodo	7
Pulmão	5
Tireóide	5
Partes moles	4
Tumor pélvico	2
Mediastino	2
Fêmur	1
Rim	1
Adrenal	1
Tumor axilar	1
Pele	1
Pâncreas	1
Língua	1
TOTAL	150

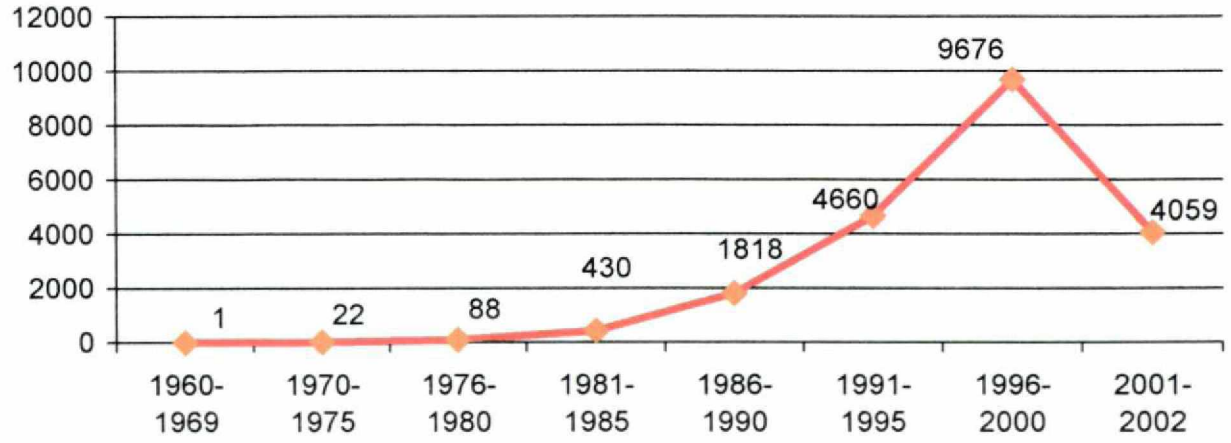
Em 40 casos foi possível de se avaliar o grau de contribuição diagnóstica do método e as situações de diagnóstico diferencial para qual o mesmo foi empregado (anexo 2). A imunocitoquímica contribuiu no diagnóstico final em todos estes casos e as duas principais aplicações foram para diferenciar entre hiperplasias mesoteliais reacionais, mesoteliomas e adenocarcinomas e para definir o sítio primário de adenocarcinomas metastáticos.

6 DISCUSSÃO

6.1 Considerações gerais

Desde a sua introdução, na década de 70, as publicações científicas com aplicações da imuno-histoquímica em patologia cirúrgica aumentaram significativamente (gráfico 5). Este fato apenas reflete a posição que a imuno-histoquímica hoje ocupa em um laboratório de patologia cirúrgica, ou seja, a de técnica complementar indispensável na resolução de certos problemas de diagnóstico diferencial formulados nas lâminas coradas em H.E. [NADJI (1986), LEONG e WRIGHT (1987), RICKERT e MALINIAK (1989), SCHMITT et al. (1991), TAYLOR e COTE (1994), ROSAI (1996), TORRES, NORONHA e TELLES (1995), TORRES et al. (1998), ALVES, BACCHI e VASSALLO (1999), WEISS e CHANG (1999), RAAB (2000), TAYLOR (2000), WERNER et al. (2000), HSI (2001)].

GRÁFICO 5 – PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS ENCONTRADAS NA PESQUISA ATRAVÉS DO MEDLINE, ENTRE 1960 E 2002, AONDE O TERMO IMUNO-HISTOQUÍMICA APARECE NO TÍTULO OU RESUMO DOS TRABALHOS, E SE LIMITANDO A ESTUDOS QUE FORAM REALIZADOS EM HUMANOS



6.2 Delineamento da pesquisa

De janeiro de 2000 a janeiro de 2001, como parte da Residência Médica em Anatomia Patológica, a autora realizou um treinamento em Patologia Cirúrgica na condição de Patologista Observadora no Departamento de Patologia do Jackson Memorial Hospital, Universidade de Miami, nos Estados Unidos da América, sob a supervisão do Dr. Mehdad Nadji, chefe da Unidade de Imuno-histoquímica daquele Departamento. Naquele período, a autora teve a oportunidade de participar ativamente na rotina cirúrgica daquele hospital, principalmente na área de imuno-histoquímica. Houve exposição a um grande número de casos com diagnósticos difíceis, tanto do próprio Jackson Memorial Hospital, como casos vindos em consulta de outras áreas dos Estados Unidos da América e também de outros países. Além disso, obteve-se acesso aos casos submetidos a exame imuno-histoquímico arquivados desde 1995, quando se pode revisar o órgão de origem da biópsia, os diagnósticos diferenciais formulados na análise das lâminas coradas em hematoxilina e eosina (H.E.), o painel de anticorpos escolhido pelo patologista com os respectivos resultados, e o diagnóstico final do caso. Com a autorização do Dr. Mehdad Nadji (anexo 1), os casos realizados no ano de 1999 foram escolhidos para a realização desta dissertação de Mestrado.

O Jackson Memorial Hospital é um dos maiores hospitais dos Estados Unidos em número de atendimentos ambulatoriais e de internamentos, contendo 1567 leitos. No ano de 1999, o Departamento de Patologia do Jackson Memorial Hospital realizou 280 autópsias, 32.558 biópsias, 41.432 citologias e recebeu 3.990 casos para consulta em patologia cirúrgica e citopatologia, provenientes de outras regiões dos Estados Unidos da América e de outros países. A Unidade de Imuno-histoquímica do Jackson Memorial Hospital presta serviços ao próprio hospital e aos casos recebidos em consulta, quando necessário, e também a outros hospitais que fazem parte do complexo médico da Universidade de Miami, como o Hospital de Veteranos de Miami e o hospital particular Cedars Medical Hospital, e também recebe eventualmente casos provenientes de autópsias realizadas no Hospital de Veteranos ou no Instituto de Medicina Forense do Condado de Dade, os quais também fazem parte do complexo médico.

No ano de 1999 a Unidade de Imuno-histoquímica daquele hospital realizou 4459 exames. Este trabalho avaliou os 3706 casos nos quais foi possível a obtenção do mínimo de dados necessários para o desenvolvimento dos objetivos propostos. Estes 3706 casos foram avaliados quanto ao motivo de indicação do exame imuno-

histoquímico, e eles foram classificados em três categorias, sendo que 699 exames foram realizados para determinar fatores prognósticos ou índices proliferativos; 644 exames foram indicados para identificar microrganismos, células, estruturas ou materiais; e 2363 casos tiveram a imuno-histoquímica solicitada para definição diagnóstica, nas mais variadas situações. Este último grupo é o de destaque na presente dissertação, pois acredita-se que com ele pode-se analisar a contribuição da imuno-histoquímica na definição diagnóstica de casos complicados, nos quais os diagnósticos finais não podem ser baseados exclusivamente na coloração de H.E. Os 2363 casos foram sub-classificados quanto à situação diagnóstica para qual a imuno-histoquímica foi empregada. Em 179 casos a imuno-histoquímica foi usada para confirmar o diagnóstico suspeito nas lâminas coradas em H.E., por motivos acadêmicos ou de documentação (categoria "confirmatória") e em 117 casos a imuno-histoquímica foi utilizada no diagnóstico de lesões bastante variadas, como a pesquisa de ductos biliares em biópsias de fígados transplantados e pesquisa de melanócitos em biópsias de pele com vitiligo (categoria "miscelânea"). Os 2067 casos restantes foram aqueles em que a imuno-histoquímica contribuiu na decisão final do diagnóstico partindo de duas ou mais hipóteses suspeitas nas lâminas coradas em H.E. Deste grupo separou-se 835 casos nos quais os dados referentes aos diagnósticos suspeitos nas lâminas coradas em H.E., os anticorpos solicitados com os respectivos resultados e os diagnósticos finais estavam escritos na própria requisição do exame imuno-histoquímico, o que facilitou a análise dos dados, e foram todos encerrados pelo mesmo patologista, Dr. Mehdad Nadji, o que tornou o grupo homogêneo. Neste grupo de 835 casos avaliou-se a contribuição da imuno-histoquímica para o diagnóstico final e a média de anticorpos por caso.

6.3 Contribuição da imuno-histoquímica na solução de problemas de diagnósticos diferenciais em patologia cirúrgica

Leong e Wright, patologistas australianos, escreveram o primeiro artigo que avalia a contribuição da imuno-histoquímica na área de diagnóstico de tumores [LEONG e WRIGHT (1987)]. Dos 958 tumores da rotina cirúrgica que necessitaram de imuno-histoquímica no Instituto de Ciências Médicas e Veterinárias na cidade de Adelaide, em 1986, os autores escolheram 200 casos consecutivos e classificaram-nos em uma de cinco categorias: 1) a imuno-histoquímica confirmou o diagnóstico suspeito nas lâminas

coradas em hematoxilina e eosina (H.E.); 2) a imuno-histoquímica contribuiu para o diagnóstico definitivo a partir de uma lista de diagnósticos diferenciais; 3) a imuno-histoquímica contribuiu por excluir algum diagnóstico diferencial; 4) a imuno-histoquímica não foi de auxílio nenhum para o diagnóstico; e 5) a imuno-histoquímica rendeu um diagnóstico não suspeitado previamente. Em 13,5% dos casos a imuno-histoquímica não contribuiu para o diagnóstico patológico final. Os autores justificaram este achado pelo fato da metade destes casos serem provenientes de consultas de outros locais, e pela ausência de controle interno positivo da reação imuno-histoquímica, acreditavam que a fixação do espécime não era adequada. Apontaram que a imuno-histoquímica foi particularmente de grande auxílio nos diagnósticos diferenciais entre linfoma anaplásico e carcinoma, e na identificação de melanoma amelanótico. Além disso, disseram que a escolha de um painel de anticorpos baseado nos diagnósticos presumidos nas lâminas coradas em H.E. é de grande ajuda para a diferenciação de tumores de células anaplásicas e fusiformes.

O presente estudo apresenta várias semelhanças e algumas diferenças quando comparado ao artigo de LEONG e WRIGHT (1987). A semelhança principal é a motivação de se classificar por categorias os "tipos de contribuição" ou os "motivos de indicação" do exame imuno-histoquímico, para se avaliar a real contribuição da mesma no diagnóstico definitivo de neoplasias. A principal diferença entre os dois estudos é que neste não existe a categoria "a imuno-histoquímica rendeu um diagnóstico não suspeitado previamente nas lâminas coradas em H.E.". Quando os resultados da imuno-histoquímica eram muito discrepantes do que foi suspeitado nas lâminas coradas em H.E., o diagnóstico final firmado no laudo se restringia a um diagnóstico pouco específico, do tipo "neoplasia maligna pouco diferenciada", e uma nota sugeria alguns diagnósticos diferenciais suspeitados nas lâminas coradas em H.E. Nestes casos, a imuno-histoquímica era considerada não auxiliar para o diagnóstico final.

No presente estudo existem duas categorias não utilizadas por aqueles autores, a categoria A - determinação de fatores prognósticos e índices proliferativos e a categoria B - identificação de microrganismos, células, estruturas ou materiais. Sobre a primeira categoria, vale a pena salientar que o carcinoma de mama com a pesquisa dos receptores de estrogênio e progesterona, além de HER2/neu, p53 e Ki67 algumas vezes, foi responsável por 93,2% dos casos. Já a pesquisa de vírus foi o principal componente da categoria B, com 78% dos casos. Esta prevalência de resultados é

esperada, uma vez que o carcinoma de mama é uma das neoplasias mais comuns e a imuno-histoquímica é consagrada na determinação de alguns índices prognósticos e terapêuticos [TORRES (1996), GANCBERG et al. (2000), VANG et al. (2000) e WERNER et al. (2000)]. Do mesmo modo, a detecção de vírus pelo método imuno-histoquímico preenche uma lacuna diagnóstica da coloração de rotina de H.E., pois muitas vezes não há alterações morfológicas características que indiquem a presença de uma infecção viral [WERNER et al. (2000)].

Em 2363 casos (64%) a imuno-histoquímica foi aplicada para definir o diagnóstico (categoria C). Nestes casos foi realizada outra classificação, criando-se três outras categorias: 1) categoria "confirmatória": a imuno-histoquímica foi utilizada para confirmar a hipótese formulada nas lâminas coradas em H.E., isto é, por algum motivo, o patologista gostaria de apenas confirmar o seu diagnóstico prévio; 2) categoria "diagnóstico diferencial": quando a imuno-histoquímica foi utilizada como auxiliar na decisão entre duas ou mais hipóteses diagnósticas formuladas nas lâminas coradas em H.E., tanto de processos neoplásicos como processos pseudoneoplásicos; e 3) categoria "miscelânea": a imuno-histoquímica foi utilizada para diagnóstico em situações diversas e heterogêneas, não citadas anteriormente (ex.: painéis hormonais em tumores de hipófise, análise dos ductos hepáticos em fígados transplantados, entre outros). Mesmo com esta subdivisão fica difícil comparar o presente estudo com as três primeiras categorias criadas por LEONG e WRIGHT (1987): 1) a imuno-histoquímica confirmou o diagnóstico mais provável formulado nas lâminas coradas em H.E.; 2) a imuno-histoquímica definiu o diagnóstico a partir de uma lista de diagnósticos diferenciais; e 3) a imuno-histoquímica contribuiu por excluir algum diagnóstico diferencial. Com certeza há grandes diferenças entre os dois estudos no momento de inclusão de casos nesta ou naquela categoria, pois cada caso é analisado separadamente e subjetivamente, e sem dúvida há discrepâncias nas definições de inclusão de casos em cada categoria.

Até onde se sabe, existem dois outros trabalhos baseados no estudo de LEONG e WRIGHT (1987), ambos nacionais: o de SCHMITT et al. de 1991 e o de TORRES et al. de 1998. Os dois trabalhos utilizaram as categorias propostas pelos primeiros autores, com algumas modificações. Novamente é muito difícil comparar os resultados destes dois trabalhos brasileiros com o presente.

Os patologistas do estudo de SCHMITT et al (1991), que na época faziam parte do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, publicaram um artigo expondo os resultados da classificação dos 949 casos enviados àquela instituição entre 1984 e 1989, segundo as categorias propostas no artigo de LEONG e WRIGHT (1987). SCHMITT et al. (1991) apresentaram resultados muito semelhantes aos daqueles autores, e ressaltaram que a experiência do patologista que escolhe os anticorpos e interpreta os resultados imuno-histoquímicos é o fator mais importante para a eficiência da imuno-histoquímica no diagnóstico de tumores.

TORRES et al. (1998) expuseram a sua experiência de 10 anos de uso da imuno-histoquímica num hospital geral de Curitiba em um artigo publicado em 1998, revisando o artigo previamente publicado pelos autores em 1995 [TORRES, NORONHA e TELLES (1995)]. Os autores avaliaram a contribuição da imuno-histoquímica em 1856 casos da rotina cirúrgica daquele hospital, classificando os casos de uma maneira semelhante ao feito por LEONG e WRIGHT (1987) e por SCHMITT et al. (1991). Os autores usaram apenas quatro categorias, ao invés das cinco utilizadas nos outros dois artigos prévios, propondo modificações na maneira de incluir os casos nas categorias. As categorias utilizadas foram: 1) a imuno-histoquímica contribuiu para a definição diagnóstica, quer seja a partir da confirmação de um único diagnóstico suspeitado nas lâminas coradas em H.E., quer seja a partir de uma lista de diagnósticos diferenciais - fusão das categorias 1 e 2 de LEONG e WRIGHT (1987); 2) a imuno-histoquímica contribuiu para a complementação diagnóstica; 3) a imuno-histoquímica não contribuiu para o diagnóstico final; e 4) a imuno-histoquímica revelou um diagnóstico não suspeitado previamente. Em 94,1% dos casos a imuno-histoquímica auxiliou de alguma maneira na definição do diagnóstico. Em apenas uma pequena porcentagem dos casos (5,9%) a imuno-histoquímica não proporcionou qualquer auxílio para a solução do caso, e os autores atribuem à má fixação a principal razão deste achado.

No presente trabalho, acredita-se que a real avaliação da contribuição prática da imuno-histoquímica no que diz respeito aos principais dilemas da patologia cirúrgica pôde ser obtida nos 835 casos em que a imuno-histoquímica auxiliou diretamente na decisão diagnóstica de processos neoplásicos e pseudoneoplásicos (anexo 2). Avaliando-se caso por caso, encontrou-se os seguintes dados: a imuno-histoquímica rendeu um diagnóstico específico em 693 casos ou 83%; a imuno-histoquímica diminuiu o número de diagnósticos diferenciais, auxiliando parcialmente o patologista em 103

casos, ou 12%; e a imuno-histoquímica não contribuiu para a conclusão diagnóstica em 39 casos, ou 5%. Isto significa que em 95% dos casos nos quais o patologista está diante de um caso de diagnóstico difícil nas lâminas coradas em H.E., a imuno-histoquímica pode ajudá-lo para firmar se não o diagnóstico correto, pelo menos um diagnóstico apropriado.

6.4 Situações em que a imuno-histoquímica não contribui na solução de problemas de diagnósticos diferenciais em patologia cirúrgica

Um resultado que pode ser comparado perfeitamente com os três artigos citados previamente - LEONG e WRIGHT (1987), SCHMITT et al. (1991) e TORRES et al. (1998) - é o que diz respeito às porcentagens de casos analisados nos quais a imuno-histoquímica não contribuiu para o diagnóstico final. No presente estudo, isto aconteceu em 5% dos casos e nos trabalhos de LEONG e WRIGHT (1987), SCHMITT et al. (1991) e TORRES et al. (1998) as taxas foram de 13,5%, 12% e 5,9% respectivamente.

As razões encontradas pelos autores para explicar a falta de contribuição da imuno-histoquímica para a resolução diagnóstica foram diferentes. Segundo LEONG e WRIGHT (1987) os principais fatores que impediram que a imuno-histoquímica contribuísse para o diagnóstico final em 13,5% dos casos foram resultados inespecíficos e contraditórios das colorações imuno-histoquímicas em alguns tumores e a fixação inadequada dos espécimes. Já SCHMITT et al. (1991), nos 12% dos casos não beneficiados pela imuno-histoquímica, apontam a fixação inadequada em formol como o principal fator complicador, seguido da extrema indiferenciação de algumas das neoplasias estudadas. TORRES et al. (1998) apontam a fixação inadequada, exigüidade da amostra estudada e total indiferenciação de certas neoplasias como as razões da inutilidade da imuno-histoquímica na resolução dos dilemas em diagnósticos diferenciais em 5,9% dos casos.

Juntamente com os três artigos mencionados anteriormente, várias outras publicações comentam a influência negativa do processamento tecidual e da fixação, adequada ou não, em formol sobre as reações imuno-histoquímicas [NADJI (1986), ELIAS et al. (1989), RICKERT e MALINIAK (1989), LINDER (1990), BATTIFORA (1991), TAYLOR (1994A), TAYLOR (2000), WERNER et al. (2000)]. Apesar disso, aquele não foi um problema encontrado no presente estudo. Os motivos que impediram a imuno-histoquímica de auxiliar o patologista na decisão diagnóstica final foram: 1)

extrema indiferenciação de algumas neoplasias, aonde todos os marcadores testados tiveram resultados negativos; 2) presença de necrose extensa em determinadas neoplasias, aonde além de provocar intensa coloração inespecífica, o pouco tecido neoplásico viável foi insuficiente para a interpretação das reações; e 3) exigüidade da amostra, aonde o tecido disponível não foi quantitativamente suficiente para a realização das reações imuno-histoquímicas necessárias.

Pode-se notar que TORRES et al. (1998) possuem a taxa mais semelhante ao do presente estudo, e é, ao mesmo tempo, o mais recentemente publicado, em 1998. Os casos avaliados no trabalho de SCHMITT et al. (1991) eram na maioria da década de 80, e no caso de TORRES et al. (1998), os casos, em sua maioria eram da década de 90. Os casos usados no estudo de LEONG e WRIGHT (1987) eram ainda mais antigos. A época de realização dos três estudos pode ter influenciado no grau de auxílio da imuno-histoquímica em cada caso, já que a disponibilidade de anticorpos e técnicas de recuperação antigênica eram diferentes. Além de ter um maior número de anticorpos à sua disposição, todas as reações efetuadas na Unidade de Imuno-histoquímica do Jackson Memorial Hospital, naquele ano, foram feitas de maneira automatizada, e todos os casos foram submetidos às técnicas de recuperação antigênica mais adequadas para cada anticorpo. Estes fatos podem explicar a menor importância da condição de preservação do tecido e dos epitopos antigênicos na qualidade das reações imuno-histoquímicas e conseqüentemente, na contribuição da imuno-histoquímica para a decisão diagnóstica final [CHAN (2000), O'LEARY (2001) e RUDIGER et al. (2002)].

6.5 Escolha dos anticorpos e interpretação dos resultados da imuno-histoquímica

Além de todo cuidado técnico necessário para que as reações imuno-histoquímicas sejam de qualidade e possam ser interpretadas de maneira correta pelo patologista, a fase de escolha dos anticorpos a serem testados, após a análise da lâmina corada em H.E., é igualmente importante [NADJI (1986), RICKERT e MALINIAK (1989), TAYLOR (1994A), CHAN (2000), TAYLOR (2000), RUDIGER (2002)].

RUDIGER et al. (2002) testaram a proficiência de 172 patologistas alemães nos quesitos qualidade de reações imuno-histoquímicas dos seus laboratórios e capacidade de interpretação dos resultados para a composição de um diagnóstico final adequado. Cada patologista recebeu uma lâmina corada em H.E. e cinco lâminas não coradas,

para que os mesmos escolhessem os anticorpos mais pertinentes e realizassem as reações imuno-histoquímicas. Apenas 57% dos casos enviados aos patologistas retornaram com os diagnósticos finais corretos, e a baixa sensibilidade de algumas reações não foi correlacionada com os erros diagnósticos. Os autores concluem que mais do que a qualidade das reações, a escolha dos anticorpos, a interpretação das colorações e a integração dos resultados imuno-histoquímicos ao diagnóstico suspeitado nas lâminas coradas em H.E. são mais importantes na formulação de um diagnóstico final pertinente.

No presente estudo, a imuno-histoquímica foi aplicada tanto em casos inflamatórios como neoplásicos, e a escolha dos painéis de anticorpos variou de caso para caso, tanto no tipo quanto na quantidade. Nos 3706 casos estudados de 1999, foram utilizados 81 anticorpos diferentes (anexo 3), e nos 835 casos estudados na categoria "diagnóstico diferencial", o número de anticorpos, por caso, variou de um a 15, com média de 4,1 anticorpos por caso (anexo 2). Como explicado anteriormente, este grupo de 835 casos foi analisado pelo mesmo patologista (Dr. Mehdad Nadji), que por sua vez, é o patologista de maior experiência na área. Diagnósticos diferenciais mais simples necessitaram um menor número de anticorpos, e diagnósticos diferenciais complexos, como nos casos de neoplasias malignas indiferenciadas, solicitaram um maior número de anticorpos. TORRES et al. (1998) apresentam a média de 5,1 anticorpos utilizados por caso, número bastante semelhante ao do presente estudo.

Toda vez que uma neoplasia teve indicação para o exame imuno-histoquímico, ou se tratava de uma neoplasia pouco diferenciada ou indiferenciada, ou se tratava de uma neoplasia relativamente diferenciada que necessitava de um diagnóstico mais específico quanto ao órgão de origem. Por definição, uma neoplasia indiferenciada é aquela que não apresenta características morfológicas que a definam como sarcoma, linfoma, carcinoma ou melanoma [LINDER (1990)]. No presente estudo, houve 70 casos de neoplasias indiferenciadas (9%). Seguindo o raciocínio para se formular os diagnósticos diferenciais, primeiro as neoplasias indiferenciadas foram classificadas segundo o tamanho e tipo celular, e em seguida, escolheu-se o painel com o número mínimo de anticorpos necessários para a resolução do problema em questão. Toda vez que um anticorpo foi incluído na lista de anticorpos a serem testados, a pergunta "o que um resultado positivo ou negativo para este anticorpo vai influenciar no diagnóstico final?" foi formulada. Somente se a questão tivesse uma resposta coerente, o anticorpo

era testado. Esta medida, além de reduzir os gastos de uma Unidade de Imuno-histoquímica, colabora para a manutenção da utilidade do método em patologia cirúrgica. Geralmente, quanto menor o número de diagnósticos diferenciais suspeitos nas lâminas coradas em H.E., ou seja, quanto maior a experiência do patologista, menor é o número de anticorpos do painel imuno-histoquímico escolhido pelo mesmo. Conseqüentemente, quanto menor o número de reações a serem analisadas, menor é o número de variáveis, e mais preciso é o diagnóstico final [TAYLOR (1994A), CHAN (2000), TAYLOR (2000), RUDIGER (2002)]. Vale salientar que, como mencionado por LINDER (1990), não existem anticorpos que são 100% específicos e sensíveis, geralmente os anticorpos mais específicos podem ser pouco sensíveis, anticorpos com grande sensibilidade podem se tornar inespecíficos, e existem neoplasias que realmente são totalmente indiferenciadas.

