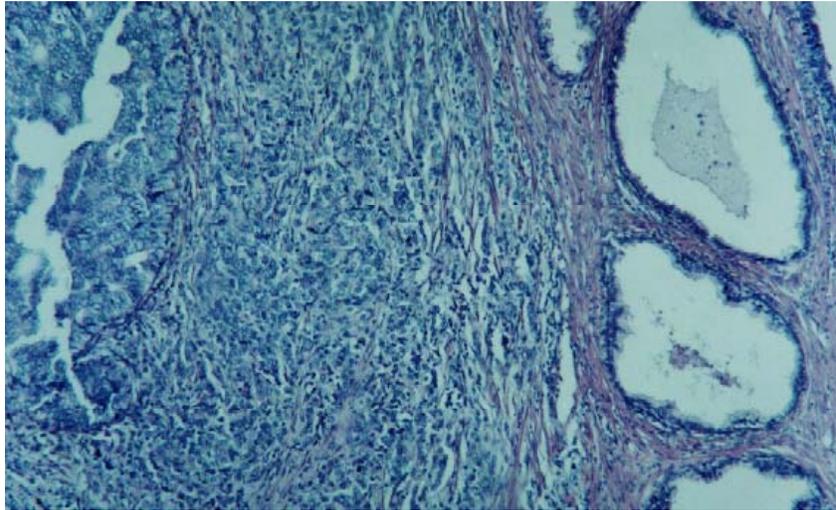
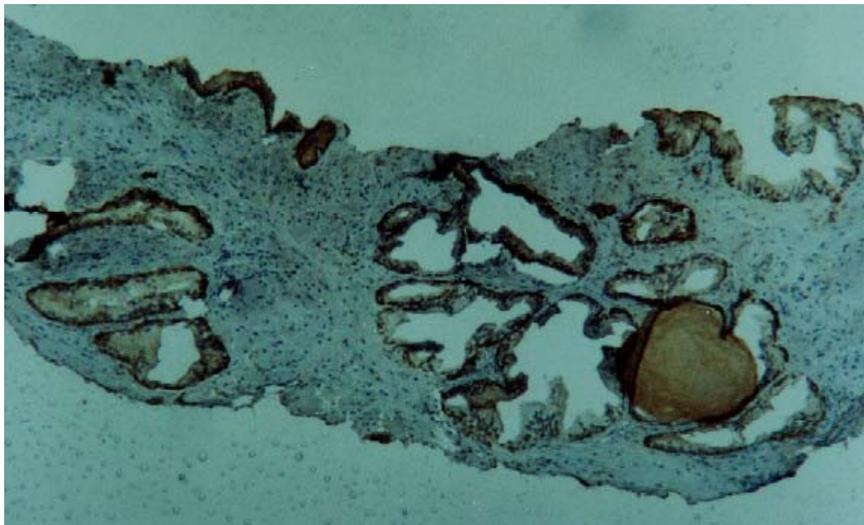


LUCIANA GURGEL DA TRINDADE MEIRA HENRIQUES



**AVALIAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA
COM MARCADOR DE CITOQUERATINA DE ALTO PESO
MOLECULAR (34 β E12) NA CARACTERIZAÇÃO DE
BENIGNIDADE EM LESÕES DA PRÓSTATA**



RECIFE

2002

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

LUCIANA GURGEL DA TRINDADE MEIRA HENRIQUES

**AVALIAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA
COM MARCADOR DE CITOQUERATINA DE ALTO PESO
MOLECULAR (34 β E12) NA CARACTERIZAÇÃO DE
BENIGNIDADE EM LESÕES DA PRÓSTATA**

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Pernambuco para obtenção do
título de Mestre em Anatomia Patológica

Orientador: Prof^a. Dr^a. Maria do Carmo
Carvalho de Abreu e Lima.

RECIFE

2002

Henriques, Luciana Gurgel da Trindade Meira
Avaliação imunohistoquímica com marcador de
citoqueratina de alto peso molecular (34BE12) na
caracterização de benignidade em lesões da próstata
/ Luciana Gurgel da Trindade Meira Henriques. –
Recife : O Autor, 2002.
69 folhas : il., fig., tab.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal
de Pernambuco. CCS. Anatomia Patológica, 2002.

Inclui bibliografia.

1. Próstata – Lesões duvidosas – Imuno-
histoquímica. 2. Neoplasias malignas – Próstata –
Diagnóstico diferencial. 3. Adenocarcinoma –
Próstata. I. Título.