6.6 Aplicação diagnóstica direcionada da imuno-histoquímica

Quando foi possível de se determinar, pela análise morfológica da lesão nas lâminas coradas em H.E., o diagnóstico de carcinoma, sarcoma, linfoma ou melanoma, a escolha dos anticorpos a serem utilizados foi feita de maneira mais direcionada, na tentativa de se conseguir um diagnóstico mais específico.

Decisão entre adenocarcinomas e carcinomas primários *versus* adenocarcinomas e carcinomas metastáticos e a definição do órgão de origem de carcinomas e adenocarcinomas metastáticos – estes foram os dilemas de diagnóstico diferencial mais comumente encontrados, correspondendo a 30% dos casos estudados. Do mesmo modo, como demonstrou o presente estudo, o fígado foi o local mais comum de biópsias e preparados citológicos submetidos a estudos imuno-histoquímicos. Isto coincide com os achados de literatura, aonde adenocarcinomas metastáticos para o fígado, com sítios primários indefinidos, são problemas clínicos bastante comuns [HAMAR (1998), TOT (1999)]. A tabela 8 mostra os principais anticorpos utilizados para diferenciação de sítios primários de alguns adenocarcinomas que ocorreram no fígado.

A combinação dos resultados imuno-histoquímicos das citoqueratinas 7 e 20 pode ajudar bastante na definição do sítio primário da neoplasia: adenocarcinoma metastático de cólon é caracteristicamente negativo para a citoqueratina 7 e positivo para a

citoqueratina 20 (figuras 10, 11 e 12); e positividade para ambas as citoqueratinas sugere ovário (quando a neoplasia é mucinosa), pâncreas, trato biliar ou urotélio como sítios primários; já a positividade apenas para a citoqueratina 7 não rende diagnóstico específico, pois a grande maioria dos adenocarcinomas comporta-se imuno-histoquimicamente desta maneira [LAGENDIJK et al. (1998), ALVES, BACCHI e VASSALLO (1999), TOT (1999), WEISS e CHANG (1999), MCCLUGGAGE (2000)]. Outros anticorpos que podem ser inseridos em um painel para determinação de sítios primários de adenocarcinomas é o antígeno de membrana epitelial e o antígeno carcinoembrionário. O primeiro é especialmente útil para se descartar hipóteses diagnósticas de carcinoma hepatocelular, adrenal ou embrionário, já que o antígeno de membrana epitelial quase nunca é positivo nestas neoplasias [ALVES, BACCHI e VASSALLO (1999), WEISS e CHANG (1999)]. O antígeno carcinoembrionário é positivo em alguns adenocarcinomas, como o de origem gastrintestinal, pulmonar e o carcinoma medular de tireóide, e exibe um padrão de coloração canalicular nos hepatocarcinomas. O valor diagnóstico do antígeno carcinoembrionário está no fato dele ser quase sempre negativo em carcinomas renais, prostáticos, ovarianos e no mesotelioma maligno [LAGENDIJK et al. (1998), ALVES, BACCHI e VASSALLO (1999), WEISS e CHANG (1999), MCCLUGGAGE (2000)]. Outros marcadores foram utilizados para a determinação da origem específica do carcinoma, entre eles, o fator de transcrição da tireóide, que define origem pulmonar ou tireoidiana, o antígeno prostático específico que demonstra a origem prostática de uma neoplasia, e o receptor de estrógeno que sugere origem mamária, uterina ou ovariana de algumas neoplasias [ALVES, BACCHI e VASSALLO (1999), WEISS e CHANG (1999), SRODON e WESTRA (2002)].

Diferenciação entre hiperplasia mesotelial reacional, mesotelioma e adenocarcinoma – A diferenciação histológica entre o mesotelioma e o adenocarcinoma pulmonar metastático para as membranas serosas às vezes pode ser muito difícil quando baseado somente nas lâminas coradas em H.E. ou nos preparados citológicos corados pela técnica de Papanicolaou [ORDONEZ (1999), CHHIENG et al. (2000), COMIN et al. (2001), ROBERTS et al. (2001)]. ORDONEZ (1999), fez uma ampla revisão sobre todos os anticorpos que podem ser úteis para a diferenciação daquelas duas neoplasias. O autor conclui que os melhores marcadores para serem utilizados na diferenciação entre mesotelioma epitelial e adenocarcinoma são a

calrretinina e a citoqueratina 5/6 que são expressas nos mesoteliomas epiteliais e não nos adenocarcinomas, e o antígeno carcinoembrionário, que é expresso nos adenocarcinomas e não nos mesoteliomas epiteliais. No presente estudo, a imuno-histoquímica foi indicada para diferenciar entre hiperplasia mesotelial reacional, mesotelioma e adenocarcinoma em 11% dos casos. Como foi mostrado na tabela 10, os anticorpos utilizados nesta situação foram o antígeno carcinoembrionário, antígeno de membrana epitelial, e a calrretinina. Apesar de existirem algumas controvérsias na literatura, a hiperplasia mesotelial reacional é negativa para o antígeno da membrana epitelial ou apresenta fraca positividade, é negativa para o antígeno carcinoembrionário, e reage positivamente com a calrretinina; o mesotelioma é difusa e intensamente positivo para o antígeno da membrana epitelial e a calrretinina, sendo negativo para o antígeno carcinoembrionário; e o adenocarcinoma apresenta positividade difusa e intensa para o antígeno da membrana epitelial e para o antígeno carcinoembrionário, e é negativo para a calrretinina [CHHIENG et al. (2000), COMIN et al. (2001), ROBERTS et al. (2001)].

Definição de tecido de origem de neoplasias fusocelulares – No presente estudo, em 61 casos (8%) o patologista encontrou neoplasias fusocelulares benignas e malignas aonde a imuno-histoquímica foi indicada para determinar o tecido de origem. Segundo diversos autores [TAYLOR e COTE (1994), ALVES, BACCHI e VASSALLO (1999), WEISS e CHANG (1999)], os anticorpos úteis para definição de tecido de origem de uma neoplasia fusocelular são a proteína S100, a desmina, o CD34 e o CD31. Via de regra, leiomiomas e leiomiossarcomas são positivos para a desmina, que é o filamento intermediário das células musculares e negativos para a proteína S100 e para o CD34; schwanomas e sarcomas neurogênicos são negativos para a desmina e o CD34, e são positivos para a proteína S100; tumores estromais gastrintestinais são positivos para o CD34 e geralmente negativos para a desmina e a proteína S100; e tumores de origem vascular são positivos para CD31 e negativos para os outros marcadores citados [TAYLOR e COTE (1994), ALVES, BACCHI e VASSALLO (1999), WEISS e CHANG (1999)].

Determinação do tecido de origem de uma neoplasia do grupo conhecido como neoplasia maligna de células pequenas e azuis – o grupo de neoplasias conhecido como neoplasias malignas de células pequenas e azuis inclui o sarcoma de Ewing, o tumor primitivo neuroectodérmico periférico (PNET), o neuroblastoma, o

rabdomiossarcoma, o tumor desmoplásico de células redondas, alguns linfomas ou leucemias, o carcinoma de pequenas células, o carcinoma de Merkel, o osteossarcoma de pequenas células e o condrossarcoma mesenquimal [TAYLOR e COTE (1994), ALVES, BACCHI e VASSALLO (1999), WEISS e CHANG (1999), DEVOE e WEIDNER (2000)]. No presente estudo houve 2% de casos que se enquadravam nesta classificação. Os tumores de células pequenas e redondas sempre foram um grupo problemático de neoplasias no que diz respeito a diagnósticos diferenciais. DEVOE e WEIDNER (2000) revisaram os aspectos imuno-histoquímicas aplicados a estes tumores e discutiram os anticorpos mais úteis nesta situação. Alguns dos anticorpos que podem ser utilizados estão expostos na tabela 6.

Outras situações de diagnósticos diferenciais específicos – No presente estudo, as outras situações nas quais a imuno-histoquímica foi definitivamente auxiliar no diagnóstico diferencial, foram (gráfico 3): 1) depois de estabelecido o diagnóstico de linfoma nas lâminas coradas em H.E. a imuno-histoquímica foi utilizada para determinação do tipo de linfoma (4%); 2) definição entre processo neoplásico e pseudoneoplásico (5%); 3) diferenciação entre hiperplasia linfóide ou infiltrado inflamatório e linfoma, e plasmocitose reacional e plasmocitoma ou mieloma múltiplo (4%); 4) diferenciação entre carcinoma e melanoma (4%); 5) diferenciação entre carcinoma e linfoma (7%); 6) diferenciação entre carcinoma e sarcoma (6%); e 7) resolução de problemas de diagnósticos diferenciais não citados anteriormente (11%).

6.7 Imunocitoquímica

Dentre os 3706 casos de imuno-histoquímica analisados, 275 foram realizados em preparados citológicos, entre eles, esfregaços, blocos celulares ou *cytospin*. Considerando o número total de exames citológicos realizados no Jackson Memorial Hospital, 0,6% dos casos necessitou de complementação diagnóstica imunocitoquímica. Houve 112 casos de imuno-histoquímica realizados em preparados citológicos de líquidos (peritoneal, pericárdico, pleural, suco gástrico, lavado brônquico, líquor), 150 casos de punções aspirativas por agulha fina de órgãos e tumores sólidos (tabela 11), duas imuno-citoquímicas realizadas em esfregaços cervico-vaginais e em 11 casos não foi possível de se determinar a exata origem do material. A aplicação de reações imunoenzimáticas em preparados citológicos veio aumentar ainda mais a utilidade do

método na resolução de problemas de diagnósticos diferenciais [NADJI e GANJEI (1990), FETSCH e ABATI (2001)].

Em outubro de 1990, NADJI e GANJEI realizaram um estudo sobre os 12 anos de experiência com a aplicação da técnica de imunoperoxidase em preparados citológicos, ou seja, imunocitoquímica, do Departamento de Patologia do Jackson Memorial Hospital em Miami, EUA. Os autores comentam as principais características técnicas e diagnósticas da imunocitoquímica, incluindo aspectos sobre a preparação do material, fixação, avaliação dos resultados e escolha de anticorpos. Nadji e Ganjei obtiveram algumas conclusões a partir deste estudo: 1) a imunocitoquímica se tornou um auxiliar diagnóstico importante porque o método combina a morfologia celular tradicional com a localização de substâncias celulares específicas; 2) as indicações da imunocitoquímica não são tão amplas como as da imuno-histoquímica; 3) os maus resultados da técnica imunocitoquímica, quer sejam por motivos técnicos, quer seja por motivos analíticos, são tão freqüentes quanto na imuno-histoquímica; e 4) não existe nenhum marcador imunocitoquímico que diferencie uma célula maligna de uma benigna; este diagnóstico diferencial ainda é baseado na citomorfologia.

FETSCH e ABATI (2001) expõem a sua experiência quanto ao uso da imunocitoquímica em preparados citológicos de líquidos cavitários. Os autores discutem as particularidades da técnica de imunoperoxidase com este tipo de material, e eles acreditam que o bloco celular é a maneira mais adequada para se realizar imunocitoquímica em líquidos cavitários. Além disso, fizeram comentários sobre diversos anticorpos e ressaltaram aqueles mais usadas no diagnóstico diferencial entre mesotelioma maligno e adenocarcinoma metastático para serosas.

As reações imunocitoquímicas realizadas no presente estudo foram todas feitas de maneira automatizada, do mesmo modo que as reações imunoenzimáticas realizadas em tecidos. Além disso, a escolha do painel de anticorpos foi feito de maneira similar ao aplicado nas lesões teciduais. A análise da contribuição do método no diagnóstico final foi possível de ser avaliado em 40 casos que faziam parte dos 835 do grupo separado para tal finalidade (anexo 2). A imunocitoquímica contribuiu para o diagnóstico final em todos os casos e as situações de diagnóstico diferencial mais encontradas foram diferenciação entre hiperplasia mesotelial reacional, mesotelioma e adenocarcinoma, e definição da origem de adenocarcinomas metastáticos.

6.8 Controle de qualidade em imuno-histoquímica

Como mencionado anteriormente, hoje em dia a imuno-histoquímica é parte essencial da anatomia patológica diagnóstica, mas não é independente na decisão do diagnóstico final do caso. Os resultados das reações imuno-histoquímicas auxiliam e influenciam o patologista na decisão diagnóstica final, e por este motivo as reações imuno-histoquímicas têm que ser submetidas a medidas de controle de qualidade [RICKERT E MALINIAK (1989), ELIAS et al. (1989), TAYLOR (1994), SWANSON (1997), TAYLOR (2000)]. A maioria das medidas de controle de qualidade em imuno-histoquímica são semelhantes àquelas utilizadas para as colorações de rotina de um laboratório de histologia, sendo adicionadas dos métodos específicos para controle de qualidade das reações imunológicas. Como comentado por RICKERT E MALINIAK (1989) e ELIAS et al. (1989), os pontos nos quais a qualidade das reações imuno-histoquímicas é influenciada são: fixação e arquivamento de tecidos, processamento histológico dos tecidos, secção dos blocos de parafina, preparação dos tecidos antes dos mesmos serem submetidos às reações imuno-histoquímicas, qualidade dos reagentes, procedimento das colorações, instrumentação, e interpretação dos resultados com elaboração do relatório patológico final. Ou seja, erros que influenciam na qualidade da reação imuno-histoquímica e na sua utilidade diagnóstica podem ocorrer em qualquer etapa do processo, desde a colheita do material até a assinatura do patologista no laudo patológico final. Segundo WERNER et al. (2000) e o que foi discutido no primeiro encontro do "International Consensus Group of Standardization and Quality Control", em Nice, França, os principais responsáveis pelas discrepâncias de resultados imuno-histoquímicos são as variações na fixação do espécime e no processamento do tecido. As soluções apresentadas em relação ao problema da fixação foram: fixar imediatamente o espécime em formol a 10% tamponado após a cirurgia e evitar a superfixação (não mais que 24 a 48h). No que diz respeito ao processamento dos tecidos parece que os maiores problemas são encontrados na desidratação dos mesmos antes do banho em parafina. Uma maneira de evitar maus resultados seria trocar semanalmente as soluções utilizadas no preparo dos tecidos para as reações imuno-histoquímicas. O presente estudo mostrou que a fixação e o processamento tecidual não foram fatores que prejudicaram a qualidade das reações imuno-histoquímicas. Provavelmente a automação, que padroniza as reações, e os

métodos de recuperação antigênica utilizados contribuíram para minimizar a ação deletéria do formol e do processamento técnico sobre os antígenos teciduais.

É quase consenso na literatura americana que falta padronização na realização e na interpretação das reações imuno-histoquímicas [RICKERT E MALINIAK (1989), ELIAS et al. (1989), TAYLOR (1994), SWANSON (1997), TAYLOR (2000), WERNER et al. (2000)]. Uma maneira apontada por TAYLOR (1994) para controle de qualidade em imuno-histoquímica foi a criação de Programas para testes de Proficiência e Certificação em Imuno-histoquímica por entidades reguladoras americanas, aonde a qualidade das reações imuno-histoquímicas de laboratórios credenciados voluntariamente é avaliada duas vezes ao ano. MAXWELL e McCLUGGAGE (2000) propõem um método alternativo de controle de qualidade interno das reações imuno-histoquímicas ao invés de participar daqueles tipos Programas. Os autores analisaram, retrospectivamente, dois casos por mês, escolhidos aleatoriamente, de controles positivos e negativos dos 10 anticorpos mais usados na Unidade de Imuno-histoquímica de um hospital escola de Belfast, Irlanda, num período de três anos. Usando um microscópio duplo, os dois patologistas avaliaram a qualidade da reação imuno-histoquímica segundo os seguintes aspectos: intensidade da coloração, uniformidade, especificidade, coloração inespecífica de fundo e qualidade da coloração de base. As reações foram classificadas como ótimas, razoáveis ou inaceitáveis. MAXWELL e McCLUGGAGE chegaram à conclusão de que a maioria delas, com exceção da enolase neurônio específica, eram ótimas ou razoáveis. No caso da enolase neurônio específica, a maioria das reações foram classificadas como razoáveis ou ruins. Os autores propuseram o seu método como forma de manter um bom padrão de qualidade em qualquer unidade de imuno-histoquímica. A Unidade de Imuno-histoquímica do Jackson Memorial Hospital não participa de nenhum Programa para testes de Proficiência e Certificação em Imuno-histoquímica.

Segundo TAYLOR (1994), o envolvimento do órgão americano *Food and Drug Administration* (FDA) foi muito importante para controle de qualidade dos anticorpos utilizados nas reações imuno-histoquímicas, mas criar algum tipo de padronização nas reações propriamente ditas tornou-se complicado, pois as necessidades dos laboratórios que realizam este tipo de coloração são muito variáveis. HSI (2001) abordou os principais aspectos relacionados à introdução de novos anticorpos em laboratórios de imuno-histoquímica. Segundo ele, é necessário muita cautela toda vez

que um laboratório passa a utilizar um anticorpo com o qual não tem experiência prática. O autor lembrou que a performance de uma coloração imuno-histoquímica é de total responsabilidade do diretor médico do laboratório. Além disso, respeitar o prazo de validade dos anticorpos é um fator importante para evitar resultados falsos negativos. Por outro lado, DRACHENBERG et al. (2001) mostrou que os vários anticorpos poderiam ser usados de maneira apropriada, em média, por 32,7 meses após a data de expiração estipulada no rótulo. Os autores enfatizam que mais do que seguir prazos de validade determinados por produtoras de anticorpos para manter a eficácia das colorações, é preciso estabelecer programas de controle de qualidade em todos os laboratórios de imuno-histoquímica. A qualidade dos anticorpos utilizados na Unidade de Imuno-histoquímica do Jackson Memorial Hospital é analisada diariamente, toda vez que um caso é avaliado. Reações com controles positivos são realizadas para cada anticorpo, utilizando-se o mesmo procedimento e as mesmas diluições aplicadas nas reações imuno-histoquímicas do tecido em estudo. Toda vez que uma reação no tecido em estudo tinha resultado negativo, a positividade da reação no controle era verificada.

Outra alternativa para avaliar a qualidade das reações imuno-histoquímicas foi descrita por BATTIFORA (1991). Ele propôs o uso da positividade para a vimentina como fator de controle de qualidade das outras reações imuno-histoquímicas com outros anticorpos. O autor estudou os efeitos da fixação prolongada e do aquecimento dos espécimes na positividade imuno-histoquímica para a vimentina. Ele notou gradativa diminuição na positividade imuno-histoquímica para aquele anticorpo quando se aumentava o tempo de fixação em formol (mais de 72h) ou quando o espécime era super aquecido, tanto no processo de fixação como na inclusão em parafina. Já que a vimentina está presente, de algum modo, em virtualmente todos os tecidos (vasos sangüíneos, p.ex), ele sugere que o *status* da positividade para a vimentina correlaciona-se bem com as condições de reação imuno-histoquímica de qualquer outro anticorpo. Apesar disso, Battifora comentou que a vimentina não substitui o controle interno positivo para o mesmo anticorpo em estudo, que continua sendo o mais recomendado. Diferentemente do que foi proposto por BATTIFORA (1991), a vimentina não é usada como parâmetro para avaliação do "status" dos epitopos dos tecidos, pois segundo opinião do Dr. Nadji, cada anticorpo tem uma sensibilidade e especificidade diferentes e a positividade da vimentina não pode ser utilizada como medida de comparação.

6.9 Indicação do exame imuno-histoquímico e a relação custo/benefício

A imuno-histoquímica é indicada apenas numa pequena porcentagem dos casos de um laboratório de patologia cirúrgica de hospitais gerais. A decisão de indicar ou não o exame imuno-histoquímico em um determinado caso depende tanto da relação custo/benefício em termos financeiros, quanto da real contribuição do exame para definição diagnóstica do caso. WICK, RITTER e SWANSON (1999) discutem o impacto dos resultados da imuno-histoquímica na decisão do tipo de tratamento a ser oferecido ao paciente. Dentro deste contexto, eles comentam que a imuno-histoquímica tem papel fundamental quando é usada para identificar agentes infecciosos e definir a linhagem celular de origem da neoplasia. Já quando a imuno-histoquímica é aplicada para determinação de fatores prognósticos ou índices proliferativos, na opinião dos autores, o método tem valor questionável quando se analisa a importância do resultado na decisão terapêutica. Por outro lado, LEONG e WRIGHT (1987) concluem que a imuno-histoquímica é um teste que apresenta relação custo/benefício positiva, mas que as reações devem sempre ser interpretadas com cautela levando em conta os achados morfológicos das lâminas coradas em H.E. e os dados clínicos. RAAB (2000) tomou como exemplo três situações com pacientes e tumores diferentes, e analisou hipoteticamente as diferentes conseqüências e custos de tratamento se a imuno-histoquímica fosse ou não fosse realizada, na expectativa de vida dos pacientes, na exatidão diagnóstica e no prognóstico. O autor prova que mesmo se a imuno-histoquímica custasse cinco a dez vezes mais, ainda assim traria grandes vantagens no seu uso. Segundo CHAN (2000), algumas medidas que podem contribuir para a diminuição do custo dos exames imuno-histoquímicos são: diminuição no número de anticorpos a serem usados em cada caso, substituição do controle positivo em lâmina separada por um controle "multi-tecido" montado na mesma lâmina que foi realizada a reação, economia no uso de anticorpos e usar os anticorpos um pouco além do "prazo de validade".

No estudo de TORRES, NORONHA e TELLES (1995) o porcentual de casos do laboratório que foram submetidos a reações imuno-histoquímicas foi de 0,73% (todos casos de biópsias). No caso do Jackson Memorial Hospital, por ser hospital de referência nos Estados Unidos em patologia e em imuno-histoquímica, esta taxa foi de 9,3% nas biópsias e 0,6% nos preparados citológicos. A decisão de indicação ou não de complementação diagnóstica através da imuno-histoquímica era de total

responsabilidade do patologista que analisava o caso, geralmente consultando patologistas de maior experiência quando necessário. O real impacto do exame imuno-histoquímico sobre os custos do tratamento médico do paciente e sobre o prognóstico e qualidade de vida não foram avaliados no presente estudo.

7 CONCLUSÕES

- Os sítios anatômicos mais comuns de origem das biópsias foram fígado, pulmão e linfonodo e em cada caso utilizaram-se em média 4,1 anticorpos.
- O principal motivo para indicação de exame imuno-histoquímico foi elucidação de problemas de diagnósticos diferenciais entre lesões neoplásicas e pseudoneoplásicas; outras duas aplicações importantes do método foram determinação de fatores prognósticos ou índices proliferativos, e identificação de microrganismos, células, estruturas ou materiais.
- O estudo imuno-histoquímico auxiliou na formulação do diagnóstico anatomopatológico final na grande maioria dos casos.
- Os fatores que influenciaram de maneira negativa o estudo imuno-histoquímico foram a exigüidade de algumas amostras e a presença de necrose extensa ou indiferenciação extrema em algumas neoplasias.
- Os principais dilemas de diagnóstico diferencial para os quais a imuno-histoquímica foi indicada foram a elucidação do órgão de origem de adenocarcinomas, diferenciação entre hiperplasia mesotelial reacional, mesotelioma e adenocarcinoma, e determinação do tecido de origem de neoplasias indiferenciadas.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, V. A. F.; BACCHI, C. E.; VASSALLO, J. **Manual de Imuno-histoquímica**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Patologia, 1999.

BATTIFORA, H. Assessment of antigen damage in immunohistochemistry. The vimentin internal control. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 96, n. 5, p. 669-671, 1991.

BOENISH, T. **Dako Handbook on Immunohistochemical Staining Methods**. 3. ed. Carpinteria, California: Dako Corporation, 2001.

CHAN, J. K. Advances in immunohistochemistry: impact on surgical pathology practice. **Seminars in Diagnostic Pathology,** v. 17, n. 3, p. 170-177, 2000.

CHHIENG, D. C.; YEE, H.; SCHAEFER, D.; CANGIARELLA, J. F.; JAGIRDAR, J.; CHIRIBOGA, L. A.; COHEN, J. M. Calretinin staining pattern aids in the differentiation of mesothelioma from adenocarcinoma in serous fluids. **Cancer**, v. 90, n. 3, p. 194-200, 2000.

COMIN, C. E.; NOVELLI, L.; BODDI, V.; PAGLIERANI, M.; DINI, S. Calretinin, thrombomodulin, CEA, and CD15: a useful combination pf immunohistochemical markers for differentiating pleural epithelial mesothelioma from peripheral pulmonary adenocarcinoma. **Human Pathology**, v. 32, n. 5, p. 529-36, 2001.

DEVOE, K.; WEIDNER, N. Immunohistochemistry of small round-cell tumors. **Seminars in Diagnostic Pathology**, v. 17, n. 3, p. 216-224, 2000.

DRACHENBERG, C. B.; PAPADIMITRIOU, J. C; BALATON, A. J.; VAURY, P. The total test approach to standardization of immunohistochemistry. **Archives of Pathology and Laboratory Medicine**, v. 125, n. 4, p. 471, 2001.

ELIAS, J. M.; GOWN, A. M.; NAKAMURA, R. M.; WILBUR, D. C.; HERMAN, G. E.; JAFFE, E. S.; BATTIFORA, H.; BRIGATI, J. Special report: quality control in immunohistochemistry. Report of a workshop sponsored by the Biological Stain Comission. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 92, n. 6, p. 836-843, 1989.

FETSCH, P. A.; ABATI, A. Immunocytochemistry in effusion cytology: a contemporary review. **Cancer**, v. 93, n. 5, p. 293-308, 2001.

GANCBERG, D.; LESPAGNARD, L.; ROUAS, G.; PAESMANS, M.; PICCART, M.; DILEO, A.; NOGARET, J-M.; HERTENS, D.; VERHEST, A.; LARSIMONT, D. Sensitivity of HER-2/neu antibodies in archival tissue samples of invasive breast carcinomas. Correlation with oncogene amplification in 160 cases. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 113, p. 675-682, 2000.

HAMAR, S. P. Metastatic adenocarcinoma of unknown primary origin. **Human Pathology**, v. 29, n. 12, p. 1393-402, 1998.

HSI, E. D. A practical approach for evaluating new antibodies in the clinical immunohistochemistry laboratory. **Archives of Pathology and Laboratory Medicine**, v. 125, n. 2, p. 289-294, 2001.

LAGENDIJK, J. H.; MULLINK, H.; VAN DIEST, P. J.; MEIJER, G. A.; MEIJER, C. J. Tracing the origin of adenocarcinomas with unknown primary using immunohistochemistry: differential diagnosis between colonic and ovarian carcinomas as primary sites. **Human Pathology**, v. 29, n. 5, p. 491-7, 1998.

LEONG, A. S-Y.; WRIGHT, J. The contribution of immunohistochemical staining in tumor diagnosis. Histopathology, v. 11, n. 12, p. 1295-1305, 1987.

LINDER, J. Immunohistochemistry in surgical pathology. The case of the undifferentiated malignant neoplasm. **Clinical Laboratory and Medicine**, v. 10, n. 1, p. 59-76, 1990.

MAXWELL, P.; McCLUGGAGE, W. G. Audit and internal quality control in immunohistochemistry. **Journal of Clinical Pathology,** v. 53., n. 12, p. 929-932, 2000.

McCLUGGAGE, W. G. Recent advances in immunohistochemistry in the diagnosis of ovarian neoplasms. **Journal of Clinical Pathology**, v. 53, n. 5, p. 327-334, 2000.

NADJI, M. Immunoperoxidase techniques. Facts and artifacts. **American Journal of Dermatopathology,** v. 8, n. 1, p. 32-36, 1986.

NADJI, M.; GANJEI, P. Immunocytochemistry in diagnosis cytology: a 12-year perspective. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 94, p. 470-475, 1990.

O'LEARY, T. J. Standardization in immunohistochemistry. **Applied Immunohistochemistry and Molecular Morphology**, v. 9, n. 1, p. 3-8, 2001.

ORDONEZ, N. G. Role of immunohistochemistry in differentiating epithelial mesothelioma from adenocarcinoma. Review and update. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 112, n. 1, p. 75-89, 1999.

RAAB, S. S. The cost-effectiveness of immunohistochemistry. **Archives of Pathology and Laboratory Medicine**, v. 124, n. 8, p. 1185-1191, 2000.

RICKERT, R. R.; MALINIAK, R. M. Intralaboratory quality assurance of immunohistochemical procedures. Recommended practices for daily application. **Archives of Pathology and Laboratory Medicine**, v. 113, n. 6, p. 673-679, 1989.

ROBERTS, F.; HARPER, C. M.; DOWNIE, I.; BURNETT, R. A. Immunohistochemical analysis still has a limited role in the diagnosis of malignant mesothelioma. A study of thirteen antibodies. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 116, n. 2, p. 253-62, 2001.

ROSAI, J. Special techniques in surgical pathology. In:_____. **Ackerman's Surgical Pathology**. 8. ed. Nova Iorque: Mosby-Year Book, Inc. 1996. p. 29-62.

RUDIGER, T.; HOFLER, H.; KREIPE, H. H.; NIZZE, H.; PFEIFER, U.; STEIN, H.; DALLENBACH, F. E.; FISCHER, H. P.; MENGEL, M.; VON WASIELEWSKI, R.; MULLER-HERMELINK, H. K. Quality assurance in immunohistochemistry: results of an interlaboratory trial involving 172 pathologists. **American Journal of Surgical Pathology**, v. 26, n. 7, p. 873-882, 2002.

SCHMITT, F. C.; KIMAID, P. A.; CAMPOS, P. F.; BACCHI, C. E. Utilidade dos métodos imuno-histoquímicos para o diagnóstico anatomopatológico. **Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo**, v. 46, p. 26-30, 1991.

SRODON, M.; WESTRA, W. H. Immunohistochemical staining for thyroid transcription factor-1: a helpful aid in discerning primary site of tumor origin in patients with brain metastases. **Human Pathology**, v. 33, p. 642-645, 2002.

SWANSON, P. E. Foundations of immunohistochemistry. A practical review. **American Journal of Clinical Pathology,** v. 90, n. 3, p. 333-339, 1988.

SWANSON, P. E. HIERanarchy: the state of the art in immunohistochemistry. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 107, n. 2, p. 139-140, 1997.

TAYLOR, C. R. An exaltation of experts: concerted efforts in the standardization of immunohistochemistry. **Human Pathology**, v. 25, n.1, p. 2-11, 1994.

TAYLOR, C. R. The total test approach to standardization of immunohistochemistry. **Archives of Pathology and Laboratory Medicine**, v. 124, n. 7, p. 945-951, 2000.

TAYLOR, C. R.; COTE, R. J. **Major Problems in Pathology**. 2. ed. Nova Iorque: W.B. Saunders Company, 1994. v. 19: Immunomicroscopy: a diagnostic tool for the surgical pathologist.

TORRES, L. F. B.; NORONHA, L.; TELLES, J. E. A importância da imuno-histoquímica no diagnóstico anatomopatológico em hospital geral: análise de 885 casos. **Jornal Brasileiro de Patologia**, v. 31, n.2, 1995.

TORRES, L. F. B.; SLUMINSKY, B. G.; TIRONI, F. A.; NORONHA, L.; GIRON, R. L.; TELLES, J. E. Q. A contribuição da imuno-histoquímica em patologia cirúrgica: experiência de 10 anos. **Revista Médica do Paraná,** v. 56, n. 2, p.31-38, 1998.

TORRES, L. F. B.; WERNER, B.; COSTA, D. M.; COLLAÇO, L. M. Contribuição da imuno-histoquímica na avaliação do carcinoma de mama: análise dos receptores de estrogênio, progesterona e antígeno carcino-embrionário em 320 casos. **Revista Médica do Paraná**, v. 53, n. 3/4, p. 28-34, 1996.

TOT, T. Adenocarcinomas metastatic to the liver: the value of cytokeratins 20 and 7 in the search for unknown primary tumors. **Cancer**, v. 85, n. 1, p. 171-177, 1999.

VANG, R.; COOLEY, L. D.; HARRISON, W. R.; REESE, T.; ABRAMS, J. Immunohistochemical determination of HER-2/neu expression in invasive breast carcinoma. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 113, p. 669-674, 2000.

WEISS, L. M.; CHANG, K. L. Practical applications of immunohistochemistry. Short course handout. In: UNITED STATES AND CANADIAN ACADEMY OF PATHOLOGY ANNUAL MEETING, 1999.

WERNER, M.; CHOTT, A.; FABIANO, A.; BATTIFORA H. Effect of formalin tissue fixation and processing on immunohistochemistry. **American Journal of Surgical Pathology,** v. 24, n. 7, p. 1016-1019, 2000.

WICK, M. R. Quality assurance in diagnostic immunohistochemistry. A discipline coming of age. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 92, n. 6, p. 844, 1989.

WICK, M. R.; RITTER, J. H.; SWANSON, P. E. The impact of diagnostic immunohistochemistry on patient outcomes. **Clinical Laboratory and Medicine,** v. 19, n. 4, p. 794-814, 1999.

ANEXOS

ANEXO 1 - CARTA DE AUTORIZAÇÃO DO DOUTOR MEHDAD NADJI, CHEFE DA UNIDADE DE IMUNO-HISTOQUÍMICA DO JACKSON MEMORIAL HOSPITAL, MIAMI, ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA, PARA UTILIZAÇÃO DOS DADOS NA PRESENTE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

UNIVERSITY OF Miami
SCHOOL OF MEDICINE

November 16, 2001

Dr. Luiz F. Bleggi Torres
Chief, Servico de Anatomia Patologica
Hospital de Clinicas
Rua General Carneiro, 181
80060-900
Curitiba – PR – Brasil

Dear Dr. Torres:

I am writing to you on behalf of Betina Werner, MD. As you are aware, Dr. Werner spent a twelve-month observership in the year 2000 at the Department of Pathology, University of Miami/Jackson Memorial Medical Center. During this time she was exposed to a large number of complicated surgical and cytopathology cases both from our own hospital patients and from other institutions as consultations. Most of these cases required immunohistochemistry for the final diagnosis and classification. In addition to that, Dr. Werner reviewed all our immunohistochemistry teaching cases collected since 1995, and put together a database on the frequency of the utilization of the technique in surgical and cytopathology as well as the average number of antibodies used and the overall contribution of the tests to the establishment of a final diagnosis.

I therefore, have no objection in Dr. Werner using that data for her Master's Degree project. In fact, I will be happy to provide her with additional information if she requires. I am certain that her expertise in this field will be a great asset to your academic institution.

With my personal regards I remain,
Sincerely yours,

M. Nadji, M.D.
Professor of Pathology

MN/amc

Department of Pathology
P.O. Box 016960
Miami, Florida 33101
Location: 1611 N.W. 12th Avenue, East Tower, Rm. 2147
(305) 585-6194 Fax (305) 585-2598

ANEXO 2 – 835 CASOS AVALIADOS QUANTO AO GRAU DE AUXÍLIO DA IMUNO-HISTOQUÍMICA NA DECISÃO ENTRE DIAGNÓSTICOS DIFERENCIAIS FORMULADOS NAS LÂMINAS CORADAS EM H.E.

ANEXO 2 - 835 casos nos quais a imuno-histoquímica foi utilizada para resolver problemas de diagnóstico diferencial

	CASO	IDADE	SEXO	LOCAL	DIAGNÓSTICO SUSPEITO	DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	ANTICORPOS E RESULTADOS	DIAGNÓSTICO FINAL
1	C98-20896	65	F	Fluido pleural	Adenocarcinoma	Metástase carcinoma mama	ER+	Carcinoma de mama metastático
2	C99-1052	53	F	Líquor	Carcinoma	Alterações reacionais/inflamatórias	CEA+, EMA+	Adenocarcinoma metastático
3	C99-1056	47	M	Fluido peritoneal	Adenocarcinoma	Mesotelioma	CEA+, EMA+	Adenocarcinoma
4	C99-10653			Tireóide	Carcinoma medular de tireóide	Carcinoma folicular	CEA-, CALC+	Carcinoma medular de tireóide
5	C99-11390		F	Fluido pleural	Mesotelioma	Células mesoteliais reacionais	EMA+	Mesotelioma
6	C99-12647		M	Fluido peritoneal	Carcinoma	Primário de mama	ER+	Carcinoma metastático de mama
7	C99-12872			Femur	Carcinoma metastático	Origem	KER/TTF+	Adenocarcinoma de pulmão
8	C99-12882	75	M	Pulmão	Carcinoma metastático	Origem	TTF-, CK20+	Carcinoma metastático de cólon
9	C99-141	11	F	Fluido peritoneal	Infiltração por leucemia	Inflamação	CD31+, MPO+	Infiltração por leucemia
10	C99-141	11	F	Fluido peritoneal	Infiltração por leucemia	Inflamação	CD31+, MPO+	Infiltração por leucemia
11	C99-144	74	F	Linfonodo	Linfoma	Excluir carcinoma	LCA+	Processo linfoproliferativo atípico
12	C99-14511		F	Fluido pleural	Adenocarcinoma	Origem	ER+	Carcinoma de mama metastático
13	C99-14519		M	Fluido pleural	Adenocarcinoma	Mesotelioma	CAL+, EMA-	Células mesoteliais reacionais
14	C99-14819		F	Fluido pleural	Adenocarcinoma	Mesotelioma	EMA-, CAL+	Células mesoteliais reacionais
15	C99-15012		M	Fluido pleural	Carcinoma	Células mesoteliais reacionais	EMA-	Células mesoteliais reacionais
16	C99-15017		M	Fluido pleural	Mesotelioma	Células mesoteliais reacionais	EMA-	Células mesoteliais reacionais
17	C99-1546	48	F	Fluido pleural	Células mesoteliais reacionais	Mesotelioma	EMA-, CAL+	Células mesoteliais reacionais
18	C99-15575			Fluido pleural	Células mesoteliais reacionais	Mesotelioma	CEA-, EMA/CAL+	Mesotelioma
19	C99-1582	72	M	Líquor	Carcinoma	Células reacionais	CEA-, EMA+	Carcinoma
20	C99-17	61	F	Fluido pericárdico	Células mesoteliais reacionais	Adenocarcinoma	EMA-	Células mesoteliais reacionais
21	C99-1701	61	F	Linfonodo	Carcinoma de pequenas células	Hiperplasia linfóide	KER-	Hiperplasia linfóide
22	C99-1702	61	M	Fluido peritoneal	Carcinoma	Mesotelioma	CEA-, EMA+, CAL-	Carcinoma
23	C99-1729	71	F	Líquor	Carcinoma	Mesotelioma	EMA+, CEA+	Adenocarcinoma
24	C99-17394			Fluido pleural	Células mesoteliais reacionais	Mesotelioma	EMA-	Células mesoteliais reacionais
25	C99-1901	58	F	Fluido pleural	Carcinoma	Mesotelioma	CEA+, EMA+	Adenocarcinoma
26	C99-2004	59	M	Fluido peritoneal	Células mesoteliais reacionais	Adenocarcinoma	EMA-, CAL+	Células mesoteliais reacionais
27	C99-2007	49	F	Fluido peritoneal	Adenocarcinoma	Mesotelioma	EMA+, CEA-, CAL-	Adenocarcinoma
28	C99-20621			Fluido pleural	Carcinoma	Mesotelioma	CAL-, EMA+	Carcinoma
29	C99-2073	36	F	Fluido peritoneal	Adenocarcinoma	Mesotelioma	CAL-, CEA+, EMA+	Adenocarcinoma
30	C99-23	34	F	Mama	Linfonodo	Fibroadenoma	LCA+	Infiltrado linfocitário atípico
31	C99-2434	9	F	Linfonodo	Doença de Hodgkin	Linfoma anaplásico	CD15-, CD30+	Doença de Hodgkin X Linfoma anaplásico
32	C99-24542		F	Fluido pleural	Carcinoma	Origem	ER+, TTF-	Carcinoma de mama metastático
33	C99-2718			Parótida	Carcinoma de pequenas células	Carcinoma indiferenciado	KER+, CHRG+	Carcinoma de pequenas células
34	C99-3204			Fluido pleural	Rabdomiossarcoma	Outro sarcoma	DES+, MGN+	Rabdomiossarcoma
35	C99-511	51	F	Fluido pleural	Células mesoteliais reacionais	Adenocarcinoma	EMA-	Células mesoteliais reacionais
36	C99-787	64	F	Fluido pleural	Células mesoteliais reacionais	Adenocarcinoma	EMA-, CEA-	Células mesoteliais reacionais
37	C99-799	47	F	Fluido pleural	Células mesoteliais reacionais	Adenocarcinoma	EMA-, CEA-	Células mesoteliais reacionais
38	C99-806	67	M	Fígado	Hepatocarcinoma	Carcinoma metastático	RCA/AFP/HCC nc	Adenocarcinoma pouco diferenciado
39	C99-9308			Fluido pleural	Adenocarcinoma	Origem	TTF-1+	Adenocarcinoma metastático de pulmão
40	C99-966	56	F	Fluido peritoneal	Adenocarcinoma	Células mesoteliais reacionais	CAL-, EMA+	Adenocarcinoma
41	P98-3704	19	M	Linfonodo	Doença de Hodgkin	Linfoma	CD30+, CD15/CD20/CD3/EMA -	Doença de Hodgkin
42	P98-5650	33	M	Íleo/sacro	Recorrência de doença de Hodgkin	Inflamação	CD30+, LCA?	Doença de Hodgkin
43	P98-5704	92	M	Fêmur	Carcinoma metastático	Primário de próstata	KER+, PSA+, CEA-	Cracinoma metastático de próstata
44	P98-5707	62	F	Sacro	Adenocarcinoma metastático	Primário de cólon	CK20+	Adenocarcinoma metastático de cólon
45	P98-5725	87	M	Esôfago	Tecido de granulação	Carcinoma	KER-	Esofagite ulcerada com tecido de granulação
46	P99-133	55	M	Ânus	Carcinoma	Tecido de granulação	KER+	Carcinoma de células escamosas invasor
47	P99-1743	32	F	Partes moles	Melanoma	Carcinoma e linfoma	S100+, KER/LCA-	Melanoma
48	P99-1952	76	F	Linfonodo	Carcinoma de Merkel	Outro carcinoma	KER/CHRG/CK20+, CK7-	Carcinoma de Merkel
49	P99-239	42	F	Pele	Sarcoma de Kaposi	Cicatriz	CD31-	Cicatriz
50	P99-33	74	M	Couro cabeludo	Carcinoma de próstata metastático	Outros	CK+, PSA-, CEA-	Carcinoma metastático
51	P99-34	37	F	Osso	Linfoma	Carcinoma	KER-, CD20+, CD30nc	Linfoma
52	P99-342	26	M	Linfonodo	Carcinoma medular de tireóide	Carcinoma folicular	CEA+, CAL+	Carcinoma medular de tireóide
53	P99-364	41	F	Língua	Hiperplasia linfóide	Linfoma	BCL2-	Hiperplasia linfóide
54	P99-3648	73	F	Pele	Carcinoma metastático de pequenas células	Linfoma	KER/SYN/TTF+, SYN/LCA/ER/PR-	Carcinoma metastático de pequenas células primário de pulmão
55	P99-3659			Pescoço	Carcinoma medular de tireóide	Carcinoma folicular	CEA/CALC/CHRG+	Carcinoma medular
56	P99-3686			Pele	Melanoma	Carcinoma	S100+, KER-	Melanoma
57	P99-369	66	M	Fígado	Hepatocarcinoma	Adenocarcinoma metastático	CK7+, CEA+, AFP-, EMA-	Hepatocarcinoma
58	P99-393	59	F	Vagina	Carcinoma	Melanoma	S100-, ER+, CA125+	Adenocarcinoma metastático de origem mulleriana
59	P99-4009	81	M	Linfonodo	Neoplasia metastática	Carcinoma, sarcoma, melanoma	KER/DES/EMA/CD34-, S100+	Melanoma metastático
60	P99-41	76	M	Coxa	Pseudolinfoma	Linfoma	CD20-, CD3-, CD30+, CD15-	Linfoma
61	P99-446	72	M	Esôfago	Carcinoma	Alterações reacionais/inflamatórias	KER-	Alterações reacionais/inflamatórias

ANEXO 2 - 835 casos nos quais a imuno-histoquímica foi utilizada para resolver problemas de diagnóstico diferencial

	CASO	IDADE	SEXO	LOCAL	DIAGNÓSTICO SUSPEITO	DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	ANTICORPOS E RESULTADOS	DIAGNÓSTICO FINAL
62	P99-4618		M	Duodeno	Leiomioma	Tumor do estroma gastrointestinal	CD34/CKIT-, DES+	Leiomioma
63	P99-493	16	M	Partes moles	Tumor de células gigantes	Outra neoplasia fusocelular	S100-, DES-	Tumor de células gigantes
64	P99-497	39	F	Nasofaringe	Linfoma	Infiltrado inflamatório	KER-, CD3+, CD20+	Infiltrado inflamatório
65	P99-5118				Carcinoma	Linfoma, melanoma	KER/CD3/S100-, LCA/CD20+	Linfoma B de grandes células
66	P99-519	56	F	Pele	Fibromatose	Neurofibroma	S100-	Fibromatose
67	P99-5273				Carcinoma medular	Carcinoma folicular	CALC/CEA+, TGB-	Carcinoma medular
68	P99-544	45	M	Partes moles	Neuroblastoma	Outro	SYN+, KER/S100/NB/DES all -	Estesioneuroblastoma
69	P99-563	51	F	Linfonodo	Hiperplasia linfóide	Linfoma	CD3+, CD20+, CD18+, BCL2-	Hiperplasia linfóide
70	P99-5681		M	Órbitaal mass	Melanoma	Linfoma	DES/TYROS-, MELAN+	Melanoma
71	P99-6014		M	Linfonodo	Linfoma	Tipo	CD20+, CD3/CD30-	Linfoma B de grandes células
72	P99-61	77	M	Partes moles	Sarcoma	Fibrohistiocitoma maligno	S100-, DES-, KER-	Fibrohistiocitoma maligno
73	P99-663	53	M	Mucosa nasal	Melanoma	Carcinoma	S100+, HMB45+	Melanoma
74	P99-667	54	F	Brônquio	Adenocarcinoma pouco diferenciado	Carcinoma epidermóide	CEA+, KER+	Adenocarcinoma pouco diferenciado
75	P99-75	81	M	Partes moles	Lipoleiomiossarcoma	Outro sarcoma	HMB45-, DES+, CALRET+, CD31-	Lipoleiomiossarcoma
76	P99-85	56	M	Pele	Melanoma	Carcinoma	S100+	Melanoma
77	S95-18803			Fígado	Carcinoma renal	Hepatocarcinoma	EMA+, RCA+, HCC-, CK7-	Carcinoma metastático renal
78	S98-20826			Língua	Carcinoma de pequenas células	Origem	TTF-, CK20+	Carcinoma de pequenas células
79	S98-22569	32	F	Tuba uterina	Inflamação	Carcinoma	KER-, LCA+	Inflamação crônica
80	S98-25002	62	F	Osso	Carcinoma metastático	Primário de mama	ER+, PR-, HER2+	Adenocarcinoma metastático de mama
81	S98-25022	67	M	Mastoid	Gliose	Linfoma	GFAP+, CD20nc	Tecido glial inflamado e osso
82	S98-25096	56	M	Estômago	Carcinoma de pequenas células	Carcinoma indiferenciado	KER+, SYN+	Carcinoma de pequenas células
83	S99-100	41	F	Adenóide	Hiperplasia linfóide	Linfoma	CD20+, CD3+, BCL2-	Hiperplasia linfóide
84	S99-1017	5	M	Massa abdominal	Fibromatose	Neurofibroma	S100-	Fibromatose
85	S99-10718			Mediastino	Carcinoma	Linfoma, melanoma	KER, LCA, S100, CEA, TTF, CHRG, SYN	Carcinoma de pequenas células
86	S99-1213	35	M	SNC	Glioma	Alterações reacionais/inflamatórias	GFAP+, LCA?	Astrocitoma
87	S99-12810	55	M	Etmóide	Carcinoma	Linfoma, melanoma	KER/CHRG+, LCA/S100-	Carcinoma de pequenas células
88	S99-1318	57	M	Fígado	Linfoma	Carcinoma	CD20-, CD3-, CD30-, KER-	Linfoma provável
89	S99-1368	33	M	Pele	Alterações reacionais/inflamatórias	Sarcoma de Kaposi	CD31-	Alterações reacionais/inflamatórias por picada de inseto
90	S99-1379	13	M	Palato mole	Plasmocitoma	Infiltraçaõ plasmocitária reacional	K+, L+	Infiltraçaõ plasmocitária reacional
91	S99-13854	58	M	Pulmão	Sarcoma	Carcinoma, melanoma	KER/DES/CD34/CD31-, S100/HMB/MELAN/TYR+	Melanoma fusocelular
92	S99-13997	20	M	Testículo	Necrose	Tumor residual	CD68/S100/CD1/CD20-, PLAP/CD30/KER+	Tumor de células germinativas
93	S99-1405	41	M	Fígado	Carcinoma metastático	Colangiocarcinoma	CK7+, CK20-, CEA+, CHRG-	Colangiocarcinoma ou carcinoma metastático de pulmão ou pâncreas
94	S99-1406	30	F	SNC	Meningioma	Paraganglioma	CD34-, KER-, S100-, EMA+, CHROG-, GFAP-	Meningioma
95	S99-1503	77	M	Delgado	Necrose gordurosa	Carcinoma	EMA-	Necrose gordurosa
96	S99-15045			Partes moles	Neoplasia fusocelular benigna	Schwanoma	KER/DES/CD34/PR-, S100+	Schwanoma
97	S99-15353	49	M	Partes moles	Sarcoma	Tipo	DES/S100/KER-, CD34+	Tumor do estroma gastrointestinal
98	S99-1551	28	F	Pâncreas	Neoplasia papilar sólida e cística	Tumor das ilhotas pancreáticas	CHRG-, NSE+	Neoplasia papilar sólida e cística
99	S99-15811	70	M	Epidural	Carcinoma	Origem	CEA/PSA/KER/EMA+, TTF-	Carcinoma de próstata metastático
100	S99-15855	45	F	SNC	Carcinoma metastático	Origem	ER+, HER2-, TTF-, CA125+	Carcinoma metastático, ?Mama ?Gyn
101	S99-15993	41	F	SNC	Hematoma	Outros componentes	S100/EMA+, GFA/KER-	Células meningoteliais
102	S99-16122	87	M	Bexiga	Carcinoma	Próstata?	PAPH/PSA+, CEA-	Adenocarcinoma de próstata
103	S99-16187	65	F	Pâncreas	Tumor das ilhotas pancreáticas	Glucagonoma	CHRG/INS+, GLUC/SOMAT-	Insulinoma
104	S99-16198		F	Ovário	Tumor de células da granulosa	Outro	INH+, EMA/KER-	Tumor de células da granulosa
105	S99-1625	72	F	SNC	Cordoma	Carcinoma	S100+, EMA+	Cordoma
106	S99-16390	55	F	Ovário	Tumor de células da granulosa	Carcinoma	NSE/INH/CAL+, KER/CD34-	Tumor de células da granulosa
107	S99-165	57	F	Fígado	Neoplasia maligna indiferenciada	Linfoma, carcinoma, sarcoma	CD20-, CD3-, KER-, EMA-, S100-, DES-, LCA-, CD30-	Neoplasia maligna indiferenciada
108	S99-16553	36	F	Pele	Carcinoma basocelular	Carcinoma de Merkel	CK20/CHRG-	Carcinoma basocelular
109	S99-16621	80	F	Colon	Carcinoma	Melanoma	KER/CD31-, S100/HMB45/MELAN+	Melanoma
110	S99-17039			Pele	Carcinoma epidermóide	Angiossarcoma	KER+, CD31-	Carcinoma de células escamosas
111	S99-17087			Cervix	Carcinossarcoma	Linfoma	DES/MGN/KER+, LCA-	Carcinossarcoma
112	S99-17128	64	F	Pulmão	Adenocarcinoma	Carcinoma de cólon	CK20+, CK7/TTF-	Adenocarcinoma de cólon metastático
113	S99-17129			Vertebra	Linfoma	Carcinoma, melanoma	CD20+, CD3/MPO/KER/S100/K/L-	Linfoma B de grandes células
114	S99-17166	78	F	Pele	Tecido de granulação	Fibrohistiocitoma	CD31/CD68/CD34-, F8+	Tecido de granulação
115	S99-1722	62	F	Pulmão	Adenocarcinoma	Carcinoma de mama metastático	ER-	Carcinoma bronquíolo-alveolar
116	S99-17238	43	F	Ovário	Tumor de células da granulosa	Carcinoma, sarcoma	KER/INH+, DES/EMA-	Tumor de células da granulosa
117	S99-17327	33	F	Pâncreas	Insulinoma	Glucagonoma	INS/CHRG+, GLUC-	Insulinoma
118	S99-17339	58	M	Pulmão	Adenocarcinoma	Mesotelioma	CEA+, CAL-	Adenocarcinoma
119	S99-1750	57	F	Linfonodo	Doença de Hodgkin	Linfoma	LCA+, CD3/CD20/CD15/CD30/KER all -	Linfoma
120	S99-1750	59	F	Linfonodo	Doença de Hodgkin	Linfoma	LCA+, CD3/CD20/CD15/CD30/KER/S100 all -	Linfoma
121	S99-17524	64	M	Fígado	Carcinoma metastático	Hepatocarcinoma	CK7/HCC/AFP/CEA+	Hepatocarcinoma
122	S99-17650	73	M	Estômago	Adenocarcinoma	Linfoma	KER+	Adenocarcinoma pouco diferenciado de céls em anel de sinete