616-006.6-079.4	CDU (2.ed.)	UFPE
616.994075	CDD (21.ed.)	BC2003-016



Universidade Federal de Pernambuco
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE MESTRADO EM PATOLOGIA

AUTOR: LUCIANA GURGEL DE TRINDADE MEIRA HENRIQUE

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: ANATOMIA PATOLÓGICA E CITOPATOLOGIA

NOME DA TESE: "Avaliação imunohistoquímica de citoqueratina de alto peso molecular (34B E12)".

ORIENTADOR: PROFA. MARIA DO CARMO CARVALHO DE ABREU E LIMA

TESE DEFENDIDA PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM PATOLOGIA

DATA: 28/01/2003

BANCA EXAMINADORA:

PROF. ADONIS REIS LIRA DE CARVALHO

PROF. ROBERTO JOSÉ VIEIRA DE MELLO

PROF. JOAQUIM ALFREDO ALVES NORÕES

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Mozart Neves Ramos

VICE – REITOR

Prof. Geraldo José Marques Pereira

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Paulo Roberto Freire Cunha

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DIRETOR

Prof. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

HOSPITAL DAS CLÍNICAS

DIRETOR SUPERINTENDENTE

Prof. Éfrem de Aguiar Maranhão

DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA

CHEFE

Prof. Luciano Tavares Montenegro

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

MESTRADO EM ANATOMIA PATOLÓGICA

COORDENADOR

Prof. Roberto José Vieira de Melo

VICE-COORDENADOR

Prof^a. Maria do Carmo Carvalho de Abreu e Lima

“A procura da verdade é difícil e é fácil, já que ninguém poderá desvendá-la por completo ou ignorá-la inteiramente. Contudo, cada um de nós poderá acrescentar um pouco do nosso conhecimento sobre a natureza e, disto, uma certa grandeza emergirá.”

(Aristóteles, 350 A.C.)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Glória e Garibaldi, que me deram o dom da vida e me proporcionaram a oportunidade de crescer como cidadã e como médica, seguindo os seus passos de amor e dedicação à família e à profissão.

Ao meu esposo Gustavo que, sempre ao meu lado, é o meu apoio principal nos momentos de alegria e tristeza, e grande incentivador na minha vida profissional.

Às minhas filhas Maria Eduarda e Maria Alice, maiores preciosidades deste mundo, com as sinceras desculpas pelos indispensáveis momentos de ausência.

Aos colegas e demais profissionais que fazem o Serviço de Patologia do Hospital de Câncer de Pernambuco, e que continuemos juntos nos esmerando para melhor servir aos que necessitam.

AGRADECIMENTOS

A Profa. Dra. Maria do Carmo Carvalho de Abreu e Lima, Professora Adjunta, Doutora, do Departamento de Patologia do Centro de Ciências da Saúde da UFPE, minha preceptora de Residência Médica, professora do Mestrado, e Orientadora neste trabalho, por sempre ter estado presente na minha vida profissional, dando importantes auxílios para a minha formação.

Ao Prof. Luciano Montenegro, Professor do Departamento de Patologia do Centro de Ciências da Saúde da UFPE, do Departamento de Patologia do Hospital de Câncer de Pernambuco, por realizar a imunomarcação dos casos utilizados nesse trabalho, e pelos ensinamentos passados durante a análise dos mesmos.

Ao Prof. Dr. Adônis R. L. de Carvalho, Professor Emérito do Departamento de Patologia do Centro de Ciências da Saúde da UFPE, Livre Docente em Anatomia Patológica e Chefe do Departamento de Patologia do Hospital de Câncer de Pernambuco, que sempre esteve disponível à orientação e ao ensino, de forma eficiente e dedicada, contribuindo sobremaneira para minha formação profissional, e pela confiança que sempre dedicou em mim e na minha capacidade médica, desde os meus primeiros passos na Patologia, ainda como estudante, até os dias de hoje. Ser-lhe-ei eternamente grata.

Aos meus queridos irmãos Fernando e Mirela pelo incentivo, apoio e auxílio desde o início da realização deste estudo.