ANEXO 2 - 835 casos nos quais a imuno-histoquímica foi utilizada para resolver problemas de diagnóstico diferencial

	CASO	IDADE	SEXO	LOCAL	DIAGNÓSTICO SUSPEITO	DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	ANTICORPOS E RESULTADOS	DIAGNÓSTICO FINAL
123	S99-17717	26	M	Pele	Linfoma	Tipo	CD20/CD30+, CD3/MPO-	Linfoma de grandes células
124	S99-17779			Estômago	Linfoma	Carcinoma, melanoma, sarcoma	KER/LCA/CD20/CD31/CD34-, S100/HMB/MELAN+	Melanoma
125	S99-17856			Anus	Tumor carcinóide	Carcinoma de próstata	PSA/CEA-, CHRG/SYN/SER+	Tumor carcinóide
126	S99-1803	14	F	Amígdala	Hiperplasia linfóide	Linfoma	CD3+, CD20+, BCL2-	Hiperplasia linfóide
127	S99-1806	58	M	Língua	Tecido de granulação	Carcinoma	KER+, CD31+	Tecido de granulação
128	S99-18116	47	M	Pulmão	Carcinoma de pequenas células	Linfoma	KER/SYN+, CHRG-	Carcinoma de pequenas células
129	S99-18173	31	F	Tireóide	Carcinoma medular	Outro carcinoma	CALC+, TGB, CEA, TTF	Carcinoma medular
130	S99-1819	47	M	Partes moles	Miofibroma	Fibromatose	CD34-, DES-, CD68-, KER-	Pseudotumor miofibroblástico ou fibromatose
131	S99-18353	49	M	Massa Pélvica	Tumor do estroma gastrointestinal	Outro sarcoma	CKIT+	Tumor do estroma gastrointestinal
132	S99-18376	25	M	Tireóide	Carcinoma medular	Carcinoma folicular	CALC+, TGB-	Carcinoma medular
133	S99-18463	58	M	Próstata	Carcinoma de células transicionais	Carcinoma de próstata	PSA+, CEA-	Adenocarcinoma de próstata
134	S9918471	59	F	Pulmão	Carcinoma de pequenas células	Linfoma, melanoma	KER+, LCA-, S100-	Carcinoma de pequenas células
135	S99-18503	72	M	Fígado	Colangiocarcinoma	Carcinoma de cólon metastático	CK7-, CK20+	Adenocarcinoma de cólon metastático
136	S99-18503			Fígado	Carcinoma de cólon metastático	Colangiocarcinoma	CK20+, CK7-	Carcinoma de cólon metastático
137	S99-18570			Massa Pélvica	Carcinoma	Linfoma, sarcoma	CD20/CD30+, KER/DES/S100-	Linfoma de grandes células
138	S99-189	45	M	Partes moles	Lipossarcoma	Sarcoma neurogênico	S100/DES/CD34 nc	Lipossarcoma
139	S99-18971			Bexiga	Carcinoma transicional	Carcinoma de próstata	CEA+, PSA/PAPH-	Carcinoma urotelial
140	S99-18995	48	M	Bexiga	Carcinoma metaplásico	Sarcoma	KER+, CK20/DES-	Carcinoma urotelial metaplástico
141	S99-19094			Fígado	Linfoma	Carcinoma	KER/CD30/CD3-, CD20/LCA+	Linfoma de grandes células
142	S99-19144		F	Útero	Carcinoma endometrial	Outro carcinoma	ER/CA125+, PR-	Carcinoma endometrial papilar
143	S99-1936	37	M	SNC	Neurocitoma	Linfoma	SYN+, LCA-, NF-	Neurocitoma
144	S99-194	58	M	Fígado	Hepatocarcinoma	Outro carcinoma	KER+, AFP+, A1ANTITRIP+	Hepatocarcinoma
145	S99-1951	52	M	Medula espinhal	Carcinoma metastático	Origem	KER+, CEA-, S100-	Carcinoma metastático
146	S99-197	31	F	Braço	Granuloma piogênico	Neurofibroma	S100 nc	Tecido de granulação
147	S99-1987	36	F	Aborto	Células trofoblásticas	X	HCG nc	Material insuficiente para análise
148	S99-19936	53	F	Fígado	Hepatocarcinoma	Carcinoma metastático	CEA/CK7-, HCC/AFP+	Hepatocarcinoma
149	S99-19951	70	F	Fígado	Hepatocarcinoma	Carcinoma metastático	HCC+, CEA/AFP/CK7-	Hepatocarcinoma
150	S99-2037	69	F	Pele	Infiltrado inflamatório	Carcinoma de mama metastático	KER-	Infiltrado inflamatório difuso
151	S99-2054	37	M	SNC	Linfoma	Tipo	CD3-, CD20+	Linfoma de células B
152	S99-2084	65	F	Sacro	Cordoma	Carcinoma	KER-, S100+, EMA+	Cordoma
153	S99-20936	64	F	Ovário	Carcinoma metastático	Origem	CK20-, ER+	Carcinoma de ovário
154	S99-20979			Esôfago	Tecido de granulação	Carcinoma	KER-	Tecido de granulação
155	S99-2112	60	F	Delgado	Carcinoma	Sarcoma	S100-, KER+, DES+	Carcinossarcoma X Leiomiossarcoma epitelióide
156	S99-21175		F	Base de crânio	Tumor fibroso solitário	Sarcoma	CD34+	Tumor fibroso solitário
157	S99-21662	80	M	Próstata	Carcinoma de próstata	Carcinoma urotelial	PSA/KER+	Carcinoma de próstata pouco diferenciado
158	S99-21712			Estômago	Gastrite	Linfoma	K/L/CD3/CD20+	Gastrite crônica
159	S99-21873	61	M		Carcinoma de pequenas células	Linfoma	KER/TTF+, LCA-	Carcinoma de pequenas células
160	S99-22294		F	Mama	Rabdomiossarcoma	Carcinoma metaplástico	DES/MGN+	Rabdomiossarcoma
161	S99-2277	54	F	Pâncreas	Sarcoma gastrointestinal	Outro sarcoma	DES-, S100-, CD34+	Sarcoma gastrointestinal
162	S99-23017	82	F	Pleura	Carcinoma	Mesotelioma	KER/CAL/EMA+, CEA/TTF-	Mesotelioma
163	S99-23561	76	F	Útero	Carcinoma endometrial	Carcinossarcoma	DES/KER+, S100-	Carcinossarcoma
164	S99-23682		M	Massa abdominal	Linfoma	Carcinoma, melanoma	CD3/KER/S100/DES-, CD20+	Linfoma de grandes células
165	S99-23691		M	Vertebra	Plasmocitose	Mieloma múltiplo	K-, L+	Mieloma múltiplo
166	S99-23811	57	M	Rim	Angiomiolipoma	Carcinoma renal sarcomatóide	HMB45/DES/SMA+, EMA/KER/CEA-	Angiomiolipoma
167	S99-2385	8	M	SNC	Meningioma	Glioma de nervo óptico	GFAP+, S100+, EMA-, KI67+, P53+	Glioma de nervo óptico
168	S99-239	39	F	Pele	Dermatofibrossarcoma protuberans	Outro sarcoma	CD34+, DES-, S100-	Dermatofibrossarcoma protuberans
169	S99-23995	48	F	Esôfago	Leiomiossarcoma	Outro sarcoma	DES/SMA/KER/S100-, CD34+	Tumor do estroma gastrointestinal
170	S99-24252			Pulmão	Carcinoma de pequenas células	Outro carcinoma	CHRG-, KER/SYN/TTF+	Carcinoma de pequenas células
171	S99-24297		M	Massa abdominal	Linfoma	Tipo	CD20+, CD3-	Linfoma B de grandes células
172	S99-2433	49	F	Massa cervical	Carcinoma	Carcinoma papilar de tireóide	TGB+	Papillary Tireóide ca
173	S99-2437	29	F	Pele	Neoplasia fusocelular benigna	Neurofibroma	S100+	Neurofibroma x Schwanoma
174	S99-244	32	F	Lábio	Sarcoma de Kaposi	Carcinoma	KER-, CD31+, CD68-, LCA-	Sarcoma de Kaposi
175	S99-2453	2	M	Rim	Tumor de Wilms	Tumor neuroectodérmico primitivo periférico	KER+, CD99-, DES+	Tumor de Wilms
176	S99-2455	?	F	Pleura	Infiltrado inflamatório	Carcinoma	CD68-, KER-	Pleurite
177	S99-24631		M	Retroperitônio	Linfoma	Hiperplasia linfóide reacional	CD20+, CD3-	Linfoma
178	S99-24962	16	F	Massa Pélvica	Tumor neuroectodérmico primitivo periférico	Rabdomiossarcoma	DES/MGN/KER-, CD99/NSE+	Tumor neuroectodérmico primitivo periférico
179	S99-25014		F	Fígado	Tumor do estroma gastrointestinal	Outro sarcoma	CD34+, DES/SMA/S100-	Tumor do estroma gastrointestinal
180	S99-25214	9	F	Linfonodo	Rabdomiossarcoma	Outro sarcoma	DES/MGN+	Rabdomiossarcoma
181	S99-2525	51	F	Duodeno	Carcinoma de pequenas células	Melanoma	KER+, S100-, ER-, SYN+	Carcinoma pouco diferenciado
182	S99-2534	40	F	Omento	Nódulo de músculo liso	Carcinoma sarcomatóide	DES+, KER-	Nódulo de músculo liso
183	S99-25375		M	Mediastino	Neoplasia fusocelular	Origem	S100+, CD34/NF/DES-	Schwanoma

ANEXO 2 - 835 casos nos quais a imuno-histoquímica foi utilizada para resolver problemas de diagnóstico diferencial

	CASO	IDADE	SEXO	LOCAL	DIAGNÓSTICO SUSPEITO	DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	ANTICORPOS E RESULTADOS	DIAGNÓSTICO FINAL
184	S99-2592	53	F	Ovário	Tumor de Krukenberg	Origem	CEA+, KER+, ER-	Adenocarcinoma metastático de TGI
185	S99-2600	66	F	Pâncreas	Carcinoma neuroendócrino	Tumor papilar sólido e cístico	GLUC/SOMAT/CHRG/INS/VIP -, NSE+, EMA+	Tumor papilar sólido e cístico
186	S99-2682	71	M	Mastóide	Adenocarcinoma metastático	Primário de próstata	KER+, PSA+	Adenocarcinoma de próstata metastático
187	S99-2712	66	F	Partes moles	Schwanoma	Ganglioneuroma/neurofibroma	LCA-, SYN-, NB-, S100+, NGFR+, RET-	Schwanoma
188	S99-2785	53	F	Mama	Tumor Filodes	Carcinoma metaplástico	KER+, ER-, PR-, HER2-	Carcinoma metaplástico
189	S99-2793	3	M	Mandíbula	Hemangioendotelioma	Carcinoma	CD31+	Hemangioendotelioma kaposiforme
190	S99-2864	61	M	Linfonodo	Carcinoma transicional	Metástase carcinoma próstata	PSA-, CEA+	Carcinoma transicional
191	S99-2874	50	M	Pulmão	Carcinoma	Linfoma	KER+, CD20-	Carcinoma pouco diferenciado
192	S99-2876	73	M	Vértebra	Osteomielite	Mieloma múltiplo	K+, L+	Infiltrado plasmocitário reacional
193	S99-2956	9	M	Linfonodo	Rabdomiossarcoma	Linfoma	DES+, LCA-	Rabdomiossarcoma
194	S99-3059	28	M	Fígado	Hemangioendotelioma	Carcinoma	CD31+, F8+, CK7-, KER-	Hemangioendotelioma
195	S99-3126			Brônquio	Carcinoma de pequenas células	Carcinoma indiferenciado	KER+, CHRG-, SYN+	Carcinoma de pequenas células
196	S99-3198			Pulmão	Adenocarcinoma	Carcinoma epidermóide/Linfoma	KER/LCA nc	Material insuficiente para análise
197	S99-3325			Maxillary sinus	Carcinoma nasofaríngeo	Linfoma	KER-, LCA+, CHRG-	Linfoma de grandes células
198	S99-3535			Retroperitônio	Schwanoma	Leiomiossarcoma	S100+, DES-	Schwanoma
199	S99-354	39	F	Pele	Micose fungóide	Linfoma antiotrópico	CD3+, CD20-, CD30-	Processo linfoproliferativo atípico
200	S99-358	52	F	Pulmão	Carcinoma indiferenciado	Melanoma	KER+	Carcinoma indiferenciado
201	S99-389	42	M	Braço	Sarcoma epitelióide	Outro sarcoma	S100-, CD31-, KER+, DES-, EMA+	Sarcoma epitelióide
202	S99-4160			Clitoris	Leiomioma	Carcinoma, lesão histiocítica	DES, MGN, KER-, CD68-, S100-	Decidua?
203	S99-4214	76	F	Colon	Leiomiossarcoma	Outro sarcoma	DES+, CD34-, S100-	Leiomiossarcoma
204	S99-4681	59	F	Colon	Adenocarcinoma	Origem	CK20+	Adenocarcinoma de colon
205	S99-5235			Bexiga	Necrose	Neoplasia	KER-, CHRG+, LCA-, S100-	Paraganglioma metastático
206	S99-573	89	M	Pele	Carcinoma	Melanoma	KER+, S100-	Carcinoma epidermóide
207	S99-588	57	M	Seio esfenoidal	Meningioma	Tecido cicatricial	EMA-, S100-, KER-, CD34-	Tecido cicatricial
208	S99-589	37	F	Pescoço	Paraganglioma	Carcinoma	CHR+, S100+	Paraganglioma
209	S99-5970			Cérebro	Carcinoma metastático	Origem	CK20-, CK7+, ER+, PR+	Carcinoma metastático de mama ou mulleriano
210	S99-6089	36	M	Região inguinal	Sarcoma neurogênico	Outro sarcoma	S100-, NGFR+, DES-, KER-	Sarcoma neurogênico
211	S99-7007			Pulmão	Sarcoma	Carcinoma	KER/S100/DES-, CD99+	Sarcoma sinovial
212	S99-7316			Massa abdominal	Sarcoma	Origem	KER/S100/CD34-, DES+	Leiomiossarcoma
213	S99-7328	69	M	Massa abdominal	Adenocarcinoma metastático	Mesotelioma	KER/CEA+, CAL-	Adenocarcinoma metastático
214	S99-7518			Pulmão	Linfoma	Doença de Hodgkin	CD20, CD3, CD30+, CD15+, CD31	Doença de Hodgkin
215	S99-7569			Linfonodo	Doença de Hodgkin	Linfoma	CD20, CD30, CD3, CD15, LCA	Doença de Hodgkin
216	S99-760	57	F	Fígado	Neoplasia maligna indiferenciada	Linfoma, carcinoma, sarcoma	LCA/CD20/EMA/KER/S100/MPO/DES/CD30/CD3 nc	Neoplasia maligna indiferenciada
217	S99-800	44	M	Pele	Linfoma	Tipo	CD3+, CD20?, CD30+	Papulose linfomatóide
218	S99-802	62	M	SNC	Linfoma	Carcinoma	KER-, EMA-, CD3-, CD20+	Linfoma
219	S99-8575	70	M	Pulmão	Carcinoma de pequenas células	Linfoma	KER+, LCA/CD20-	Carcinoma de pequenas células
220	S99-8688			Pulmão	Linfoma	Tipo	K, L, CD30+, CD20+	Linfoma de grandes células
221	S99-903	83	M	Estômago	Inflamação	Linfoma	CD20+, CD3+	Reação inflamatória
222	T98-3535	62	F	Medula espinhal	Neurofibroma	Meningioma	S100nc, SMAnc	Neoplasia de origem neural. Material limitado
223	T98-639	75	M	Fígado	Carcinoma	Sarcoma, melanoma, mesotelioma	KER+, DES/S100/CD31/CD34/CAL-	Carcinoma sarcomatóide
224	T99-1	65	M	Pulmão	Adenocarcinoma metastático	Primário de cólon	CK20+, CK7-	Adenocarcinoma metastático de cólon
225	T99-1000	67	F	Sacro	Neoplasia maligna indiferenciada	Carcinoma, sarcoma, melanoma	KER-, DES-, S100-, CAL+	Lipossarcoma de células redondas
226	T99-1014	54	F	Massa abdominal	Carcinoma de pequenas células	Leiomiossarcoma	KER, DES, CHRG, SYN-, ER+	Carcinoma do estroma endometrial
227	T99-1015	39	M	Testículo	Seminoma	Outros componentes	PLAP+, CD30/AFP/HCG-	Seminoma
228	T99-1018	68	M	Pleura	Carcinoma	Origem	KER+, CAL-, CHRG-, SYN+, CEA-	Carcinoma de pequenas células
229	T99-102	61	F	Pulmão	Carcinoma	Linfoma	LCA-, KER+, S100-, ER-	Carcinoma pouco diferenciado primário de pulmão ou TGI
230	T99-1020	75	M	Parede torácica	Carcinoma	Tumor germinativo	KER+, CEA+, BHCG-, CD31-	Carcinoma anaplásico de células gigantes
231	T99-1028			Pele	Dermatofibrossarcoma protuberans	Neurofibroma	S100-, CD34+	Dermatofibrossarcoma protuberans
232	T99-1036	59	F	Pele	Inflamação	Carcinoma	LCA-, KER+, ER+	Carcinoma de mama metastático
233	T99-104	63	M	Perna	Carcinoma	Tumor de anexo	CEA+, EMA+, S100+	Acrospiroma écrino
234	T99-1041	81	M	Fígado	Hepatocarcinoma	Adenocarcinoma metastático	HCC+, CK7+, CEA-, AFP-, CEA+	Hepatocarcinoma
235	T99-1044	79	M	Osso	Carcinoma	Origem	PSA+, KER+, S100-, LCA-	Carcinoma de próstata metastático
236	T99-1075	45	F	Seio paranasal	Carcinoma	Rabdomiossarcoma	KER/CHRG-, DES/MGN+	Rabdomiossarcoma
237	T99-1081	77	F	Esôfago	Tumor do estroma gastrointestinal	Outro sarcoma	KER/DES/S100-, CD34+	Tumor do estroma gastrointestinal
238	T99-1109	86	F	Fígado	Hepatocarcinoma	Adenocarcinoma metastático	CEA/CK7/AFP/HCC-, EMA/RCC+	Carcinoma metastático renal
239	T99-1123	61	M	Massa mesentérica	Sarcoma	Carcinoma	CD34+, S100/DES/KER-	Tumor do estroma gastrointestinal
240	T99-1124	86	M	Pleura	Mesotelioma	Adenocarcinoma	KER/EMA/CAL+, CEA-	Mesotelioma
241	T99-113	40	F	Coxa	Sarcoma de Ewing	Rabdomiossarcoma	CD99+, SYN-, DES-, KER-	Sarcoma de Ewing
242	T99-115	?	M	Pulmão	Carcinoma	Metástase seminoma	PLAP-, KER+, S100-, LCA-	Carcinoma pouco diferenciado
243	T99-1154	6	F	Linfonodo	Doença de Hodgkin	Linfoma	CD1/S100/CD68/CD20-, CD30+	Doença de Hodgkin
244	T99-1159	23	M	Estômago	Sarcoma	Origem	KER/S100-, DES/CD34+	Tumor do estroma gastrointestinal

ANEXO 2 - 835 casos nos quais a imuno-histoquímica foi utilizada para resolver problemas de diagnóstico diferencial

	CASO	IDADE	SEXO	LOCAL	DIAGNÓSTICO SUSPEITO	DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	ANTICORPOS E RESULTADOS	DIAGNÓSTICO FINAL
245	T99-1160	75	M	Pulmão	Carcinoma	Origem	PSA-, CEA+	Adenocarcinoma metastático de pulmão ou TGI
246	T99-1163		F	Ovário	Mesotelioma	Linfangioma	KER+, CAL+, CD31-, F8-	Mesotelioma
247	T99-1186	52	M	Partes moles	Carcinoma	Linfoma	KER/CEA+, PSA/CD30-	Carcinoma pouco diferenciado. Pulmão?
248	T99-1202	83	F	Massa pélvica	Carcinoma	Origem	ER/CK7/CA125+, CK20/CHRG-	Carcinoma ovariano pouco diferenciado
249	T99-1204	75	M	Linfonodo	Linfoma	Tipo	CD20+, CD3/CD30-	Linfoma de células B
250	T99-1216	45	M	Pele	Melanoma	Carcinoma sarcomatóide	S100/HMB/MELAN+, KER-	Melanoma
251	T99-1236	79	M	Fígado	Carcinoma	Origem	KER+, SYN+, CHRG-	Carcinoma de pequenas células
252	T99-1238	34	F	Partes moles	Neoplasia fusocelular benigna	Origem	S100+	Schwanoma
253	T99-1239	91	F	Pleura	Células mesoteliais reacionais	Adenocarcinoma	ER-, CAL+, CEA-	Pleurite crônica com hiperplasia mesotelial reacional
254	T99-1250	58	F	Mama	Carcinoma metaplásico	Sarcoma	KER/EMA/S100+, ER/HER2-	Carcinoma metaplásico
255	T99-1251	84	M	Fígado	Adenocarcinoma	Origem	CEA+, PSA-, CK20+	Adenocarcinoma provavelmente de TGI ou ductos biliares
256	T99-1253	67	F	Pálpebra	Carcinoma sebáceo	Carcinoma de células claras	EMA/CEA/S100+	Carcinoma sebáceo
257	T99-1254	79	M	Fluido pleural	Adenocarcinoma	Mesotelioma	EMA/CEA/BERP4+, CAL-	Adenocarcinoma
258	T99-1266	72	F	Valva ileocecal	Carcinoma	Linfoma	LCA/CD20+, KER/SYN-	Linfoma de células B
259	T99-1281	78	M	Fígado	Carcinoma	Sarcoma	KER/S100/CEA/AFP/HCC/CK7-, CD31/F8+	Angiosarcoma de fígado
260	T99-1291	73	M	Fluido pleural	Adenocarcinoma	Mesotelioma	CAL-, TTF/CEA+	Adenocarcinoma
261	T99-1297	82	M	Fluido pleural	Adenocarcinoma	Mesotelioma	EMA/CEA/TTF-, CAL/BEREP4/B72/HBME+	Mesotelioma
262	T99-1302	77	M	Pálpebra	Neoplasia fusocelular benigna	Origem	DES/GFAP/S100-	Fibroma com metaplasia condróide
263	T99-1309			SNC	Linfoma	Carcinoma, melanoma, glioblastoma	KER/CD68/K/L/GFAP/HMB/CD20/CD1/CD3-	S100/MELAN+. Melanoma metastático
264	T99-131	75	M	Próstata	Carcinoma urotelial	Carcinoma de próstata	PSA-, CEA+, CK20+	Carcinoma urotelial pouco diferenciado
265	T99-1313	50	M	Fluido pleural	Adenocarcinoma	Mesotelioma	CEA+, TTF+, CAL-, BEREP4+	Adenocarcinoma pouco diferenciado
266	T99-1316			Fígado	Hepatocarcinoma	Adenocarcinoma metastático	EMA+, RCC+, CK7/CEA/HCC-	Carcinoma renal metastático
267	T99-132	42	F	SNC	Carcinoma metastático	Origem	TGB-, CEA+, CAL-	Carcinoma metastático provavelmente primário de pulmão
268	T99-1332			Massa cervical	Carcinoma	Origem	ER-, HER2+, CHRG-, CEA-	Carcinoma pouco diferenciado. Pulmão x Mama?
269	T99-1335	63	M	Partes moles	Sarcoma sinovial	Sarcoma epitelióide	KER+, EMA+, CD99+, CD34-	Sarcoma sinovial
270	T99-1338	79	M	Osso	Carcinoma metastático	Melanoma metastático	RCC/HCC/CEA/KER/PSA/SYN-, S100/HMB45+	Melanoma metastático
271	T99-1342	74	M	Fígado	Carcinoma de pequenas células	Outro carcinoma	KER/CHRG/SYN+, 5HT/VIP-	Carcinoma de pequenas células
272	T99-1357	83	F	Endométrio	Carcinoma	Sarcoma	KER-, DES+, MGN+, S100-	Rabdomiossarcoma
273	T99-1358			Estômago	Carcinoma	Melanoma	HMB45/S100/MELAN/TYROS+, KER-	Melanoma
274	T99-1359	69	M	Estômago	Carcinoma	Inflamação	KER+	Adenocarcinoma pouco diferenciado
275	T99-1363	74	F	Septo nasal	Melanoma	Carcinoma, rabdomiossarcoma	KER-, S100+, HMB45+, DES-, SYN-	Melanoma
276	T99-1365	49	F	Fígado	Linfoma	Tipo	CD31-, LCA+	Linfoma de grandes células
277	T99-1372	65	M	Testículo	Tumor estromal	Outra neoplasia fusocelular	KER/DES/CD34-, CD99/CAL+	Tumor estromal
278	T99-1383	45	M	Fígado	Hepatocarcinoma	Carcinoma metastático	CK7/EMA/HCC-	Hepatocarcinoma pouco diferenciado
279	T99-139	63	M	Osso	Carcinoma renal metastático	Metástase carcinoma próstata	RCA-, KER+, CEA-, PSA-, EMA+	Carcinoma renal metastático
280	T99-1394	82	F	Mediastino	Carcinoma	Origem	KER+, CEA-, ER-, HER2-	Carcinoma anaplásico
281	T99-140	70	M	Adrenal	Metástase carcinoma próstata	Carcinoma adrenal	KER+, CEA-, PSA+, CAL-, SYN-	Metástase carcinoma próstata
282	T99-1402	16	M		Neoplasia maligna indiferenciada	Origem	CD1-, HMB45-	Células atípicas de origem indeterminada. Granuloma eosinofílico?
283	T99-1412	84	M	Pleura	Adenocarcinoma	Mesotelioma	KER/CAL/EMA+, CEA-	Mesotelioma
284	T99-1415	69	F	Pulmão	Adenocarcinoma	Origem	KER/EMA+, CEA-	Carcinoma pouco diferenciado
285	T99-1416	82	F	Pulmão	Carcinoma	Mesotelioma	KER+, CAL/LCA/CD34-	Carcinoma sarcomatóide
286	T99-1419			Fígado	Hepatocarcinoma	Melanoma	S100/HMB45+, HCC-	Melanoma
287	T99-1436	45	M	Pulmão	Neoplasia maligna	Carcinoma x tumor germinativo	KER/PLAP/EMA+, SYN/TTF/CD30-	Seminoma
288	T99-144	?	M	Osso	Metástase carcinoma próstata	Carcinoma de pequenas células	PSA+, PAPH+, CEA-, CHRG-	Metástase carcinoma próstata
289	T99-145	68	M	Osso	Carcinoma renal metastático	Outro carcinoma	CEA-, KER+, EMA+	Carcinoma renal metastático
290	T99-1452	43	M	Partes moles	Sarcoma sinovial	Osteossarcoma	EMA+, KER+, CD99+	Sarcoma sinovial
291	T99-1453	42		Fígado	Hepatocarcinoma	Carcinoma metastático	EMA+, CK7+, HCC-	Adenocarcinoma pouco diferenciado
292	T99-1456	73	F	Pulmão	Adenocarcinoma	Mesotelioma	CAL-, CEA/TTF/BT2 3+	Adenocarcinoma pouco diferenciado
293	T99-1468	69	M	Rim	Carcinoma	Carcinoma, sarcoma, melanoma	KER/EMA/RCC/CEA/CHRG/CD31/S100-, DES/SMA+	Tumor glômico
294	T99-1471	88	M	Fígado	Carcinoma	Sarcoma	HCC/S100/DES/CD31/CD34-, KER+	Carcinoma sarcomatóide
295	T99-1486	82	F	Mama	Carcinoma	Linfoma	KER/EMA/ER/CD68/CD30-, CD20/BCL2+	Linfoma de grandes células
296	T99-1487	71	F	Fígado	Hepatocarcinoma	Adenocarcinoma metastático	CK7-, AFP+, HCC+, CEA-	Hepatocarcinoma
297	T99-1493	74	M	Esôfago	Carcinoma	Melanoma, linfoma	KER/SYN/EMA+, LCA/CHRG/S100/CD20/CD30-	Carcinoma pouco diferenciado
298	T99-1497	65	F	Massa axilar	Carcinoma	Linfoma	CD30+, KER-, CD20-	Linfoma anaplásico
299	T99-1499	64	F	Linfonodo	Adenocarcinoma	Origem	ER-, CEA+, CK20+	Adenocarcinoma metastático de provável TGI
300	T99-1521	82	F	Medula óssea	Plasmocitoma	Infiltração plasmocitária reacional	K+, L+	Infiltração plasmocitária reacional
301	T99-1522				Carcinoma	Outro	KER+, TTF-, SYN+, S100-	Carcinoma pouco diferenciado. Material limitado
302	T99-1523	71	M	Pleura	Adenocarcinoma	Mesotelioma	KER+, CAL+, CEA-	Mesotelioma
303	T99-1524	83	M	Pleura	Células mesoteliais reacionais	Adenocarcinoma	KER+, CAL+, CEA-	Pleurite crônica e hiperplasia mesotelial reacional
304	T99-1531	32	M	Testículo	Tumor germinativo	Definir componentes	AFP+, HCG-, PLAP-, CD30+	Carcinoma embrionário com teratoma e tumor do seio endodérmico
305	T99-1532		M	Rim	Metástase adenocarcinoma colon	Linfoma, melanoma	CK20/CK7+	Carcinoma transicional

ANEXO 2 - 835 casos nos quais a imuno-histoquímica foi utilizada para resolver problemas de diagnóstico diferencial

	CASO	IDADE	SEXO	LOCAL	DIAGNÓSTICO SUSPEITO	DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	ANTICORPOS E RESULTADOS	DIAGNÓSTICO FINAL
306	T99-1537			Pulmão	Adenocarcinoma	Origem	ER+, EMA+, GCDFP+, CHRG-, TTF-	Carcinoma metastático de mama
307	T99-1542	75	F	Ovário	Adenocarcinoma	Origem	CK20+, CA125-, CHRG+, ER-, CAL-, 5HT+, TGB-	Adenocarcinóide metastático
308	T99-1554	56	M	Fígado	Tumor carcinóide	Carcinoma de ilhotas pancreáticas	CHRG+, GLUC/SOMAT/GAS/INS/5HT-	Carcinoma endócrino metastático
309	T99-1555	73	F	Pulmão	Linfoma	Infiltrado inflamatório	K/L+, CD20/CD3/CD30/BCL2-	Infiltração plasmocitária reacional
310	T99-156	54	M	Fígado	Carcinoma metastático	Linfoma	KER-, LCA+, CD20+	Linfoma
311	T99-1565	60	M	Duodeno	Neoplasia endócrina	Carcinoma	CHRG/SYN/GAST+, 5HT/SOMAT-	Neoplasia endócrina
312	T99-1573	78	M	Fluido pleural	Adenocarcinoma	Mesotelioma	CAL+, TTF-, EMA+, CEA-, KER+	Mesotelioma
313	T99-1575	54	M	Fígado	Adenocarcinoma	Hepatocarcinoma	CK20+, CK7+, AFP-	Adenocarcinoma metastático de provável TGI
314	T99-1589	87	F	Vulva	Melanoma	Carcinoma sarcomatóide	S100+, HMB45+, KER-	Melanoma
315	T99-1609	69	F	Fluido pleural	Mesotelioma	Adenocarcinoma	CAL-, ER-, EMA/CEA+	Adenocarcinoma de mama ou TGI
316	T99-1613	76	F	Pulmão	Adenocarcinoma	Origem	EMA/B723/BERP4/LEUM1+, CEA/ER/TGB/CA125-	Adenocarcinoma
317	T99-1616	70	M	Pleura	Adenocarcinoma	Mesotelioma	EMA+, CEA-, CAL+	Proliferação mesotelial atípica
318	T99-1626	27	M	Adrenal	Ganglioneuroma	Shwanoma	NSE/CHRG/SYN/S100 nc, VIP/LCA-, GFAP/CATHD+	Ganglioneuroblastoma
319	T99-1631	73	M	Partes moles	Neoplasia fusocelular	Schwanoma	S100+, P53-	Schwanoma
320	T99-1649	81	M	Duodeno	Adenocarcinoma	Tumor carcinóide	NSE/CHRG-, CEA/EMA+	Adenocarcinoma moderadamente diferenciado
321	T99-165	85	M	Reto	Carcinoma	Metástase carcinoma próstata	PSA+	Metástase carcinoma próstata
322	T99-1661	87	M	Pulmão	Linfoma	Carcinoma	CD20/3/30/MPO-, KER+	Carcinoma de pequenas células
323	T99-1675	81	F	Linfonodo	Linfoma	Carcinoma	KER/SYN+, CD20/3/30/ER/CHRG-	Carcinoma de pequenas células
324	T99-1676	47	F	Pulmão	Carcinoma	Melanoma	CEA/KER/TTF/S100 nc	Material insuficiente para análise
325	T99-1701	49	F	Costela	Linfoma	Carcinoma	CD3-, CD20+, CD30/KER-	Linfoma B de grandes células
326	T99-1708	41	M	Pâncreas	Linfoma	Carcinoma	CD20+, CD3-, KER-	Linfoma B de grandes células
327	T99-1710	80	M	Fluido pleural	Adenocarcinoma	Mesotelioma	CEA/TTF-, EMA/CAL+	Mesotelioma
328	T99-1715	66	F	Pleura	Adenocarcinoma	Mesotelioma	EMA/CAL/HBME+, CEA/B72.3-	Mesotelioma
329	T99-1716	88	F	Cervix	Carcinoma cervical	Carcinoma transicional	P53+, CK7, CK20	Carcinoma transicional
330	T99-1738	58	F	Massa cervical	Linfoma	Carcinoma	KER/SYN/TTF+, CHRG/LCA-	Carcinoma de pequenas células de pulmão
331	T99-1740	77	F	Ovário	Tumor estromal	Tipo	INH/CD34/CD99/CAL+, KER/ER-	Tumor estromal
332	T99-1744		N	Fluido pleural	Infiltração linfocitária reacional	Carcinoma de pequenas células	CAL/TTF-, LCA+	Infiltração linfocitária reacional
333	T99-1754	83	F	Partes moles	Linfoma	Carcinoma, melanoma	CD3/CD30/S100/KER-, CD20+	Linfoma B de grandes células
334	T99-1755	74	M	Pulmão	Adenocarcinoma	Mesotelioma	CEA/TTF/EMA+, CAL-	Adenocarcinoma pouco diferenciado
335	T99-1760	85	F	Fluido pleural	Adenocarcinoma	Mesotelioma	CEA/EMA+, CAL/ER-	Adenocarcinoma
336	T99-1761	28	F	Mama	Carcinoma	Sarcoma	KER+, S100-, DES+	Carcinoma metaplástico
337	T99-1772	73	M	Fígado	Hepatocarcinoma	Carcinoma metastático	PSA-, CEA-, HCC+, CK7-, AFP-	Hepatocarcinoma
338	T99-1775	77	F	Seio da face	Carcinoma	Melanoma	KER/ER+, GCDFP/HER2/S100-	Carcinoma metastático de mama
339	T99-1783	70	M	Massa adrenal	Metástase adenocarcinoma pulmão	Carcinoma adrenal	KER+, CAL/S100/CEA-	Carcinoma pouco diferenciado
340	T99-1796			Partes moles	Sarcoma	Origem	S100, DES, KER, NGFR	Sarcoma de alto grau
341	T99-1803	75	F	Back mass	Sarcoma	Origem	DES/S100/KER/CD34/SMA-	Fibrohistiocitoma maligno
342	T99-1816	87	F	Omento	Adenocarcinoma	Mesotelioma	EMA/CAL/CA125+, S100/CEA/B72.3-	Mesotelioma
343	T99-1819	8	F	Massa cervical	Schwanoma	Leiomioma	S100+, DES-	Schwanoma
344	T99-182	83	M	Mama	Carcinoma	Carcinoma de pequenas células	KER+, SYN+, ER-	Carcinoma de pequenas células
345	T99-1822	60	F	Pulmão	Carcinoma	Rabdomiossarcoma	KER+, CHRG-, SYN+, TTF+, DES-	Carcinoma de pequenas células
346	T99-1827	82	F	Brônquio	Carcinoma	Linfoma	KER/TTF+, LCA/TTF-	Carcinoma de pequenas células
347	T99-1831	47	M	Fígado	Carcinoma	Sarcoma	KER+, S100-, DES-	Carcinoma indiferenciado
348	T99-1833	47	F	Osso	Carcinoma metastático	Primário de tireóide	CAL/CEA/TTF+, TGB/ER-	Carcinoma medular de tireóide
349	T99-1839	64	F	Ovário	Tumor estromal	Outro sarcoma	CA125/CEA/AFP/S100/INH/ER-, CAL/KER/DES+	Leiomiossarcoma epitelióide
350	T99-1842	42	F	Pericárdio	Carcinoma	Mesotelioma	TTF/CAL-, CEA/EMA+	Adenocarcinoma de pulmão
351	T99-1843	60	M	Pele	Neoplasia fusocelular benigna	Origem	S100+, DES-, NGFR+	Neurofibroma plexiforme
352	T99-1844	65	F	Mediastino	Carcinoma	Origem	KER/SYN+, CHRG/TTF-	Carcinoma de pequenas células
353	T99-1847	77	F	Fluido pleural	Adenocarcinoma	Células mesoteliais reacionais	EMA/CEA/ER/B72/BERE4-, CAL+	Células mesoteliais reacionais
354	T99-1859	38	F	Massa inguinal	Carcinoma	Melanoma	S100/MELAN/TYROS+, HMB45-, KER+ focal	Melanoma
355	T99-1880	76	M	Fígado	Hepatocarcinoma	Carcinoma metastático	HCC+, CEA+, AFP/CK7-	Hepatocarcinoma
356	T99-1889	71	F	Partes moles	Mixofibrossarcoma	Lipossarcoma, miossarcoma	DES/S100/CAL/SMA-, VIM+	Sarcoma de grau intermediário
357	T99-1898	11	M	Massa maxilar	Sarcoma	Pseudotumor inflamatório	CD31/DES/MGN-, LCA+	Pseudotumor inflamatório
358	T99-1899	3	F	Partes moles	Carcinoma	Rabdomiossarcoma	DES/MGN+, CHRG/NF-, KER+focal	Rabdomiossarcoma embrionário
359	T99-190	?	M	Colon e bexiga	Carcinoma de cólon em bexiga	Carcinoma transicional associado	CK20+, CK7+ (bexiga)	Adenocarcinoma de colon e carcinoma de células transicionais
360	T99-1900	19	F	Retroperitoneal	Carcinoma	Sarcoma, melanoma, linfoma	KER/DES/MGN/NSE+, CHRG/LCA/S100/NB-	Rabdomiossarcoma embrionário
361	T99-1903	2	F	Partes moles	Rabdomiossarcoma	Outro sarcoma	DES/MGN/S100+, CD99/CHRG-	Rabdomiossarcoma
362	T99-1904	6	F	Linfonodo	Linfoma	Hiperplasia linfóide	CD20+, CD3+, BCL2-	Hiperplasia linfóide
363	T99-1905	21d	F	Mediastino	Neoplasia maligna de pequenas células	Origem	DES/MGN+, CHRG/NF/NB/S100-, KER+focal	Rabdomiossarcoma embrionário
364	T99-1906	6m	M	Massa abdominal	Neoplasia maligna de pequenas células	Origem	DES/MGN/NF/CHRG/KER/S100-, NB+	Neuroblastoma
365	T99-1925	78	M	Osso	Carcinoma metastático	Origem	PSA/RCC-, CEA+	Carcinoma urotelial metastático
366	T99-1934	41	F	Fígado	Inflamação	Linfoma	CD3/CD20+, HBSAg-	Hepatite crônica

ANEXO 2 - 835 casos nos quais a imuno-histoquímica foi utilizada para resolver problemas de diagnóstico diferencial

	CASO	IDADE	SEXO	LOCAL	DIAGNÓSTICO SUSPEITO	DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	ANTICORPOS E RESULTADOS	DIAGNÓSTICO FINAL
367	T99-1935	66	F	Fluido pleural	Adenocarcinoma	Mesotelioma	CAL+, EMA/CEA-	Células mesoteliais reacionais
368	T99-194	51	M	Pulmão	Tumor carcinóide	Outro carcinoma	CHRG+, CEA-	Tumor carcinóide
369	T99-1945	77	M	Lumbar aspirate	Carcinoma	Sarcoma, melanoma	KER+, S100/HMB45/DES/CEA/TTF/PSA-	Carcinoma anaplásico. Pulmão? Pâncreas? Tireóide?
370	T99-196	87	M	Estômago	Undifferentiated tumor	Linfoma	CD20/KER/EMA/CD30/LCAnc	Linfoma provável. Material limitado
371	T99-1964	70	M	Costela	Carcinoma	Melanoma	KER/CEA+, S100-	Adenocarcinoma metastático. Pulmão ? TGI? Urotélio?
372	T99-1975	74	M	Pleura	Mesotelioma	Adenocarcinoma	EMA/CEA-, CAL+	Células mesoteliais reacionais
373	T99-1979	52	M	Brônquio	Linfoma	Carcinoma	KER+, LCA/TTF/HER2-	Carcinoma pouco diferenciado
374	T99-1981	59	F	Fígado	Carcinoma metastático	Origem	TTF/CHRG/KER/SYN+, ER-	Carcinoma metastático de pequenas células de origem pulmonar
375	T99-1993	71	F	Glândula lacrimal	Carcinoma	Origem	KER+, TTF/ER/S100/CHRG-	Carcinoma pouco diferenciado, provavelmente de pequenas células
376	T99-1996	71	F	Retroperitônio	Sarcoma	Carcinoma	S100/CD34/KER/HCC/SMA-, DES+	Leiomiossarcoma
377	T99-2004	72	M	Parótida	Carcinoma	Linfoma, melanoma	KER/CD20-, S100/HMB45/MELAN+	Melanoma
378	T99-2025	56	M	Fígado	Hepatocarcinoma	Adenocarcinoma metastático	HCC/AFP+, CK7/CEA/HBSAg-	Hepatocarcinoma
379	T99-2030	48	F	Mama	Carcinoma de mama	Carcinoma metastático	KER/CHRG/SYN/TTF+, ER/HER2-, CK20, CALC	Carcinoma de pequenas células de pulmão
380	T99-2031	66	F		Carcinoma	Origem	ER+, HER2/CA125/GCDFP-	Carcinoma. Mama? Ovário?
381	T99-2044	52	F	Útero	Decidua	Carcinoma	KER/LCA/INH/K/L/DES/S100/MGN-, ER+	Estroma endometrial decidualizado
382	T99-2069	44	F	Retroperitônio	Linfoma	Carcinoma	KER/CD3/CD31-, LCA/CD20/CD30+	Linfoma B de grandes células
383	T99-207	80	M	Medula óssea	Carcinoma	Origem	KER+, PSA-, CEA-	Carcinoma metastático provavelmente primário de pulmão
384	T99-2093	65	M	Esôfago	Carcinoma	Sarcoma	S100-, KER+, DES-	Adenocarcinoma pouco diferenciado
385	T99-2094	66	F	Pescoço	Carcinoma	Carcinoma de anexo	KER+, S100/CALP-	Carcinoma de células escamosas. Origem anexial?
386	T99-2095	40	F	Osso	Carcinoma	Granuloma eosinofílico	CD1/S100/LCA+, CD68/KER/CD31-	Granuloma eosinofílico
387	T99-2098	77	M	Pâncreas	Carcinoma	Origem	CALC/CEA/CHRG+, GAST/5HT-	Carcinoma medular de tireóide
388	T99-2099	80	F	Rim	Carcinoma	Origem	TTF-, CD20-	Carcinoma epidermóide
389	T99-21	19	F	Pele	Linfoma	Rabdomiossarcoma	DES-, MGN-, LCA+, CD20-, CD30-, CD3-, MPO-, K-, L-	Infiltrado linfocitário atípico
390	T99-2110	75	F	Fígado	Adenocarcinoma	Hepatocarcinoma	CK20/TTF/ER/AFP/HCC-, CK7+	Adenocarcinoma. TGI? Pâncreas? Ductos biliares?
391	T99-2129		M	Radius	Mieloma múltiplo	Reacional	K+, L-	Mieloma múltiplo
392	T99-2163	91	M	Bexiga	Carcinoma transicional	Carcinoma de próstata	PSA/CK20-	Carcinoma transicional pouco dif com metaplasia escamosa
393	T99-2165			Pâncreas	Carcinoma anaplásico	Origem	KER/CEA+, CHRG/S100/TTF-	Carcinoma anaplásico
394	T99-2171	90	M	Pulmão	Carcinoma	Melanoma	HMB45+	Melanoma
395	T99-2179	72	M	Parede torácica	Carcinoma	Sarcoma, melanoma	KER/BER4/EMA+, TTF/CEA/S100/DES/B72/CAL-	Carcinoma sarcomatóide
396	T99-2182	64	F	Pulmão	Carcinoma	Origem	CHRG-, TTF/SYN+	Carcinoma de pequenas células
397	T99-2184	42	F	Medula óssea	Neoplasia maligna de pequenas células	Origem	ER+, CHRG/KER/S100/DES-, CD99+	Sarcoma de Ewing/Tumor neuroectodérmico primitivo periférico
398	T99-2188	74	M	Gengiva	Linfoma	Carcinoma, melanoma	CD20/CD30+, CD3/KER/S100-	Linfoma de grandes células
399	T99-2189	54	M	Fígado	Adenocarcinoma	Origem	PSA/TTF/CK20-, CEA+	Adenocarcinoma. TGI (não cólon)? Pâncreas? Ductos biliares?
400	T99-219	70	F	Fígado	Neoplasia maligna indiferenciada	Carcinoma, melanoma, linfoma	KER/CD31/DES/SMA/CD34/S100/LCA/ER all -	Sarcoma indiferenciado
401	T99-2196		M	Pele	Linfoma	Leucemia	CD3+, CD20/MPO-	Linfoma cutâneo T
402	T99-2197	30	F	Lábio	Adenoma pleomórfico	Carcinoma	S100+, KER+	Adenoma pleomórfico
403	T99-22	64	M	Linfonodo	Melanoma metastático	Carcinoma metastático	S100+, HMB45+, KER-	Melanoma metastático
404	T99-220	49	M	Pele	Dermatofibrossarcoma protuberans	Outro sarcoma	KER-, S100-, CD34+, DES-	Dermatofibrossarcoma protuberans
405	T99-2201	72	M	Rim	Carcinoma	Origem	RCC/EMA/KER+, HCC/INH-	Carcinoma renal
406	T99-2202	44	F	Linfonodo	Linfoma	Carcinoma, melanoma	S100/LCA/HER2-, ER/KER+	Carcinoma de mama metastático
407	T99-221	87	F	Fluido pleural	Células mesoteliais reacionais	Adenocarcinoma	CEA-, EMA-, CAL+	Células mesoteliais reacionais
408	T99-222	75	M	Fluido pleural	Células mesoteliais reacionais	Adenocarcinoma	EMA-, CEA-, CAL+	Células mesoteliais reacionais
409	T99-2220		M	Próstata	Carcinoma de próstata	Carcinoma urotelial	PSA, PAPH, CEA, CK7, CK20	Carcinoma urotelial de alto grau com diferenciação esc e glandular
410	T99-2222	92	M	Uretra	Carcinoma de próstata	Carcinoma urotelial	PSA/PAPH+, CEA/CK20-	Carcinoma de próstata pouco diferenciado
411	T99-2230	74	F	Partes moles	Carcinoma	Sarcoma	KER+, S100/DES/MGN-, TTF+	Carcinoma pouco diferenciado de pulmão
412	T99-2231	87	M	Medula óssea	Mieloma múltiplo	Plasmocitose reacional	K+, L+	Infiltrado inflamatório plasmocitário reacional
413	T99-2233	89	F	Linfonodo	Carcinoma	Linfoma	KER/SYN/CHRG+, TTF/LCA-	Carcinoma de pequenas células
414	T99-2234	28	F	Pescoço	Neoplasia fusocelular benigna	Tipo	S100+, DES/PR-	Schwanoma
415	T99-2236	68	F	Pulmão	Carcinoma	Origem	ER/PR/P53/KI67/HER2/TTF/GCDFP-	Adenocarcinoma de pulmão
416	T99-224	44	M	Pulmão	Carcinoma	Seminoma	KER/PLAP/CEA nc (no tumor remaining)	Carcinoma pouco diferencaido. Material limitado
417	T99-2241	88	F	Massa Pélvica	Linfoma	Carcinoma	LCA/CD20+, KER/TTF/ER-	Linfoma de grandes células
418	T99-2242	60	F	Pleura	Carcinoma	Origem	ER/TTF-, CEA/GCDFP+, HER2-	Carcinoma de mama metastático
419	T99-2243	13	F	Partes moles	Melanoma	Sarcoma	S100+, DES/KI67/MELAN/TYROS/HMB45	Schwanoma
420	T99-2244	55	F	Fígado	Carcinoma metastático	Primário de mama	KER+, ER-, HER+	Carcinoma de mama metastático
421	T99-2245	25	M	Tireóide	Carcinoma medular de tireóide	Carcinoma folicular	CALC+	Carcinoma medular de tireóide
422	T99-2249	73	M	Linfonodo	Carcinoma	Origem	CHRG/SYN/KER+, TTF-	Carcinoma neuroendócrino pouco diferenciado
423	T99-2250	75	M	Pulmão	Carcinoma	Melanoma, linfoma	KER+	Carcinoma pouco diferencaido
424	T99-2269	82	M	Pulmão	Carcinoma	Origem	TTF/CK20-	Carcinoma pouco diferenciado epidermóide
425	T99-2272	39	F	Linfonodo	Carcinoma	Melanoma	KER/ER/HER2-, S100+	Melanoma metastático
426	T99-2275	54	F	Mama	Infiltração linfocitária reacional	Carcinoma	KER/ER/HER2/CD20-, LCA/MPO+	Células mononucleares atípicas. Cloroma? Hematopoiese?
427	T99-2277	50	M	Pulmão	Carcinoma sarcomatóide	Sarcoma	KER+, DES/S100/CD34/CAL-	Spindle cell ca