Ao Corpo Técnico do Departamento de Patologia do Hospital de Câncer de Pernambuco, por terem contribuído, com seu trabalho, na realização deste estudo.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas

Lista de Tabelas

Lista de Figuras

Resumo

Abstract

1. INTRODUÇÃO	17
1.1. Aspectos Gerais	18
1.2. Diagnóstico Histológico do Carcinoma da Próstata, Graduação de Gleason e Estadiamento Clínico	20
1.3. Lesões Duvidosas Simuladoras do Adenocarcinoma Prostático ...	26
1.4. Aplicação Imunohistoquímica dos Anticorpos Anti-Citoqueratinas no Diagnóstico das Neoplasias Malignas	30
1.5. Utilização da Imunohistoquímica no Diagnóstico das Lesões Prostáticas	33
2. OBJETIVOS.....	35
2.1. Objetivo Geral	36
2.2. Objetivos Específicos	37

3.	MATERIAL E MÉTODOS	38
3.1	Seleção dos Casos e Obtenção dos Fragmentos	39
3.3.	Processamento Imunohistoquímico, Avaliação dos Espécimes e Análise Estatística	40
4.	RESULTADOS	42
5.	DISCUSSÃO	49
6.	CONCLUSÕES	57
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59

LISTA DE ABREVIATURAS

ACBD – Adenocarcinoma bem diferenciado da próstata.

ACP – Adenocarcinoma da próstata.

HAA – Hiperplasia adenomatosa atípica.

HE – Hematoxilina-eosina

HNBP – Hiperplasia nodular benigna da próstata.

IHQ – Imunohistoquímica.

PB – Punção-biópsia.

PPGSI – Proliferação de pequenas glândulas de significado incerto.

PSA – Antígeno prostático específico.

RC – Ressecção cirúrgica.

RTU – Ressecção trans-uretral.

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1 Resultado da imunomarcção para citoqueratina de alto peso molecular (34 β E12) de 20 amostras obtidas por punção-biópsia transretal da próstata.	44
TABELA 2 Resultado da imunomarcção para citoqueratina de alto peso molecular (34 β E12) de 20 peças de prostatectomia.	46
TABELA 3 Resultado da imunomarcção para citoqueratina de alto peso molecular (34 β E12) de 40 amostras obtidas por punção-biópsia transretal da próstata e prostatectomia.	48

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1 Exame histopatológico de tecido obtido por punção-biópsia da próstata, corada pela hematoxilina-eosina, com aumento de 100X: Hiperplasia nodular benigna da próstata.	44
FIGURA 2 Exame imunohistoquímico com marcador de citoqueratina de alto peso molecular (34 β E12), com aumento de 100X: Hiperplasia nodular benigna da próstata. Nota-se células da camada basal marcadas com coloração acastanhada (imunohistoquímica positiva).	45
FIGURA 3 Exame histopatológico de tecido obtido por prostatectomia, corada pela hematoxilina-eosina, com aumento de 100X: Adenocarcinoma da próstata.	46
FIGURA 4 Exame imunohistoquímico com marcador de citoqueratina de alto peso molecular (34 β E12), com aumento de 100X: Adenocarcinoma da próstata. Nota-se ausência da coloração acastanhada pela inexistência de células da camada basal nos ácinos neoplásicos, a direita da foto (imunohistoquímica negativa).	47

RESUMO

HENRIQUES, L. G. T. M. Avaliação imunohistoquímica com marcador de citoqueratina de alto peso molecular (34 β E12) na caracterização de benignidade em lesões da próstata. Recife, 2002. Dissertação (Mestrado) – Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco.

Os carcinomas da próstata são as neoplasias malignas de maior prevalência no sexo masculino. Na última década os progressos na tecnologia de imagem, através da punção-biópsia sob controle ultra-sonográfico e a utilização dos exames bioquímicos para detecção do antígeno prostático específico, tornaram possível o diagnóstico de lesões iniciais, muitas em pacientes mais jovens. Como consequência, para o patologista vieram as dificuldades de interpretação de lesões muito pequenas ou histologicamente mal definidas, como a diferenciação entre hiperplasia adenomatosa atípica e adenocarcinoma bem diferenciado. Termos como proliferação de pequenas glândulas de significado incerto passaram a ser utilizados para as lesões duvidosas, requerendo progredir na investigação. A literatura tem demonstrado que a imunomarcagem pelo anticorpo monoclonal anti-citoqueratina de alto peso

molecular (34 β E12) é útil na confirmação de benignidade pela demonstração da camada de células basais. Em nosso meio esse marcador tem sido pouco utilizado. O estudo em tela visa analisar os primeiros resultados do método no Departamento de Patologia do Hospital de Câncer de Pernambuco. A partir dos arquivos deste serviço, foram selecionados 20 casos de um total de 172 registrados entre junho de 1997 e março de 2002. Esses casos constituíram dois grupos, o primeiro formado por dez casos com diagnóstico de hiperplasia nodular benigna da próstata e o segundo por dez casos de adenocarcinoma prostático. Cada grupo incluiu 20 espécimes, dez obtidos por punção-biópsia e dez por ressecção cirúrgica, constituindo 40 amostras para revisão histológica e realização do exame imunohistoquímico. A imunomarcação demonstrou a camada de células basais em todas as lesões benignas tanto no material de punção-biópsia (10/10), como nas peças cirúrgicas (10/10) revelando 100% de positividade. Nos casos de adenocarcinoma, não houve demonstração da camada de células basais, tanto no material de punção-biópsia (10/10) quanto no de prostatectomia (10/10), resultando em 100% de negatividade. Os resultados confirmam os dados da literatura quanto à acurácia do método na confirmação da existência da camada de células basais, sendo recomendável no esclarecimento de lesões duvidosas para exclusão de malignidade.

ABSTRACT

HENRIQUES, L. G. T. M. Immunohistochemical evaluation with a marker of high molecular weight cytokeratine (34 β E12) in the characterization of benignity in prostate lesions. Recife, 2002.

The prostate carcinomas are the malignant neoplasias with the biggest prevalence in males. In the last decade the progress on image technology trough puncture-biopsy under ultra-sonographic control and the utilization of biochemical exams for the detection of specific prostatic antigens, made possible the diagnosis of initial lesions, many in young patients. As a consequence, for the pathologist difficulties arose in the interpretation of very small lesions or histologically not well defined, like the differentiation between atypical adenomatous hyperplasia and well differentiated adenocarcinoma. Terms such as atypical small acinar proliferation started to be utilized for doubtful lesions, requiring further investigation. The literature has showed that immunomarking by the antibody monoclonal anti-citokeratine of high molecular weight (34 β E12) is useful on the confirmation of benignity by the demonstration of the layer of basal cells. In our city this marker has been little utilized. This study has the purpose to analyze the first results of this method in the Pathology

Department of the Cancer Hospital of Pernambuco. From the archives of this hospital, were selected 20 cases from a total of 727 registered cases from June 1997 to March 2002. These cases constituted two groups, the first one was formed by ten cases with diagnosis of *benign nodular hyperplasia of prostate* and the second for ten cases of prostate adenocarcinoma. Each group included 20 specimens, ten obtained through puncture-biopsy and ten through surgical resection, making 40 samples for histological review and to do the immunohistochemical exam. The immunomarking showed a layer of basal cells in all benign lesions, both in the puncture biopsy material (10/10) and in surgical samples (10/10) revealing 100% of positivity. In the adenocarcinoma cases, there was not any display of the layer of basal cells, either in the puncture-biopsy material (10/10) or in the prostatectomy (10/10), resulting in a 100% of negativity. The results confirmed the data found in the literature for the accuracy of this method in the confirmation of the existence of the layer of basal cells, being recommended in the clarification of doubtful lesions to the exclusion of malignancy.

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1. ASPECTOS GERAIS

Os tumores da próstata são entidades muito prevalentes em todo o mundo, sendo cada vez mais diagnosticados precocemente e tratados em vista dos avanços tecnológicos e campanhas de conscientização do público masculino quanto à necessidade de exames periódicos, tanto clínico (toque retal), quanto bioquímico (anticorpo prostático específico – PSA) e/ou de imagem (ultra-sonografia)^{5,7}.

Os carcinomas da próstata são o primeiro tipo de câncer em homens^{18,23,62}, sendo prevalentes a partir dos 50 anos de idade¹⁸. Nos Estados Unidos, estimativas de 2001 indicaram 198.100 novos casos, com aproximadamente 31.500 óbitos⁴¹.

Têm mortalidade ainda alta, com mais de 41.000 óbitos registrados nos Estados Unidos em 1996⁷, sendo atualmente uma das três maiores causas de morte em homens, juntamente com o câncer de pulmão e as doenças cardíacas, e a segunda causa de morte por câncer⁷. O carcinoma prostático

metastático, por sua vez, resulta no óbito de cerca de 30.000 homens por ano naquele país⁶⁰.

No Brasil, o câncer de próstata representa um sério problema de saúde pública. É o segundo mais comum em homens, só sendo superado pelo de pele não melanoma, e, ao final de 2002, deverão ter ocorrido cerca de 25.600 casos novos. Ainda, aparece como o quarto tipo mais mortal, tendo sido considerado responsável por 7.223 óbitos em 1999³⁸.

Entretanto, a importância clínica do carcinoma prostático não está apenas nos seus altos índices de morbidade e mortalidade, mas também no impacto sobre o prognóstico. Assim, a busca por diagnóstico precoce e fatores prognósticos tornou-se um dos principais alvos das investigações científicas⁶⁰.