ANEXO 2 - 835 casos nos quais a imuno-histoquímica foi utilizada para resolver problemas de diagnóstico diferencial

	CASO	IDADE	SEXO	LOCAL	DIAGNÓSTICO SUSPEITO	DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	ANTICORPOS E RESULTADOS	DIAGNÓSTICO FINAL
428	T99-2291	55	M	Linfonodo	Carcinoma	Origem	KER/SYN/TTF+, CHRG-	Carcinoma metastático de pequenas células primário de pulmão
429	T99-23	55	F	Massa cervical	Paraganglioma	Glomangioma	CHR+, SYN+, S100+, 5HT-, CD31-	Paraganglioma
430	T99-2300		M	Partes moles	Neoplasia fusocelular benigna	Tipo	S100+, DES-, CD34-	Schwanoma
431	T99-2302	75	M	Partes moles	Neoplasia fusocelular benigna	Tipo	S100/DES-, CAL+	Lipoma fusocelular
432	T99-2312	6	F	Submandibular	Neoplasia maligna de pequenas células	Tipo	DES/MGN+, CD99	Rabdomiossarcoma
433	T99-2314	5	F	Massa inguinal	Neoplasia maligna de pequenas células	Tipo	NB-, DES+, MGN+, CD99-	Rabdomiossarcoma
434	T99-2315	10	M	Massa cervical	Doença de Hodgkin	Linfoma	CD30/CD15+, CD20/CD3-	Doença de Hodgkin
435	T99-2328	63	M	Fígado	Carcinoma	Origem	KER/TTF/SYN/LCA nc	Sugestivo de carcinoma de pequenas células (material limitado)
436	T99-2331	69	M	Pulmão	Carcinoma pouco diferenciado	Tipo	SYN+, CHR/TTF-	Carcinoma pouco diferenciado, provavelmente de pequenas células
437	T99-2335	73	F	Pulmão	Carcinoma	Melanoma, mesotelioma	EMA+, CAL/S100-	Carcinoma pouco diferenciado primário de pulmão
438	T99-235	91	F	Mama	Angiossarcoma	Carcinoma	KER-, CD31+, F8+, ER-	Angiossarcoma
439	T99-2350			Pulmão	Carcinoma	Linfoma	KER/SYN+, CHRG/TTF/LCA-	Carcinoma de pequenas células
440	T99-2354	43	F	Fígado	Adenocarcinoma	Hepatocarcinoma	AFP/TTF/CEA/ER/CA125/HCC-	Adenocarcinoma metastático x Colanglocarcinoma
441	T99-2368	79	F	Sacro	Carcinoma	Melanoma, linfoma, sarcoma...	S100/CD20/CD30/CD68/DES/MGN/ER/CAL/MPO-	KER/CK7/EMA+. Carcinoma metastático
442	T99-2374	78	F	Fluido pleural	Adenocarcinoma	Mesotelioma	CAL/CEA/TTF/B72-, EMA/BEREP4+	Adenocarcinoma
443	T99-2379	87	F	Partes moles	Carcinoma	Linfoma	KER/TTF/CD3-, CD20+	Linfoma de grandes células
444	T99-2381	73	M	Fluido pleural	Adenocarcinoma	Mesotelioma	EMA/CEA+, CAL/TTF-	Adenocarcinoma
445	T99-2382	58	F	Colon	Adenocarcinoma	Origem	ER/PR+	Carcinoma ginecológico
446	T99-2384	41	M	Fígado	Hepatocarcinoma	Carcinoma metastático	KER/SYN+, CHRG/CEA/HCC/GLUC-	Carcinoma neuroendócrino metastático
447	T99-240	88	M	Pulmão	Carcinoma	Carcinoma de próstata metastático	PSA-, KER+, CEA-, S100-	Carcinoma pouco diferenciado, não de próstata
448	T99-2406	64	M	Estômago	Tumor carcinóide	Carcinoma	CHRG/SYN/KER+	Tumor carcinóide
449	T99-2408		M	Gengiva	Carcinoma	Linfoma	CD20/LCA+, CD3/MPO/KER-	Linfoma de grandes células
450	T99-2429	75	F	Pulmão	Adenocarcinoma	Origem	TTF/CK7+, CK20-	Adenocarcinoma de pulmão
451	T99-243	56	F	Partes moles	Mixoma	Outro sarcoma	S100-, CD31-, DES-	Mixoma de partes moles
452	T99-2435	18	F	Massa abdominal	Neoplasia maligna de pequenas células	Tipo	MGN/CD99/15/NB/NF/SYN/EMA/CD15/BEREP4-	DES/KER+. Tumor desmoplásico de células redondas
453	T99-2438	94	M	Pulmão	Adenocarcinoma	Origem	CEA/EMA+, CAL/TGB/PSA-	Adenocarcinoma
454	T99-2444	60	F	Linfonodo	Adenocarcinoma	Origem	TTF-, ER-, CA125+	Metastatic Adenocarcinoma. ?Mama ?Ovário
455	T99-2446	78	F	Mediastino	Carcinoma metastático	Origem	RCC/EMA+, CEA-	Carcinoma metastático renal
456	T99-2451	59	M	Pulmão	Carcinoma	Origem	TTF/KER/SYN+, CHRG-	Carcinoma de pequenas células
457	T99-2461	66	F	Estômago	Adenocarcinoma	Mesotelioma	KER/CEA+, CAL/TTF-	Adenocarcinoma pouco diferenciado
458	T99-2466	81	M	Fígado	Hepatocarcinoma	Carcinoma metastático	AFP/CEA/PSA/EMA/RCC-, HCC+	Hepatocarcinoma
459	T99-2478	16	M	Medula espinhal	Neoplasia maligna de pequenas células	Ewing's sarcoma	CD99/SYN+, DES/MGN/KER-	Sarcoma de Ewing/Tumor neuroectodérmico primitivo periférico
460	T99-2489	77	F	Parede torácica	Carcinoma	Melanoma	KER/ER/S100-	Proliferação fibroblástica reacional
461	T99-2491			Rim	Adenoma metanéfrico	Tumor de Wilms	LMWK/EMA+, S100/DES/CD99-	Tumor de Wilms
462	T99-2492	64	M	Pleura	Mesotelioma	Pseudotumor inflamatório	KER+, CD34-	Mesotelioma desmoplásico
463	T99-2497		M	Estômago	Carcinoma	Melanoma, linfoma, sarcoma...	KER/LCA/EMA/CD31-, S100/HMB/MELAN/TYR+	Melanoma
464	T99-250	60	M	Próstata	Carcinoma	Linfoma	KER+, CD20-, CD3-, MPO-	Carcinoma pouco diferenciado
465	T99-2503	72	F	Ombro	Linfoma	Carcinoma, sarcoma	LCA+, KER/S100/DES/CD31/CHRG-	Linfoma
466	T99-251	39	F	Mama	Carcinoma	Linfoma	KER-, CD20+, CD3-, HER2+, MPO-	Linfoma
467	T99-2511	75	M	Nasofaringe	Carcinoma nasofaríngeo	Melanoma	KER+, S100-	Carcinoma nasofaríngeo
468	T99-2526	85	M	Pleura	Mesotelioma	Adenocarcinoma	CAL+, CEA/B72/BER4P4/TTF-	Mesotelioma
469	T99-2528	70	M	Pleura	Mesotelioma	Adenocarcinoma	CAL/TTF-, CEA/B72+	Adenocarcinoma metastático. ?TGI
470	T99-253	74	F	Mama	Carcinoma	Sarcoma	KER+, CD31-, ER-	Carcinoma metaplásico
471	T99-2530	42	M	Partes moles	Sarcoma	Tipo	S100-, DES-, CAL+	Round cell Lipossarcoma
472	T99-2531	74	M	Pulmão	Carcinoma	Origem	RCC/EMA+, HCC/CEA-	Carcinoma metastático renal
473	T99-2539	69	F	Reto	Carcinoma	Origem	CHRG/CK20/CEA/ER-, SYN+	Carcinoma neuroendócrino
474	T99-2541	74	F	Pleura	Carcinoma	Linfoma, sarcoma	KER+, CAL/EMA/TTF/S100/CD68/LCA/DES-	Carcinoma pouco diferenciado. Material limitado
475	T99-2551	56	F	Massa nasal	Carcinoma de pequenas células	Neuroblastoma	KER/SYN+, NB/S100/TTF-	Carcinoma de pequenas células
476	T99-2553		M	Linfonodo	Melanoma	Carcinoma	S100/HMB45/MELAN+, KER-	Melanoma metastático
477	T99-2556	18	F	Útero	Coágulos	Vilosidades coriônicas	HPL-, BHCG-	Ausência de vilosidades e reação de implantação do sítio placentário
478	T99-2562	78	F	Orofaringe	Carcinoma adenóide cístico	Carcinoma de mama metastático	ER/PR-	Carcinoma adenóide cístico
479	T99-2568		M	Próstata	Carcinoma de ductos prostáticos	Carcinoma de cólon	PSA/PAP+, CEA/CK20-	Poorly diff Adenocarcinoma de próstata
480	T99-2571	81	M	Linfonodo	Carcinoma	Origem	PSA+, CDEA-	Carcinoma de próstata metastático
481	T99-2572	64	F	Tireóide	Neoplasia folicular	Caráter	CALC/TGB-	Neoplasia folicular
482	T99-2573	79	F	Femur	Neoplasia maligna	Origem	KER/S100/MPO-, LCA+	Processo linfoproliferativo em células amassadas
483	T99-2585	28	F	Útero	Tumor estromal	Carcinoma	KER-, INH/CAL+	Tumor estromal
484	T99-2600	35	M	Hydrocele fluid	Células mesoteliais reacionais	Seminoma	CAL-, KER-, PLAP+	Presença de células degeneradas de seminoma
485	T99-2603	62	M	Pulmão	Adenocarcinoma	Origem	CK20+, TTF-	Adenocarcinoma metastático de cólon
486	T99-2616	79	M	Pulmão	Carcinoma	Linfoma, melanoma	CHRG/CEA/KER/TTF/S100-, LCA/CD20+	Linfoma de grandes células
487	T99-2622	80	M	Linfonodo	Carcinoma	Linfoma, melanoma	KER-, S100/HMB45+, LCA-	Melanoma metastático
488	T99-2625	49	M	SNC	Carcinoma metastático	Seminoma	TTF, CEA, TGB, CD30/AFP+	Carcinoma germinativo metastático

ANEXO 2 - 835 casos nos quais a imuno-histoquímica foi utilizada para resolver problemas de diagnóstico diferencial

	CASO	IDADE	SEXO	LOCAL	DIAGNÓSTICO SUSPEITO	DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	ANTICORPOS E RESULTADOS	DIAGNÓSTICO FINAL
489	T99-2630	79	F	Estômago	Hiperplasia linfóide	Linfoma	CD20+, BCL2-	Hiperplasia linfóide
490	T99-2634	78	F	Fígado	Neoplasia fusocelular	Carcinoma	CD34+, KER/DES/S100-	Tumor do estroma gastrointestinal
491	T99-2646	70	M	Linfonodo	Linfoma	Tipo	CD20+, CD3/CD30-	Linfoma B de grandes células
492	T99-2648		F	Osso	Reação histiocitária	Granuloma eosinofílico	CD1-, S100-, CD31	Granuloma eosinofílico improvável
493	T99-2657	76	M	Massa Pélvica	Carcinoma	Origem	PSA/CEA+	Carcinoma de próstata metastático
494	T99-266	82	F	Massa abdominal	Leiomiossarcoma	Carcinoma sarcomatóide	DES-, KER-, CD34-	Hemangiopericitoma maligno
495	T99-2668	34	F	Fluido peritoneal	Mesotelioma	Adenocarcinoma	CEA/CAL/CK5.6-, EMA/B72+, ER, AFP	Adenocarcinoma
496	T99-267	70	M	Laringe	Carcinoma de tireóide	Melanoma	CHR+, TGB-, S100-, CEA+, CALCIT+	Carcinoma medular de tireóide
497	T99-2673	61	M	Colon	Sarcoma	Carcinoma, melanoma	KER/RCC/S100/MELAN/TYROS/CD34/DES-	Carcinoma renal sarcomatóide
498	T99-268	85	M	Partes moles	Carcinoma	Linfoma e melanoma	KER+, LCA-, CD20-, SYN+, S100-	Carcinoma de pequenas células
499	T99-2680	82	M	Próstata	Inflamação	Carcinoma	KER-, MPO+	Coágulo fibrinopurulento
500	T99-269	78	F	Língua	Carcinoma	Alterações reacionais/inflamatórias	KER+, CD31-	Carcinoma epidermóide
501	T99-2694				Fibrohistiocitoma maligno	Carcinoma	DES/S100/CD34/KER-	Fibrohistiocitoma maligno
502	T99-2695	81	F	Pulmão	Adenocarcinoma	Origem	ER+, TTF-	Carcinoma metastático de mama
503	T99-27	44	F	Partes moles	Carcinoma	Origem anexial ou carcinoma de mama	GCDFP-, ER-, S100+, CEA-, EMA+	Carcinoma sebáceo
504	T99-270	61	F	Massa inguinal	Adenocarcinoma	Origem	KER+, CEA+, ER-	Adenocarcinoma pouco diferenciado ginecológico ou de TGI
505	T99-2707	76	F	Fígado	Adenocarcinoma	Origem	TTF/CHRG/5HT-, CEA+	Adenocarcinoma neuroendócrino
506	T99-2711	52	M	Peritonium	Adenocarcinoma	Mesotelioma	CK20/KER+, CAL-	Carcinoma metastático de cólon
507	T99-272	56	M	Fígado	Carcinoma metastático	Carcinoma de pequenas células	KER+, SYN+, CHRG-	Carcinoma de pequenas células
508	T99-2732			Cavidade nasal	Linfoma	Carcinoma	CD20+, KER-	Linfoma de grandes células
509	T99-2737	54	M	Small bowel	Linfoma	Tipo	CD20+, CD3/CD30-	Linfoma de grandes células
510	T99-2740	85	F		Carcinoma neuroendócrino	Adenocarcinoma	KER/SYN+, TTF/CHRG-	Carcinoma neuroendócrino
511	T99-2756	49	F	Partes moles	Melanoma	Carcinoma, sarcoma	KER/DES/CD31/HMB45-, S100/MELANTYROS+	Melanoma
512	T99-2757	68	F	Linfonodo	Carcinoma	Origem	ER/TTF-	Carcinoma pouco diferenciado
513	T99-2768	51	F	Paratireóide	Carcinoma de tireóide	Carcinoma de paratireóide	TGB/TTF-, PTH+	Carcinoma de paratireóide
514	T99-278	29	F	Pineal	Glioma	Carcinoma metastático	GFAP/KER/PLAP/BHCG/S100/CD1/EMA/NB/LCA-	SYN+, NF+, Ganglioneuroma
515	T99-2780	75	F	Fluido pleural	Carcinoma	Mesotelioma	CAL/RCC+, CEA-	Material insuficiente para análise
516	T99-2783	62	M	Reto	Carcinoma neuroendócrino	Carcinoma de próstata	CHRG/PSA/5HT-, SYN/CEA+	Adenocarcinoma pouco diferenciado neuroendócrino
517	T99-2788	72	M	Fígado	Carcinoma	Origem	CHRG/HCC-, SYN/KER+	Carcinoma pouco diferenciado com extensa necrose
518	T99-2792	73	M	Pulmão	Células mesoteliais reacionais	Carcinoma, melanoma	KER/CALRET+, S100/CD31-, EMA?	Material limitado; células mesoteliais atípicas
519	T99-2802	55	F	Vulva	Melanoma	Linfoma, carcinoma, sarcoma	KER/CD31/LCA/DES-, S100/HMB45/MELAN+	Melanoma
520	T99-2803	59	M	Pulmão	Carcinoma bronquíolo-alveolar	Carcinoma de tireóide	TTF+, TGB-	Carcinoma bronquíolo-alveolar
521	T99-2804	29	F	Língua	Linfoma	Carcinoma	KER/CHRG/SYN/CD3-, LCA/CD20+	Linfoma de grandes células
522	T99-2805	64	M	Partes moles	Carcinoma metastático	Origem	KER/CEA+, TTF-	Adenocarcinoma. TGI? Pâncreas? Pulmão?
523	T99-2820	53	F	Pulmão	Adenocarcinoma	Mesotelioma	CAL-, CEA/EMA/TTF+	Adenocarcinoma pouco diferenciado
524	T99-2821	81	M	Órbita	Melanoma	Carcinoma, linfoma	KER/CD20/CD34/MELAN/TYROS-, S100/CD3+	Melanoma
525	T99-2822	79	F	Pulmão	Carcinoma	Origem	KER/CEA/TTF/CHRGnc	Material insuficiente para análise
526	T99-2824	89	F	Fluido pleural	Células mesoteliais reacionais	Adenocarcinoma	EMA/CAL+, CEA-	Células mesoteliais reacionais
527	T99-2825	70	F	Colon	Carcinoma	Origem	KER/SYN+, CHRG/TTF-	Carcinoma de pequenas células
528	T99-2835	52	F	Cervix	Neoplasia fusocelular	Mioma	DES+	Adenomioma polipóide com metaplasia escamosa
529	T99-2841	90	F	Bexiga	Carcinoma invasor	Carcinoma in situ	KER+, DES+	Carcinoma de células transicionais, GIII, com invasão muscular
530	T99-2843	65	F	Linfonodo	Carcinoma	Melanoma	KER+, HMB/MELAN-	Carcinoma pouco diferenciado
531	T99-2844	97	F	Linfonodo	Linfoma	Carcinoma	LCA/CD20+, KER-	Linfoma de grandes células
532	T99-2857	66	F	Colon	Carcinoma	Melanoma	KER/TTF+, S100/ER-	Carcinoma pouco diferenciado de pulmão
533	T99-286	42	F	Tireóide	Carcinoma folicular	Carcinoma medular	TGB+, CHRG-, CALC-	Carcinoma folicular de tireóide, tipo insular
534	T99-2861	51	F	Fígado	Hepatocarcinoma	Carcinoma metastático	HCC+, CK7/EMA/CEA/AFP-	Hepatocarcinoma
535	T99-2862	61	F	Parede torácica	Carcinoma	Origem	ER/CA125+, TTF/PR-	Carcinoma de origem ginecológica
536	T99-2863	65	M	Pulmão	C arcinoma	Origem	PSA/PAP/CEA+, TTF-	Carcinoma de próstata metastático
537	T99-2864	60	M	Próstata	Adenocarcinoma de próstata	Carcinoma urotelial	Prost.PSA/PAPH+, CEA-, Bexiga PSA/PAPH-, CEA+	Carcinoma de próstat pouco diferenciado e carcinoma urotelial
538	T99-2870	76	M	Testículo	Linfoma	Seminoma	AFP/PLAP/CD20-, LCA+	Linfoma de grandes células
539	T99-2871	29	M	Fluido pleural	Neoplasia maligna indiferenciada	Origem	KER+, TTF/CEA/CAL/EMA/CD30/PLAP/AFP/DES-	S100/RCC/MGN/MELAN/HMB45-. Neoplasia maligna indiferenciada
540	T99-2873			Fígado	Hepatocarcinoma	Outro carcinoma	HCC+, CEA/CK7/AFP-	Hepatocarcinoma
541	T99-2874	35	M	Retroperitônio	Linfoma	Sarcoma	LCA/CD20+, DES/CD34-	Linfoma de grandes células
542	T99-2892	72	M	Pulmão	Carcinoma	Origem	CHRG/TTF/SYN/PSA-, CEA+	Carcinoma pouco diferenciado
543	T99-290	68	F	Fluido peritoneal	Adenocarcinoma	Mesotelioma	EMA+, CAL-, CEA-, ER-	Adenocarcinoma
544	T99-2904		M	Rim	Carcinoma de ductos coletores	Carcinoma urotelial	TTF/CK20-, CEA+	Carcinoma pouco diferenciado. Urotelial? Pulmão?
545	T99-2906	73	F	Fígado	Carcinoma	Linfoma	KER/SYN/TTF+, LCA-	Carcinoma metastático de pequenas células de pulmão
546	T99-2911	47	M	Linfonodo	Neoplasia maligna indiferenciada	Origem	KER/CD20/CD30/CHRG/DES/EMA/AFP/SYN/CD99-	Neoplasia extensamente necrótica. IHQ não contribuitória
547	T99-2920	44	F	Massa Pélvica	Mesotelioma	Adenocarcinoma	KER/EMA+, ER/INH/CAL-	Carcinoma metastático de TGI ou mama
548	T99-2921		M	Íleo	Neoplasia fusocelular	Origem	CD34/DES/KER-, S100/NGFR+	Schwanoma
549	T99-2922	78	F	Pleura	Carcinoma	Origem	ER+, CAL/TTF-	Carcinoma metastático de mama