Há algumas décadas, o diagnóstico histológico se limitava aos estudos morfológicos de peças de ressecção cirúrgica ou de biópsias guiadas por toque retal, às cegas. Após 1987, a radiologia intervencionista começou a desenvolver técnicas e equipamentos para punção-biópsia prostática, com obtenção de fragmentos do centro da lesão¹. A abordagem com transdutor ultra-sonográfico endocavitário, acoplado a agulha para punção-biópsia transretal, foi um grande avanço na programação diagnóstica, terapêutica e prognóstica^{10,45,77}. Mais recentemente, a punção-biópsia guiada por ultra-sonografia com dopplerfluxometria aumentou a representatividade de prováveis lesões tumorais, e o patologista tem melhores condições de esclarecimento diagnóstico⁴⁵. Com essas tecnologias associadas aos avanços do conhecimento no campo da anatomia patológica e da oncologia, tornou-se

necessária uma classificação de impacto prognóstico para apoiar as decisões terapêuticas².

A indicação de procedimentos cirúrgicos radicais (prostatectomia radical) e/ou de alternativas terapêuticas complementares (quimioterapia, radioterapia e hormonioterapia) modificou sobremaneira a qualidade de vida dos pacientes, e a sobrevida^{41,66,72}. Essas medidas terapêuticas são baseadas na classificação histológica do tumor, sendo a determinação do seu caráter benigno ou maligno, bem como do estadiamento em caso de adenocarcinoma, os pilares mestres dessa definição^{41,72}.

A classificação, bem como o diagnóstico diferencial de malignidade, são basicamente determinados por critérios morfológicos ao exame anatomopatológico^{7,73}. Esses critérios estão descritos na literatura, e são do conhecimento dos especialistas^{5,7,18,63,73}.

1.2. DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO DO CARCINOMA DA PRÓSTATA, GRADUAÇÃO DE GLEASON E ESTADIAMENTO CLÍNICO

Alguns parâmetros são considerados indispensáveis para a definição de adenocarcinoma prostático⁷³. A ausência de qualquer um deles torna duvidoso

o diagnóstico, não sendo o anatomopatologista autorizado a definir o caso como maligno.

Tais critérios são:

- **Desarranjo arquitetural:** Os ácinos perdem a disposição normal. Distribuem-se irregularmente em todas as direções e geralmente mostram diferentes diâmetros, formas e espaçamento entre si. Podem sofrer angulações. O caráter infiltrativo nem sempre é perceptível em cânceres mais bem diferenciados, e quando presente define malignidade^{5,7,21,25,36,42,51}.
- **Achados citológicos:** A atipia celular é caracterizada por perda da relação núcleo-citoplasmática, quando se encontram núcleos aumentados de tamanho e ovalados, com nucléolos proeminentes (acima de 1,6 micrômetro), de localização tendendo a excêntrica, e cromatina distribuída na periferia. Cerca de 8% dos carcinomas podem não apresentar o aumento nucleolar. O citoplasma pode ser claro ou acidófilo. Não é freqüente a presença de figuras de mitose, e é muito raro se observarem células neoplásicas volumosas e bizarras. O tamanho dos nucléolos é de grande valor diagnóstico^{5,7,8,21,32,36,40,43}.
- **Ausência da camada de células basais:** Os ácinos neoplásicos malignos não apresentam a dupla população celular normal, ou seja, não têm as células da camada basal, portanto sua presença confirma benignidade. Porém, em algumas situações pode-se ter interpretação errônea dos achados morfológicos, visto que amostras de tecido normal podem se

apresentar sem células basais por fragmentação e, por outro lado, a compressão dos fibroblastos estromais podem mimetizar células basais na periferia do ácino maligno^{5,7,21,22}.

Outros achados morfológicos também são considerados importantes na avaliação do caráter benigno ou maligno da lesão. Dentre eles, pode-se citar:

- **Cristalóides:** São estruturas eosinofílicas, birrefringentes à luz polarizada, podendo ter formato triangular, retangular, hexagonal, irregular ou acicular. Provavelmente resultam de metabolismo anormal mineral e protéico das células neoplásicas malignas, sendo raramente encontrados em lesões benignas^{5,7,21,36,39}.
- **Mucina luminal:** A mucina ácida sulfatada ou não-sulfatada está freqüentemente presente em ácinos neoplásicos malignos (em 34% das amostras de biópsia de câncer e em 60% dos tecidos obtidos por ressecção transuretral e prostatectomia), e raramente em glândulas normais ou hiperplásicas. Apresenta-se como secreção amorfa, basofílica no lúmen glandular, e sua presença em neoplasias muito diferenciadas, juntamente com os cristalóides, ajuda no diagnóstico de adenocarcinoma^{5,7,21,36,59,62,68}.
- **Micronódulos colagenosos:** São massas com estroma paucicelular, fibrilar e eosinofílico, que resultam do extravasamento da mucina ácida para o estroma. Este achado é específico do adenocarcinoma, porém infreqüente^{7,9,21}.

Assim, definido o caráter maligno da lesão, a partir dos achados morfológicos, vários autores preconizaram diferentes graduações histológicas, sendo a mais utilizada atualmente a de Gleason, recentemente reconhecida pela OMS. Foi descrita em 1992, e se baseia na diferenciação glandular e no seu padrão de crescimento^{4,5,7,36}.

O sistema de Gleason define um escore pelos padrões mais freqüentes na amostra, somado ao achado mais anaplásico de todo o material encaminhado, tanto obtido por punção-biópsia, como por ressecção cirúrgica^{4,7,36}. Assim, constitui-se em:

- **Gleason 1:** Não há caráter infiltrativo. A neoplasia é bem delimitada, sendo diagnosticada pelo desarranjo arquitetural. As margens são precisas e há pouco espaço entre os ácinos neoplásicos.
- **Gleason 2:** Também não há caráter infiltrativo, sendo o diagnóstico feito pelo desarranjo arquitetural. A neoplasia não é tão bem delimitada como no grau 1 e há maior distância entre os ácinos neoplásicos.
- **Gleason 3:** Há nítido caráter infiltrativo, podendo ocorrer arranjo cribriforme, e, quando presente, determina que a neoplasia seja, no mínimo, grau 3.
- **Gleason 4:** Além do caráter infiltrativo há proximidade entre os ácinos, conferindo à neoplasia caráter medular e/ou tendência de fusão dos ácinos.
- **Gleason 5:** O arranjo da neoplasia é sólido, não raro observando-se células neoplásicas isoladas ou em arranjo trabecular. Inclui-se neste grau histológico o aspecto em comedocarcinoma.

- **Escore** = Gleason mais freqüente + Gleason mais anaplásico da amostra.

Esta classificação tem grande valor prognóstico^{5,23,36} e mostra boa reprodutibilidade entre diferentes observadores (62,58% segundo alguns autores e 80% nas mãos do próprio Gleason), além da evidente relação entre o achado de linfonodos comprometidos no exame de peça de cirurgia radical e o escore final (93% em escore 8-10; 31% em 5-7; nenhum em 2-4)⁵.

Embasado nesse escore, os adenocarcinomas também podem ser divididos de acordo com seu grau de diferenciação, apesar do próprio Gleason criticar a relação direta entre este parâmetro histológico e a agressividade clínica. Ainda, outras discordâncias ocorrem em relação à divisão em dois ou três graus, e quais escores estariam em cada um deles⁵.

Assim, alguns trabalhos agrupam em baixo grau os escore de Gleason de dois a quatro (graus de Gleason um e dois), em grau intermediário os escore de cinco a sete, e em alto grau os de oito a dez⁵. Outros autores, baseados no fato de que a maioria dos tumores com escore igual ou maior que sete terem, em alguns estudos, tumor agressivo, enquanto escore de cinco tem baixo potencial de agressividade, classificam os três graus com escores finais respectivamente de dois a cinco, seis, e sete a dez⁵. Entretanto, o próprio Gleason prefere, em estudos com pequenas casuísticas, dividir em dois grupos, sendo as contagens de dois a seis considerados de baixo grau, e as com sete a dez de alto grau de diferenciação^{4,5}. Apesar destas opiniões divergentes, essa classificação mantém-se importante visto que os carcinomas bem diferenciados (baixo grau; graus de Gleason um e dois) devem sempre ser criteriosamente

distinguidos de lesões benignas com proliferação de pequenas glândulas, como discutido adiante^{5,7,25}.

O estadiamento oncológico, por sua vez, deve ser feito tanto com base em exames complementares (ultra-sonografia, tomografia, cintilografia), como por exame anatomopatológico da peça cirúrgica, e baseia-se em achados de tumor localizado ou não^{4,5}.