ANEXO 2 - 835 casos nos quais a imuno-histoquímica foi utilizada para resolver problemas de diagnóstico diferencial

	CASO	IDADE	SEXO	LOCAL	DIAGNÓSTICO SUSPEITO	DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	ANTICORPOS E RESULTADOS	DIAGNÓSTICO FINAL
550	T99-2923	82	M	Pulmão	Inflamação	Carcinoma	KER/CD34-	Pleurite crônica
551	T99-2931	81	F	Epidural	Carcinoma	Origem	ER+, CK20/TTF-	Carcinoma de origem ginecológica
552	T99-2932	59	F	Pericárdio	Carcinoma	Origem	ER/TTF/CAL/HER2-	Carcinoma metastático de mama
553	T99-2933	43	M	Retromolar	Carcinoma	Linfoma	TTF/KER/SYN-, CD20+	Linfoma de Burkitt
554	T99-2940	59	F	Linfonodo	Carcinoma	Origem	RCC/HCC-, KER/CEA+	Carcinoma de células claras metastático (escamoso ou transicional)
555	T99-2946	60	F	Linfonodo	Carcinoma metastático	Sarcoma	KER/ER+, S100/DES/TTF-	Carcinoma metastático de mama
556	T99-2947	34	F	Vulva	Neoplasia fusocelular	Neoplasia maligna	KER/LCA/CD20/CD1-, S100+	Nevo intradérmico polipóide, inflamado e irritado
557	T99-2955	94	M	Fígado	Carcinoma	Origem	CHRG/TTF/PSA/CK7/CEA-, KER+, HCC?	Carcinoma pouco diferenciado
558	T99-2956	81	M	Pleura	Carcinoma	Mesotelioma	CHRG/CAL/PSA-, TTF+	Carcinoma metastático de pequenas células de pulmão
559	T99-2969	91	F	Estômago	Carcinoma	Melanoma	ER/KER+, TTF/S100-	Carcinoma lobular de mama
560	T99-2970	60	M	Pulmão	Carcinoma	Melanoma	KER+, S100-	Carcinoma
561	T99-2971	74	F	Adrenal	Carcinoma adrenal	Angiomiolipoma	S100/HMB45/KERnc	Material insuficiente para análise
562	T99-2973	87	F	Pulmão	Carcinoma	Origem	TTF/ER/CK20-, SYN+	Carcinoma de pequenas células
563	T99-2979	75	M	Pele	Carcinoma metastático	Origem	PSA/PAPH+, CEA/TTF-	Carcinoma de próstata metastático
564	T99-2980	80	F	Fígado	Carcinoma	Origem	HCC+, CK7/CEA/CHRG-	Hepatocarcinoma
565	T99-2985	56	F	Umbigo	Carcinoma lobular de mama metastático	Infiltração linfocitária	ER+, PR/HER2-	Carcinoma lobular de mama metastático
566	T99-300	74	M	Fluido pleural	Mesotelioma	Adenocarcinoma	CAL-, EMA+, CEA+, B72.3+	Adenocarcinoma
567	T99-3000	83	M	Pulmão	Carcinoma	Origem	TTF/SYN/KER+, PSA/CK20/CK7-	Carcinoma de pequenas células
568	T99-3001	75	F	Massa cervical	Carcinoma metastático de mama	Outro carcinoma	ER+, PR/HER2-	Carcinoma metastático de mama
569	T99-3007	68	M	Fígado	Carcinoma	Sarcoma	KER/DES/S100/CD34/DES/CKIT-, SMA+	Leiomiossarcoma
570	T99-3008	53	F	Fígado	Carcinoma de pequenas células metastático	Outro carcinoma	TTF/SYN+, CK7/HCC/KER-	Carcinoma neuroendócrino metastático
571	T99-3015	81	F	Fluido pleural	Adenocarcinoma	Mesotelioma	CAL-, EMA/CEA+	Adenocarcinoma
572	T99-3016	84	M	Fluido pleural	Células mesoteliais reacionais	Mesotelioma	CAL+, EMA-	Pleurite crônica
573	T99-3032	82	F	Fluido peritoneal	Adenocarcinoma	Origem	EMA/CEA/CA125+, CAL/TTF/ER-	Carcinoma de origem ginecológica
574	T99-3042	75	F	Rim	Carcinoma renal	Carcinoma metastático	KER+, INH/CAL/SYN/RCC/TTF-	Carcinoma de células renais
575	T99-306	62	M	Fígado	Carcinoma renal	Hepatocarcinoma	AFP/CK7/CEA/HCC all -	Carcinoma renal metastático
576	T99-3066	61	M	Colon	Carcinoma renal	Sarcoma	KER/RCC/S100-	Carcinoma renal sarcomatóide
577	T99-3076	59	M	Retroperitônio	Tumor germinativo	Componentes	PLAP/CD30/KER+	Seminoma
578	T99-3091	69	M	Próstata	Carcinoma de próstata	Outro carcinoma	PSA/PAPH+, CEA-	Carcinoma de próstata pouco diferenciado
579	T99-3092	66	F	Estômago	Linfoma	Carcinoma	KER/CD3/CD30-, CD20+	Linfoma de grandes células
580	T99-3093	74	M	Bexiga	Carcinoma transicional	Carcinoma prostático	KER/CEA+, PSA-	Carcinoma pouco diferenciado transicional
581	T99-311	73	M	Adrenal	Carcinoma	Sarcoma	KER+, DES/S100/CD31/CHRG-	Carcinoma pouco diferenciado
582	T99-312	77	M	Linfonodo	Carcinoma sarcomatóide	Sarcoma	KER-, S100+, HMB45-, DES-, NGFR+	Sarcoma neurogênico
583	T99-3126	71	M	Pleura	Adenocarcinoma	Mesotelioma	CEA/TTF+, CAL-	Adenocarcinoma de pulmão
584	T99-3132	73	M	Pulmão	Adenocarcinoma	Mesotelioma	CAL/EMA+, CEA/TTF-	Mesotelioma
585	T99-3134	89	F	Fluido pleural	Mesotelioma	Melanoma, adenocarcinoma	CEA/EMA/TTF/S100-, CAL+	Células mesoteliais reacionais
586	T99-3135	55	M	Rim	Carcinoma	Origem	RCC+, TTF/CK20/CEA-	Carcinoma renal
587	T99-3139	85	M	Duodeno	Neoplasia necrótica	Origem	KER/CD30/CD20/LCA-	Neoplasia necrótica
588	T99-3142	74	M	Fluido pleural	Adenocarcinoma	Mesotelioma	CEA/TTF-, EMA/CAL+	Mesotelioma
589	T99-3144	42	F	Ovário	Carcinoma	Linfoma	CD20+, CD30-	Linfoma de grandes células
590	T99-3146	39	M	Mediastino	Carcinoma	Seminoma, melanoma, sarcoma	KER+, S100/CD31/AFP/PLAP/DES/EMA/CD30/RCC-	Neoplasia maligna indiferenciada
591	T99-3150	62	M	Pleura	Adenocarcinoma	Mesotelioma	KER/CEA/TTF+, CAL-	Carcinoma pouco diferenciado de pulmão
592	T99-3157	74	F	Massa Pélvica	Linfoma	Carcinoma, melanoma, sarcoma	KER/CHRG/DES/S100/CD30/MPO-, LCA/CD20+	Linfoma de grandes células
593	T99-3158	64	M	Bexiga	Neoplasia maligna de pequenas células	Origem	KER/CHRG/NB/DES/EMA-, SYN/CD99+	Tumor neuroectodérmico primitivo periférico
594	T99-3159			Medula óssea	Linfoma	Tipo	CD30/CD15/CD20nc	Material insuficiente para análise
595	T99-3160	36	F	Salivary gland	Linfoma	Carcinoma	CD20+, KER/CD30-	Linfoma de grandes células
596	T99-3161	73	F	Linfonodo	Linfoma	Tipo	CD20+, CD30/15-	Linfoma de grandes células
597	T99-3162	32	M	Linfonodo	Linfoma	Tipo	CD20+, CD30-	Linfoma de grandes células
598	T99-3163	30	F	Linfonodo	Carcinoma	Linfoma, melanoma	KER/S100/CD20/LCA-, CD30+	Linfoma anaplásico
599	T99-3164	66	F	Linfonodo	Carcinoma	Origem	ER/CA125+, TTF-	Carcinoma de origem ginecológica
600	T99-3170	58	F	Medula espinhal	Ependimoma	Plasmocitoma	GFAP, EMA, S100, K, L, IGM, IGG	Ependimoma mixopapilar e plasmocitoma
601	T99-3171	41	M	Fígado	Tumor carcinóide metastático	Tipo	CHRG/5FT+, SOMAT/PPP/CALC-	Tumor carcinóide metastático
602	T99-3185	64	F	Fluido peritoneal	Adenocarcinoma	Mesotelioma	CAL/EMA+, CEA/HCC-	Células mesoteliais reacionais
603	T99-32	77	M	Fluido pericárdico	Linfoma	Carcinoma metastático ou mesotelioma	LCA+, CD20+, KER-, CAL-	Linfoma
604	T99-3200	81	F	Nasal mucosa	Carcinoma	Melanoma, neuroblastoma	KER+, S100/NB/CEA-	Carcinoma pouco diferenciado
605	T99-3203	40	M	Massa Pélvica	Linfoma	Tipo	CD20+, CD30/CD3-	Linfoma B de grandes células
606	T99-3204	65	F	Fígado	Hepatocarcinoma	Carcinoma metastático	CK7/EMA+, ER/HER2/HCC/AFP-	Carcinoma metastático provavelmente de mama
607	T99-3205	71	M	Medula óssea	Carcinoma metastático	Origem	PSA/PAPH-, CEA+	Adenocarcinoma. TGI? Pâncreas? Pulmão?
608	T99-3206	66	F	Fígado	Hepatocarcinoma	Carcinoma metastático	CK7/CEA+, HCC/AFP-	Carcinoma pouco diferenciado metastático x Colangiocarcinoma
609	T99-3207	58	M	Fígado	Carcinoma	Origem	CK20/TTF/PSA/CEAnc	Material insuficiente para análise
610	T99-321	73	M	Pâncreas	Tumor papilar sólido e cístico	Tumor das ilhotas pancreáticas	CHRG-, SYN+, NSE-, EMA+	Tumor papilar sólido e cístico

ANEXO 2 - 835 casos nos quais a imuno-histoquímica foi utilizada para resolver problemas de diagnóstico diferencial

	CASO	IDADE	SEXO	LOCAL	DIAGNÓSTICO SUSPEITO	DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	ANTICORPOS E RESULTADOS	DIAGNÓSTICO FINAL
611	T99-3213	49	F	Massa Pélvica	Carcinoma	Tumor do estroma ovariano	KER/ER+, INH/CAL/TGB-	Carcinoma endometrial com padrão de tumor do estroma ovariano
612	T99-3221	74	F	Fígado	Tumor carcinóide metastático	Outro carcinoma	CHRG/SYN/5HT+, GAST/SOMAT/CALC-	Tumor carcinóide
613	T99-3223		M	Próstata	Carcinoma	Origem	PSA/PAPH/KER/SYN+	Carcinoma de pequenas células
614	T99-3231	76	M	Pleura	Adenocarcinoma	Mesotelioma	KER/EMA/CAL+, TTF/CEA/B72/BEREP4-	Mesotelioma
615	T99-325	82	F	Pele	Adenocarcinoma metastático	Origem	CK20-, ER+, CEA-, CA125+	Adenocarcinoma metastático de origem mulleriana
616	T99-3260	62	M	Massa cervical	Carcinoma	Origem	CK20-, TTF/KER/SYN+	Carcinoma metastático de pequenas células primário de pulmão
617	T99-3268	56	M	Femur	Fibrohistiocitoma maligno	Carcinoma renal sarcomatóide	EMA/S100/RCC/KER/CAL-	Lipossarcoma pleomórfico
618	T99-327	57	M	Partes moles	Leiomiossarcoma	Outro sarcoma	DES+, KER-, S100-	Leiomiossarcoma
619	T99-3274	85	M	Massa axilar	Carcinoma de pequenas células	Linfoma, sarcoma	KER/SYN+, CD99/DES/LCA/PSA-	Carcinoma de pequenas células
620	T99-3291	72	F	Pulmão	Adenocarcinoma	Origem	TTF-, ER/CA125+	Adenocarcinoma metastático de endométrio
621	T99-3304	62	M	Pulmão	Necrose	Carcinoma	RCC/CEA/TTF-	Neoplasia necrótica sugestiva de carcinoma de pequenas células
622	T99-332	64	M	Massa omento	Sarcoma	Carcinoma, mesotelioma	KER/CAL/CEA/RCC/S100/DES/CD34 all -	Sarcoma indiferenciado
623	T99-3321		M	Rim	Carcinoma transicional	Carcinoma renal	CEA/TTF-, RCC/EMA+	Carcinoma renal
624	T99-3322	71	F	Fluido peritoneal	Mesotelioma	Adenocarcinoma	CAL/ER-	Inclusões serosas benignas
625	T99-3328	1	F	Paravertebral mass	Neoplasia maligna de pequenas células	Tumor neuroectodérmico primitivo periférico	DES/MGN/NB-, CD99/SYN/S100+	Tumor neuroectodérmico primitivo periférico
626	T99-3329	9	M	Medula espinhal	Linfoma	Sarcoma de pequenas células	DES/CD99/MPO/CD3-, LCA/CD20+	Linfoma
627	T99-333	52	M	Medula espinhal	Hamartoma	Mal formação	CD31/KER/S100 ne	Material insuficiente para análise
628	T99-3330	2	M	Medula espinhal	Neoplasia maligna de pequenas células	Tumor neuroectodérmico primitivo periférico	CD99/DES/LCA/MPO-, SYN+	Tumor neuroectodérmico primitivo periférico
629	T99-3331	4	F	Massa paravertebral	Ganglioneuroblastoma	Outro	NB/SYN+, S100/RET-	Ganglioneuroblastoma
630	T99-3333	4	M	Retroperitônio	Linfoma	Sarcoma de pequenas células	LCA/CD20+, MPO/DES/CD30-	Linfoma
631	T99-3345	76	M	Pulmão	Carcinoma metastático	Origem	TTF/PSA/PAPH-, KER+	Carcinoma pouco diferenciado; primário de próstata improvável
632	T99-3357		M	Estômago	Neoplasia maligna	Carcinoid, carcinoma	CHRG/5HT/KER/CEA/SMA/S100-, DES+	Células neoplásicas de origem indeterminada
633	T99-3366	87	M	Medula óssea	Carcinoma	Origem	PSA/CEA/CHRG/TTF-, KER+	Carcinoma metastático de pequenas células
634	T99-3367	67	M	Fluido pleural	Adenocarcinoma	Mesotelioma	CAL+, TTF/CEA/EMA-	Células mesoteliais reacionais
635	T99-3383	68	M	Uretra	Úlcera e tecido de granulação	Carcinoma	KER-, CD31+	Úlcera e tecido de granulação
636	T99-3387	82	F	Pleura	Células mesoteliais reacionais	Mesotelioma	CAL/EMA/CEA/TTFnc	Material insuficiente para análise
637	T99-3390	74	M	Pleura	Adenocarcinoma	Mesotelioma	CAL/EMA/KER+, CEA/TTF/HCA/B72-	Mesotelioma
638	T99-3391	65	F	Mesentério	Neoplasia maligna epitelióide	Sarcoma, melanoma, mesotelioma	ER/CAL/INH/KER/CD34/RCC/HCC/SMA/MSA/S100-	DES+, Leiomiossarcoma epitelióide
639	T99-34	78	M	Rim	Carcinoma renal	Metástase carcinoma próstata	PSA-, PAPH-, CEA-, RCA+, KER+	Carcinoma renal
640	T99-3400	57	M	Linfonodo	Linfoma	Carcinoma	KER/TTF/SYN+, LCA-	Carcinoma de pequenas células
641	T99-3405	37	F	Amígdala	Hiperplasia linfóide reacional	Linfoma	CD20/CD3+	
642	T99-3417	64	F	Fluido pleural	Carcinoma de mama	Carcinoma de tireóide	TGB-, ER+	Carcinoma de mama metastático
643	T99-3421	74	M	Fígado	Carcinoma	Linfoma, melanoma	KER/S100/CD20-, LCA/CD30+	Linfoma
644	T99-3434		M	Fígado	Tumor carcinóide metastático	Tipo	CHRG-, SYN+	Carcinoma neuroendócrino metastático
645	T99-3445	76	M	Estômago	Tumor do estroma gastrointestinal	Outro sarcoma	CKIT+	Tumor do estroma gastrointestinal
646	T99-3447	67	M	Rim	Carcinoma urotelial	Carcinoma metastático	KER/CEA+, RCC/TTF-	Carcinoma urotelial pouco diferenciado
647	T99-3457	47	M	Fígado	Adenocarcinoma metastático	Hepatocarcinoma	KER/CEA/CK7-, HCC+	Hepatocarcinoma
648	T99-346	54	F	Pele	Melanoma	Carcinoma	S100/HMB45/MELAN +	Melanoma
649	T99-3462	61	F	Mama	Carcinoma ductal	Carcinoma neuroendócrino	ER/EMA+, CHRG-	Carcinoma ductal
650	T99-3472	68	F	Partes moles	Neoplasia fusocelular	Origem	DES/SMA+, S100/CD31-	Leiomioma
651	T99-3475	73	F	Massa inguinal	Melanoma	Carcinoma	S100/MELAN/TYROS+, HMB45-	Melanoma metastático
652	T99-3499			Tímpano	Tumor glômico	Carcinoma	CHRG/SYN/NSE+, KER/S100-	Paraganglioma
653	T99-3500	78	F	Pulmão	Adenocarcinoma	Mesotelioma	TTF/CEA+, CHRG/CAL-	Adenocarcinoma de pulmão
654	T99-3504	59	F	Dura mater	Melanoma	Carcinoma, glioblastoma	GFAP/KER/TTF/CHRG-, S100/HMB/TYROS/MELAN+	Melanoma metastático
655	T99-3508	67	M	Mediastino	Carcinoma de pulmão	Carcinoma renal	KER/CEA+, TTF/RCA-	Carcinoma metastático
656	T99-3519	45	F	Parótida	Linfoepitelioma	Lesão linfoepitelial benigna	CD20+, CD3+, CD30-, KER-	Lesão linfoepitelial benigna
657	T99-3520	71	F	Estômago	Carcinoma	Sarcoma, melanoma	KER/CHRG+, CEA/DES/CD34/S100-	Carcinoma neuroendócrino pouco diferenciado
658	T99-3525	82	M	Bexiga	Adenocarcinoma pouco diferenciado	Linfoma, melanoma	KER+, LCA/PSA/S100-	Adenocarcinoma pouco diferenciado
659	T99-3532		M	Fígado	Tumor do estroma gastrointestinal	Carcinoma, sarcoma	CKIT/CD34+, KER/DES-	Tumor do estroma gastrointestinal
660	T99-3535	75	M	Fígado	Linfoma	Carcinoma	KER/SYN+, CHRG/CD20/MPO/CD30-	Carcinoma de pequenas células
661	T99-3558	72	M	Partes moles	Adenocarcinoma	Origem	ER/PSA/TTF-, HER2+	Adenocarcinoma
662	T99-3570	80	F	Fígado	Carcinoma	Linfoma, mesotelioma	KER/CEA/ER/CAL/MPO/CD30-, LCA/CD20+	Linfoma de grandes células
663	T99-3571		F	Linfonodo	Linfoma	Tipo	CD20+, CD3-	Linfoma de grandes células
664	T99-3575	49	M	Ouvido médio	Paraganglioma	Carcinoma, sarcoma	CHRG/DES/KER-, SYN/S100+	Paraganglioma
665	T99-3580	89	F	Osso	Processo reparativo benigno	Neoplasia maligna	S100/CD1/K/L/CD20/CD3/KER/MUR/MPO-	Benign reparative process
666	T99-3588	50	M	Fígado	Hepatocarcinoma	Carcinoma metastático	CEA/CK20/HCC-, KER/CK7+	Adenocarcinoma pouco diferenciado. ?Pâncreas
667	T99-3592	70	M	Fígado	Adenocarcinoma	Origem	CEA/CK20-, CK7+	Adenocarcinoma
668	T99-3597	59	F	Fígado	Adenocarcinoma	Origem	ER+, CEA-	Adenocarcinoma metastático de endométrio
669	T99-3603	58	F	Brônquio	Linfoma	Carcinoma	KER/SYN+, CHRG/LCA-	Carcinoma de pequenas células
670	T99-3605	67	F	Pulmão	Melanoma	Carcinoma	ER/CHRG/CEA/S100-, SYN/KER+	Carcinoma de pequenas células
671	T99-3611	85	F	Parótida	Sarcoma	Carcinoma	CD31, DES, KER, S100+, LMWK/SMA-	Sarcoma de alto grau

ANEXO 2 - 835 casos nos quais a imuno-histoquímica foi utilizada para resolver problemas de diagnóstico diferencial