- **Estádio A:** Carcinoma encontrado incidentalmente em material de necrópsia ou durante exame histopatológico de material retirado cirurgicamente (ressecção transuretral ou prostatectomia aberta).
 - **A.1:** Até 3 fragmentos positivos; ou até 5% dos fragmentos com positividade; ou Escore de Gleason 2-6.
 - **A.2:** Mais de 3 fragmentos positivos; ou mais de 5% dos fragmentos com positividade; ou Escore de Gleason 7-10.
- **Estádio B:** Carcinoma clinicamente evidente em forma de um nódulo palpado ao toque retal e limitado à próstata.
 - **B.1:** Envolve um único lobo.
 - **B.2:** Envolve ambos os lobos.
- **Estádio C:** Carcinoma ultrapassa a cápsula prostática estendendo-se aos tecidos periprostáticos, com maior freqüência para as vesículas seminais.
 - **C.1:** Extensão extracapsular uni ou bilateral.
 - **C.2:** Invasão de uma ou ambas as vesículas seminais.

- **Estádio D:** Há metástases. São mais freqüentes para os gânglios regionais, os ossos da pelve e da coluna vertebral.
 - **D.1:** Metástases em gânglios linfáticos regionais.
 - **D.2:** Metástases à distância.

Quanto mais localizado e mais bem diferenciado é o câncer, baseado nas classificações acima descritas, maior a chance de cura, e melhor o prognóstico. O contrário é verdadeiro para as formas mais agressivas^{41,72}.

1.3. LESÕES DUVIDOSAS SIMULADORAS DO ADENOCARCINOMA PROSTÁTICO

Lesões de difícil diagnóstico de malignidade são um grande problema para os profissionais, sejam patologistas, clínicos ou cirurgiões, e para o paciente, sujeito a dúvidas quanto a real gravidade de sua doença⁴⁹. Dentre as lesões prostáticas de precária definição ao exame anatomopatológico de peça de ressecção cirúrgica, a que mais chama a atenção é a distinção entre adenocarcinoma bem diferenciado e hiperplasia adenomatosa atípica^{4,5,7,25}.

Os adenocarcinomas bem diferenciados da próstata são definidos como tumores que apresenta proliferação acinar relativamente uniforme (graus de Gleason 1 e 2), com glândulas pequenas, em camada única de revestimento e

algumas células apresentando nucléolos proeminentes^{18,25,63}. Sua importância clínica baseia-se no fato de que, em algumas situações, dúvidas podem ocorrer quanto à real natureza maligna da amostra examinada, podendo-se confundir com lesões benignas, com proliferação de pequenos ácinos, por exemplo na hiperplasia adenomatosa atípica^{5,7,25}. Essa definição deve ser dada, visto que, apesar da maioria daqueles tumores serem estadiados como A no momento do diagnóstico, até 27% dos pacientes definidos como A.1 e cerca de 35% dos estadiados como A.2 têm probabilidade de progredir para carcinoma clínico, e aproximadamente 25% dos casos A.2 já apresentam metástases linfonodais após linfadenectomia pélvica, modificando seu estadiamento para D⁵. Assim, contrariamente aos portadores de lesão prostática benigna, os pacientes com adenocarcinoma bem diferenciado, mesmo jovens, limitados à glândula prostática devem ser tratados pela prostatectomia radical^{41,72}. Esta terapêutica proporciona até 85% de sobrevida de quinze anos, livres de metástases, porém ainda leva a percentuais variáveis de complicações⁶⁵, dentre elas a disfunção erétil^{44,46,54,65}, que pode ocorrer em até 80% das prostatectomias retropúblicas²⁸, e a incontinência urinária^{13,65}, em até 30%²⁸, apesar de técnicas que tentam preservar ao máximo a integridade do sistema urogenital^{12,44}.

A hiperplasia adenomatosa atípica, também chamada de hiperplasia acinar atípica e adenose, é uma alteração benigna da próstata, que se caracteriza por proliferação de pequenos ácinos, com dupla camada epitelial e nucléolos inconspícuos^{7,25,67}. Apesar da ausência de alterações anaplásicas, algumas amostras sem evidência clara da membrana basal (que por vezes fica

fragmentada), com núcleos de tamanhos variados e, raramente, com visualização de mucina e cristalóides⁷, podem sugerir o diagnóstico de adenocarcinoma bem diferenciado^{5,7,24,25,31,33,37,67}.