	CASO	IDADE	SEXO	LOCAL	DIAGNÓSTICO SUSPEITO	DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	ANTICORPOS E RESULTADOS	DIAGNÓSTICO FINAL
672	T99-362	26	M	Testículo	Coriocarcinoma	Carcinoma embrionário	KER+, BHCG+, CD30-	Coriocarcinoma
673	T99-3620	81	M	Partes moles	Carcinoma	Melanoma, linfoma, sarcoma...	CD20+, CD3/KER/DES/S100-	Linfoma de grandes células
674	T99-363	56	F	Endométrio	Carcinoma	Carcinoma mama metastático	ER-, CA125-, HER2+	Carcinoma mama metastático
675	T99-3648	84	M	Pleura	Mesotelioma	Tumor do estroma gastrointestinal	KER/CAL+, CEA/CD34-	Lesão fibromesotelial atípica
676	T99-3649	83	M	Fígado	Melanoma	Carcinoma	KER/CEA/CK7+, S100-	Adenocarcinoma pouco diferenciado
677	T99-366	65	M	Parótida	Carcinoma	Linfoma	KER+, SYN+, CHRG/S100/LCA -	Metastase de carcinoma de pequenas células
678	T99-3663	82	M	SNC	Glioblastoma	Carcinoma metastático	GFAP+, KER-	Glioblastoma
679	T99-3669	63	F	Fígado	Sarcoma	Carcinoma	DES/KER/S100-, CKIT/CD34+	Tumor do estroma gastrointestinal
680	T99-367	67	M	SNC	Glioblastoma	Linfoma	CD20+, LCA/GFAP/CD30 -	Linfoma
681	T99-3672	71	M	Bexiga	Adenocarcinoma	Origem	CK20+, CK7/PSA-	Adenocarcinoma metastático de cólon
682	T99-3673	80	M	Fígado	Sarcoma	Carcinoma sarcomatóide	CK7/S100/CK20/CEA/DES/CD31-, KER+	Carcinoma sarcomatóide
683	T99-3675	85	M	Fígado	Carcinoma	Origem	CK20/CK7/CEAnc	Material insuficiente para análise
684	T99-3676	76	M	Fígado	Hepatocarcinoma	Adenocarcinoma	HCC+, CK7/CK20/CHRG-	Hepatocarcinoma
685	T99-3677	83	M	Adrenal	Carcinoma adrenal	Melanoma	TYROS/S100/HMB/KER/CHRG/HCC-, MELAN/SYN+	INH+. Neoplasia maligna. ?Melanoma ?Carcinoma adrenal
686	T99-3689	72	M	Pulmão	Carcinoma pouco diferenciado	Origem	TTF/PSA-, CEA+	Carcinoma pouco diferenciado
687	T99-3696	56	F	Linfonodo	Carcinoma pouco diferenciado	Origem	TTF/KER+, CHRG-	Carcinoma metastático de pequenas células de pulmão
688	T99-3700	69	M	Próstata	Carcinoma urotelial	Carcinoma prostático	PSA-, CEA+	Carcinoma urotelial de alto grau
689	T99-3702	75	F	Baço	Carcinoma	Origem	RCA/KER+, CD68-	Carcinoma renal metastático
690	T99-3703	23	M	Pele	Carcinoma metastático	Origem	HCG/KER+	Coriocarcinoma metastático
691	T99-3705	42	F	Linfonodo	Doença de Hodgkin	Linfoma	CD20/CMV-, CD30+	Doença de Hodgkin
692	T99-3707	50	F	Retroperitônio	Tumor estromal	Origem	INH/CAL+, KER/ER/CHRG-	Tumor do estroma ovariano com estruturas tubulares
693	T99-3708	34	F	Fluido pericárdico	Carcinoma	Mesotelioma	CAL+, CEA/EMA/TTF-	Células mesoteliais reacionais
694	T99-3718		M	Pulmão	Reação histiocitária	Carcin oma, melanoma	KER/EMA/CD1/S100/HMB45-, CD68+	Reação histiocitária benigna
695	T99-3720		M	Linfonodo	Hiperplasia linfóide reacional	Linfoma	CD20/CD3/K/L+	Hiperplasia linfóide reacional
696	T99-3751	50	F	Massa Pélvica	Carcinoma de cólon	Adenocarcinoma de origem mulleriana	ER/CA125+, CK20/CEA-	Adenocarcinoma de origem mulleriana
697	T99-3753	75	F	Retroperitônio	Fibrohistiocitoma maligno	Carcinoma, melanoma, linfoma	DES/S100/KER/LCA-	Fibrohistiocitoma maligno
698	T99-3765	74	F	Linfonodo	Carcinoma metastático	Origem	TTF+, TGB/ER/CEA/CAL-	Adenocarcinoma papilar metastático de pulmão
699	T99-378	62	F	Partes moles	Neoplasia maligna indiferenciada	Origem	KER/S100/DES/CD31 nc	Material insuficiente para análise
700	T99-3780	83	F	Fígado	Carcinoma	Linfoma, melanoma	KER/HCC+, LCA/S100/CEA/CK7/ER-	Hepatocarcinoma pouco diferenciado
701	T99-379	77	F	Mediastino	Carcinoma	Origem	KER+, P53+, CEA-	Carcinoma pouco diferenciado (pulmão x timo)
702	T99-3790		M	Osso	Carcinoma metastático	Origem	TTF/CEA+, PSA/CHRG/CK20/AMYL/LIP/AAT-	Adenocarcinoma. TGI? Pâncreas? Pulmão?
703	T99-3799	67	F	Eyhmoid sinus	Linfoma	Carcinoma, melanoma, sarcoma	KER/CHRG/SYN/S100/DES/CD20/MPO-, LCA/CD3+	Linfoma
704	T99-3802	66	M	Pele	Carcinoma	Origem	KER/SYN/CK20+, TTF-	Carcinoma de Merkel
705	T99-3811	73	M	Pulmão	Carcinoma de pequenas células	Origem	KER/SYN+, CHRG/TTF-	Carcinoma de pequenas células
706	T99-3813	76	F	Retroperitônio	Linfoma	Carcinoma, melanoma	CD20/3/30/KER/S100-, LCA+	Linfoma
707	T99-3819	66	M	Próstata	Carcinoma	Sarcoma	KER/DES/S100/CD34-	Carcinossarcoma
708	T99-3822	39	F	Estômago	Linfoma	Carcinoma	KER/CD30-, CD20+	Linfoma
709	T99-3826	75	F	Osso	Carcinoma sarcomatóide	Origem	ER/TTF/CEA-, KER/CK7+	Carcinoma sarcomatóide
710	T99-3830	78	M	Cólon/linfonodo	Adenocarcinoma	Origem	Colon:CK20/CEA+/CK7-, Linfonodo:CK20-/CK7/CEA+	Colon: Adenocarcinoma. Linfonodo: carcinoma adenoescamoso
711	T99-3848	82	M	Fluido pleural	Linfoma	Carcinoma	KER/CD3/CD30-, LCA/CD20+	Linfoma B de grandes células
712	T99-3864	87	F	Massa paravertebral	Plasmocitoma	Plasmocitose reacional	K+, L-	Plasmocitoma
713	T99-3869			Fígado	Carcinoma metastático	Origem	KER, CK20, CEA, TTF-	Adenocarcinoma pouco diferenciado. ?Pâncreas ?Pulmão
714	T99-387	65	F	Linfonodo	Carcinoma	Mesotelioma	KER+, CEA+, CAL-	Carcinoma metastático provavelmente primário de pulmão
715	T99-3874	78	F	Fígado	Adenocarcinoma	Origem	CK20+, CHRG/TTF-	Adenocarcinoma de cólon metastático
716	T99-3879	71	F	Omento	Mesotelioma	Carcinoma seroso	CA125/ER+, CAL-	Carcinoma seroso
717	T99-388	78	M	Costela	Carcinoma	Origem	PSA/CEA/RCC/CAL-, KER+, EMA+	Carcinoma pouco diferenciado
718	T99-3880	70	M	Retroperitônio	Neoplasia maligna indiferenciada	Carcinoma, melanoma, linfoma	KER/S100/LCA/CD20/DES/CD31-	Sarcoma pouco diferencaido
719	T99-3882			Fígado	Proliferação fusocelular	Carcinoma	KER/S100/CD34/DES-, CD31+	Pseudotumor inflamatório X Sarcoma
720	T99-3888	60	F	Femur	Plasmocitoma	Carcinoma	K+, L/LCA/KER/MPO-	Plasmocitoma
721	T99-3890	75	F	Fluido pleural	Carcinoma	Mesotelioma	CEA/EMA+, CAL/HBME-	Adenocarcinoma
722	T99-39	73	F	Órbita	Meningioma	Carcinoma	EMA+, S100-, KER-	Meningioma
723	T99-390	84	F	Linfonodo	Proliferação linfóide atípica	Linfoma	CD20/CD30/BCL2/CD3/KER all nc	Proliferação linfóide atípica
724	T99-391	33	M	Linfonodo	Linfoma	Tipo	CD20+, CD3-, CD30-	Linfoma de células B
725	T99-3916	64	F	Pulmão	Adenocarcinoma	Origem	ER/TTF-	Carcinoma pouco diferenciado, provavelmente primário de mama
726	T99-3928	53	F	Osso	Carcinoma	Origem	TGB/TTF+, CEA-	Carcinoma folicular de tireóide
727	T99-3936	76	F	Pulmão	Linfoma	Carcinoma	TTF/KER+, LCA-	Carcinoma de pequenas células
728	T99-3941	36	F	Linfonodo	Carcinoma	Melanoma, sarcoma	KER/TGB+, S100/CD31/DES-	Carcinoma de tireóide metastático
729	T99-3943	73	F	Osso	Carcinoma metastático	Origem	CK20/TTF/TGB-	Adencocarcinoma mucinoso metastático. ?Pâncreas ?TGI
730	T99-3944	78	F	Fluido pleural	Carcinoma	Mesotelioma	CEA/EMA-, CAL+	Células mesoteliais reacionais
731	T99-3951	70	M	Cavidade nasal	Neoplasia fusocelular	Carcinoma	KER/S100/CHRG/DES/CD31/SYN/CD34-, SMA+	Hemangiopericitoma maligno
732	T99-3952	69	F	Linfonodo	Carcinoma	Origem	ER/TTF/CHRG-	Adenocarcinoma pouco diferenciado metastático

ANEXO 2 - 835 casos nos quais a imuno-histoquímica foi utilizada para resolver problemas de diagnóstico diferencial

	CASO	IDADE	SEXO	LOCAL	DIAGNÓSTICO SUSPEITO	DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	ANTICORPOS E RESULTADOS	DIAGNÓSTICO FINAL
733	T99-3958	37	M	Massa abdominal	Carcinoma	Sarcoma	CD34/DES/SMA/S100/KER-	Fibrossarcoma
734	T99-3962	36	F	Mama	Neoplasia fusocelular	Origem	S100/DES-, SMA/MSA+	Fibroadenoma celular
735	T99-3963	79	F	Osso	Carcinoma metastático	Origem	CEA+, CK20/ER-	Adencoarcinoma mucinoso metastático. ?Pâncreas ?TGI
736	T99-3964	85	M	Parótida	Carcinoma	Origem	KER+, S100/CK20/TTF/SYN-	Carcinoma pouco diferenciado de parótida
737	T99-3965	73	F	Pulmão	Carcinoma	Origem	TTF+, ER/HER2/P43-	Adenocarcinoma pouco diferenciado
738	T99-3966	78	F	Fluido pleural	Carcinoma	Mesotelioma	CEA/EMA+, TTF/CAL-	Adenocarcinoma
739	T99-3971	74	M	Pulmão	Carcinoma	Origem	CK20/CK7+, TTF-	Carcinoma de células transicionais
740	T99-3986	71	M	Parótida	Sialadenite crônica	Neoplasia maligna	KER+, S100/LCA/AMYL-	Sialadenite crônica
741	T99-400	71	M	Esôfago	Linfoma	Carcinoma	CD20/CD3/KER/SYN/EMA all nc	Sugestivo de carcinoma de pequenas células (muita necrose)
742	T99-402	82	F	Pele	Infiltrado inflamatório	Linfoma	CD20+, CD30-, CD1-, CD3+, S100-	Infiltrado inflamatório atípico
743	T99-404	70	F	Fígado	Adenocarcinoma	Origem	CK7+, CEA+	Adenocarcinoma
744	T99-414	80	F	Linfonodo	Adenocarcinoma metastático	Primário de mama	ER-	Adenocarcinoma metastático
745	T99-419	27	F	Partes moles	Tumor desmóide	Outro sarcoma	DES/S100/KER/CD34/ER/PR all -	Tumor desmóide
746	T99-430	33	M	Lavado brônquico	Infiltrado inflamatório	Linfoma	CD20+, CD3+, K+, L+	Infiltrado inflamatório
747	T99-431	77	M	Linfonodo	Sarcoma	Carcinoma ou melanoma	KER/DES/CD31/MEL/HMB/TYROS -, S100/NGFR+	Sarcoma neurogênico
748	T99-433	59	M	Cavidade torácica	Adenocarcinoma	Mesotelioma	KER/EMA/CEA +, CAL-	Adenocarcinoma pouco diferenciado
749	T99-436	71	M	Fígado	Neoplasia maligna indiferenciada	Origem	KER/CK7/EMA/S100/HMB45 nc	Material insuficiente para análise
750	T99-4459	80	M	Partes moles	Neoplasia maligna indiferenciada	Carcinoma, sarcoma, melanoma	KER/LCA/S100/MELAN/TYROS-	Sarcoma de alto grau
751	T99-447	77	F	Mama	Lesão esclerosante complexa	Carcinoma	KER-, MSA+	Adenomioepitelioma x sarcoma
752	T99-450	25	F	Fígado	Carcinoma	Carcinoma neuroendócrino	CEA+, CHRG-	Adenocarcinoma metastático
753	T99-455	67	M	Pulmão	Carcinoma renal	Adenocarcinoma de pulmão	CEA+, RCC-, CK20-	Adenocarcinoma de pulmão
754	T99-458	43	M	Linfonodo	Linfoma	Tipo	CD20+, CD3-	Linfoma de células B
755	T99-459	79	M	Fígado	Hepatocarcinoma	Adenocarcinoma metastático	CEA-, CK7+, AFP-	Hepatocarcinoma
756	T99-46	50	F	Baço	Linfoma	Infiltração por leucemia	CD20+, MPO-, CD3-	Linfoma
757	T99-460	77	M	Fígado	Hepatocarcinoma	Adenocarcinoma metastático	CEA/AFP/CK7/CHRG/S100/KER -, HCC +	Hepatocarcinoma
758	T99-463	79	M	Urina	Carcinoma	Tipo	P53-, NB-	Carcinoma
759	T99-475	78	M	Pele	Carcinoma	Sarcoma	S100-, KER-, DES-	Lesão fibrohistiocítica
760	T99-478	50	M	Massa escrotal	Rabdomiossarcoma	Carcinoma e melanoma	DES+, MBG+, KER-, S100-	Rabdomiossarcoma
761	T99-483			Medula óssea	Carcinoma metastático	Origem	KER+, ER+, PR-	Metástase de carcinoma de mama
762	T99-496	69	F	Coxa	Leiomiossarcoma	Outro sarcoma	DES-, SMA+, S100-, KER-	Leiomiossarcoma
763	T99-497	74	M	Osso	Carcinoma renal	Metástase carcinoma próstata	PSA-, RCA+, CEA-	Metástase de Carcinoma renal
764	T99-498			Partes moles	Sarcoma epitelióide	Outro sarcoma	EMA+, KER+, DES-, S100-, LCA-	Sarcoma epitelióide
765	T99-514	72	M	Pulmão	Carcinoma de pequenas células	Linfoma	KER+, EMA+, SYN+, LCA-	Carcinoma de pequenas células
766	T99-515	81	M	Bexiga	Carcinoma transicional	Metástase carcinoma próstata	KER+, PSA-	Carcinoma transicional
767	T99-516	74	M	Fluido pleural	Mesotelioma	Adenocarcinoma	CAL+, EMA+, CEA-	Mesotelioma
768	T99-533	65	F	Órbita	Carcinoma metastático	Primário de mama	GCDFP-, ER+, EMA+, KER+	Carcinoma de mama metastático
769	T99-540	35	F	Tuba uterina	Tumor adenomatóide	Carcinoma	KER+, EMA-, CAL+, HBME1+	Tumor adenomatóide
770	T99-560	73	F	Adrenal	Carcinoma adrenal	Carcinoma renal	KER+, CEA-, RCC-	Carcinoma pouco diferenciado
771	T99-564	56	F	Linfonodo	Carcinoma metastático	Origem	CEA+, TGB-, S100-, ER+	Carcinoma de mama metastático
772	T99-573	56	M	Fígado	Hepatocarcinoma	Adenocarcinoma metastático	CEA-, EMA+, AFP-, HCC-	Carcinoma pouco diferenciado. Pulmão?
773	T99-574	74	M	Linfonodo	Carcinoma	Melanoma, linfoma, seminoma	KER-, S100+, HMB45+, LCA-, PLAP-	Melanoma
774	T99-58	65	F	Partes moles	Carcinoma metastático	Origem	KER+, CEA+, ER-, TGB-, CALC-, HER2+	Carcinoma pouco diferenciado primário de pulmão ou TGI
775	T99-582	57	M	Órbita	Neoplasia maligna indiferenciada	Melanoma, carcinoma, glioma	HMB45/MELAN/TYROS/GFAP/KER-, S100/EMA+	Sugestivo de meningioma
776	T99-59	88	F	Pâncreas	Adenoma microcístico	Tumor das ilhotas pancreáticas	EMA+, CHR-	Adenoma microcístico
777	T99-591	50	F	Fígado	Adenocarcinoma	Hepatocarcinoma	CK7+, AFP/CEA/HCC-	Adenocarcinoma
778	T99-60	81	M	Partes moles	Leiomiossarcoma	Outro sarcoma	DES+, S100-, KER-	Leiomiossarcoma
779	T99-610			Nasofaringe	Carcinoma	Linfoma	KER-, CD20+, CD3	Linfoma
780	T99-626	62	F	Pescoço	Adenocarcinoma	Origem	CK20-, CEA+, TGB-, ER-	Adenocarcinoma metastático. Pulmão? GI tract?
781	T99-627	76	M	Fluido pleural	Mesotelioma	Adenocarcinoma	CEA-, EMA-, CAL+, KER+, CD68-	Células mesoteliais reacionais
782	T99-63	81	F	Massa periaórtica	Linfoma	Carcinoma	KER/CD20/CD30/CD15 nc, LCA+	Processo linfoproliferativo atípico
783	T99-631	72	F	Rim	Carcinoma	Origem	ER-, CK20+	Adenocarcinoma pouco diferenciado. TGI? Urotélio de pelve renal?
784	T99-632	53	M	Pulmão	Carcinoma de pequenas células	Carcinoma indiferenciado	KER+, SYN+, CHRG-	Carcinoma de pequenas células
785	T99-637	76	M	Massa clavicular	Carcinoma de pequenas células	Metástase carcinoma próstata	PSA+, CEA-, CHRG-	Metástase carcinoma próstata
786	T99-644	83	F	Pâncreas	Carcinoma de células acinares	Tumor das ilhotas pancreáticas	LIP/AMY/CHRG-, CEA+	Carcinoma de células acinares
787	T99-654	78	F	Peri-renal	Carcinoma	Origem	CEA+, ER-, CK20+	Adenocarcinoma metastático de cólon
788	T99-655	73	M	Colon	Linfoma	Tipo	CD20+, CD30-, CD3-	Linfoma de células B
789	T99-657	39	F	Calcâneo	Linfoma	Tipo	LCA+, CD20+, KER-, S100-, CD30-	Linfoma de células B
790	T99-658	91	F	Femur	Tumor desmóide	Fibrohistiocitoma/Schwanoma/Ca	S100-, NGFR-, DES-, KER-, CD34-	Sarcoma de baixo grau
791	T99-661	83	M	Partes moles	Sarcoma	Carcinoma	DES-, SMA-, S100-, CD34-, KER-	Sarcoma de grau intermediário
792	T99-683	78	M	Próstata	Carcinoma indiferenciado	Carcinoma de pequenas células	PSA-, KER+, SYN+, CHRG+	Carcinoma de pequenas células
793	T99-689	77	M	Fluido pleural	Adenocarcinoma	Mesotelioma	CEA/EMA/B72+, CAL/LEU/HBME-	Adenocarcinoma

ANEXO 2 - 835 casos nos quais a imuno-histoquímica foi utilizada para resolver problemas de diagnóstico diferencial

	CASO	IDADE	SEXO	LOCAL	DIAGNÓSTICO SUSPEITO	DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	ANTICORPOS E RESULTADOS	DIAGNÓSTICO FINAL
794	T99-691			Pescoço	Carcinoma	Carcinoma de próstata	PSA-	Adenocarcinoma
795	T99-694	89	M	Úmero	Neoplasia maligna indiferenciada	Origem	KER/K/L/DES/S100/LCA-	Neoplasia extensamente necrótica. IHQ não contributória
796	T99-697	46	M	Pulmão	Adenocarcinoma	Mesotelioma	CEA+, EMA+, CAL-	Adenocarcinoma pouco diferenciado
797	T99-700	42	F	L4	Osteomielite	Linfoma/plasmocitoma	K+, L+, CD20-	Infiltrado inflamatório crônico
798	T99-712	44	M	Fluido peritoneal	Hepatocarcinoma	Linfoma	HCA+, CEA/CK7/AFP-	Hepatocarcinoma
799	T99-717	45	F	Seio paranasal	Carcinoma	Melanoma	S100/KER/SYN+, HMB45/ER/CHRG-	Tumor de glândula salivar
800	T99-723	55	M	Seio frontal	Carcinoma de pequenas células	Inflamação	CD20/CD3/K/L+, KER-, CHRG-	Pólipo inflamatório com intensa reaçao linfo-plasmocitária
801	T99-743	69	F	Retroperitônio	Neoplasia maligna indiferenciada	Origem	LIP/AMY/S100/CK20/CHRG/INH/NSE/ER/CD34/99-	CAL/INH+. Tumor do estroma ovariano
802	T99-751	66	F	Submandibular	Linfoma	Carcinoma ou melanoma	CD20+, CD3/CD30/KER/S100-	Linfoma de células B
803	T99-754	66	F	L2/L3	Neoplasia maligna indiferenciada	Carcinoma, melanoma, linfoma	K/L/KER/S100/EMA/DES/GFA all -	Plasmocitoma
804	T99-76	68	M	Linfonodo	Linfoma	Hiperplasia linfóide	CD20+, CD30-, CD3-	Linfoma
805	T99-768	4	F	Ovário	Neoplasia germinativa	Origem	AFP/ER/CD99-, CD30/KER/INH/CAL+	Tumor do estroma ovariano
806	T99-77	22	M	Osso	Osteossarcoma	Outro sarcoma	DES-, KER-, S100-	Osteossarcoma
807	T99-771	44	F	Reto	Leiomiossarcoma	Outro sarcoma	DES-, S100-, CD34+	Tumor do estroma gastrointestinal
808	T99-772	75	M	Massa axilar	Carcinoma	Melanoma	CEA+, CK20/S100/GCDFP-	Adenocarcinoma pouco diferenciado
809	T99-787	62	M	Pulmão	Carcinoma	Origem	KER/EMA/RCC+, CEA/CAL/B72/TGB/HBME-	Carcinoma renal metastático
810	T99-790	73	M	Coxa	Lipossarcoma	Outro sarcoma	DES-, MGN-, CAL+	Lipossarcoma
811	T99-792	64	F	Linfonodo	Hiperplasia linfóide	Linfoma	CD20+, CD3+, BCL2-	Hiperplasia linfóide
812	T99-797	35	M	Colon	Adenocarcinoma	Tumor carcinóide	CEA+, CHRG+, 5HT+, CK20-	Tumor carcinóide maligno
813	T99-80	6	F	Nervo óptico	Glioma	Astrocitoma pilocítico	GFAP+, S100+	Glioma de nervo óptico
814	T99-811	59	F	Linfonodo	Carcinoma	Melanoma	ER-, CEA+, S100-, KER+	Adenocarcinoma pouco diferenciado
815	T99-83	83	F	Vértebra	Linfoma	Carcinoma metastático	CD20+, LCA+, KER-	Linfoma
816	T99-839	55	M	Seio frontal	Carcinoma de pequenas células	Inflamação	KER-, CHRG-, CD20/3/K/L+	Pólipo inflamatório com intensa reaçao linfo-plasmocitária
817	T99-844			Amígdala	Carcinoma epidermóide	Linfoma	KER+, CD45-, CD20-	Carcinoma nasofaríngeo
818	T99-853	82	F	Pâncreas	Carcinoma	Origem	KER+, CK7+, CEA+	Adenocarcinoma provavelmente de pâncreas ou ductos biliares
819	T99-854	19	M	Massa abdominal	Neoplasia germinativa	Origem	AFP-, PLAP+, HCG-, KER-	Seminoma
820	T99-865			Tecido peripâncreas	Carcinoma	Linfoma	CD20+, CD3/CD30/KER-	Linfoma de células B
821	T99-87	44	M	Partes moles	Tecido de granulação	Neoplasia	CD31-, KER-, S100-	Tecido de granulação
822	T99-873	88	F	Massa abdominal	Carcinoma	Sarcoma	KER/S100/CHRG/EMA/RCA/CAL/SYN-, DES+	Leiomiossarcoma
823	T99-885	81	F	Pericárdio	Células mesoteliais reacionais	Mesotelioma	EMA+, CEA-, CAL+	Células mesoteliais reacionais
824	T99-89	68	M	Pulmão	Carcinoma	Metástase x ca pequenas células	PSA-, KER-, LCA-, EMA-, SYN+	Carcinoma de pequenas células
825	T99-895			Fígado	Metástase adenoca cólon	Hepatocarcinoma	CEA+, HCA-, CK20-	Adenocarcinoma pouco diferenciado
826	T99-905	95	F	Sinonasal	Neuroblastoma	Rabdomiossarcoma	SYN+, CHRG+, S100+, DES-	Neuroblastoma
827	T99-939	65	F	Pulmão	Proliferação fusocelular	Origem	KER, DES, S100, CD34	Material insuficiente para análise
828	T99-95	27	M	Pescoço	Neoplasia fusocelular benigna	Origem	S100+, CD34-, DES-, KER-	Neurofibroma
829	T99-954	65	F	Traquéia	Células atípicas	Caráter	KER+, P53-	Células epiteliais atípicas
830	T99-960	85	F	Fluido pleural	Células mesoteliais reacionais	Adenocarcinoma	EMA-, CAL+, CEA-, ER-	Células mesoteliais reacionais
831	T99-968	47	M	Mediastino	Carcinoma	Tumor germinativo	KER+, CD30/PLAP/AFP/CEA-	Adenocarcinoma pouco diferenciado
832	T99-970	69	F	Peritonium	Carcinoma	Mesotelioma	CAL+, KER+, EMA/CEA/CHRG/ER-	Células mesoteliais reacionais
833	T99-971	55	M	Pâncreas	Carcinoma	Origem	KER+, CEA+, P53+	Carcinoma pouco diferenciado
834	T99-984	92	F	Partes moles	Linfoma	Carcinoma	CD20+, CD30-, KER-	Linfoma de células B
835	T99-994	45	M	Colon	Carcinoma	Origem	CHRG/5HT/KER/CEA nc	Material insuficiente para análise

ANEXO 3 – LISTA DE ANTICORPOS UTILIZADOS PELA UNIDADE DE IMUNO-HISTOQUÍMICA DO JACKSON MEMORIAL HOSPITAL NO ANO DE 1999 COM AS ESPECÍFICAS ABREVIAÇÕES E FONTES COMERCIAIS