Essa aparente semelhança não determina a HAA como lesão pré-maligna, apesar de alguns autores questionarem essa crença^{7,48}. Trabalhos mostraram que o câncer de próstata aparece em 6,4% de portadores de HAA, enquanto que em apenas 3,7% dos indivíduos sem essa lesão (sem significância estatística)¹¹. Outros demonstraram uma alta frequência de HAA em pacientes com câncer em relação àqueles sem doença maligna⁶² e que HAA está presente em 31% das próstatas com câncer à autópsia, enquanto que aparece apenas em 15% das próstatas sem malignidade⁷. Dessa forma, a importância clínica da HAA é evidente, e o diagnóstico diferencial de malignidade é imprescindível visto que a conduta nos portadores dessa lesão benigna é conservadora, com acompanhamento clínico e anatomopatológico através de biópsias por agulha⁷.

Estudo de reprodutibilidade por sete uropatologistas, revisando 54 amostras de tecido prostático com lesão de pequenos ácinos de difícil diferenciação entre HAA e ACBD, mostrou um índice geral de acerto de 80,7%⁸. Os achados morfológicos ressaltados pelos patologistas como mais importantes no diagnóstico diferencial foram: variação do tamanho do núcleo, tamanho nucleolar, presença de cristalóides, mucina basofílica e células da camada basal⁸. Outros autores discordam da importância dada ao achado de mucina

ácida, já que presença focal dessa secreção já foi descrita em até 63% das amostras de HAA²⁶.

Em 1993, foram definidos importantes critérios morfológicos para essa diferenciação, no estudo de tecido prostático obtido por ressecção transuretral⁸, que hoje são aceitos internacionalmente. São eles⁵:

Parâmetros Morfológicos	HAA	ACBD
Cristalóides	Pouco freqüentes (16%)	Freqüentes (75%)
Mucina Basofílica	Pouco freqüente	Freqüente
Nucléolos	Inconspícuos	Proeminentes
Células Basais	Presentes	Ausentes

Alguns centros, particularmente os norte-americanos consideram o estudo morfológico isoladamente como insuficiente para essa definição, pois estudos de reprodutibilidade usando apenas esses critérios mostraram discordância em cerca de 60% dos casos entre os diferentes observadores⁵. Estes casos, então, são chamados por muitos de “proliferação de pequenas glândulas de significado incerto” (PPGSI)^{5,7,8,31}. Em relação às lesões duvidosas encontradas em amostras obtidas por punção-biópsia, o diagnóstico diferencial fica ainda mais difícil devido à escassez de material inerente ao próprio método de coleta³⁵. Nestes casos, até a definição de HAA é desaconselhada, sendo a descrição de PPGSI a mais utilizada⁷.

A PPGSI não se constitui em uma entidade específica e representa uma categoria que inclui outras lesões, (como HAA e ACBD), e que não apresenta um padrão morfológico suficientemente claro para o diagnóstico. Assim, não define terapêutica e sugere continuidade na investigação, visto que autores mostraram até 48,9% de casos de carcinoma em rebiópsias¹⁶. Baseado nisso, e no fato de que alguns carcinomas podem simular a presença de camada basal ao exame microscópico de amostra corada pelo HE, sobretudo dada a retração do tecido conjuntivo sub-glandular⁷, alguns autores defendem a confirmação imunohistoquímica da presença de tais células através de anticorpos anticitoqueratinas de alto peso como método mais fidedigno na determinação do caráter benigno daquelas lesões duvidosas^{5,7,8,30,53,55}.

1.4. APLICAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA DOS ANTICORPOS ANTI-CITOQUERATINAS NO DIAGNÓSTICO DAS NEOPLASIAS MALIGNAS

Os filamentos intermediários de queratina fazem parte do citoesqueleto das células epiteliais normais. Na composição do citoesqueleto associam-se duas unidades, os microfilamentos e os microtúbulos contendo, respectivamente, actina e tubulina¹⁷. As mutações nos genes responsáveis por

sua produção, geram células epiteliais fragilizadas como consequência da expressão da proteína por gens mutados. A maior parte das doenças resultantes são desordens autossômicas dominantes, conhecidas como genodermatoses⁴⁷.

Dentre os seis tipos de filamentos intermediários existentes, os de queratina são os mais complexos e compreendem os filamentos tipo I e II, que por sua vez são separados em vinte subtipos designados de um a 20. Incluem queratinas de baixo e alto peso molecular e são divididas quanto ao ponto isoelétrico em ácidas e básicas. Durante os estágios do desenvolvimento embrionário, diferentes subtipos de queratina são evidenciadas, como também tipos distintos são expressos, nos diferentes epitélios⁴⁷.

Certos tipos são característicos de alguns tecidos epiteliais normais, não aparecendo em outros, por exemplo os epitélios simples (a maior parte das células secretórias e parenquimatosas, os epitélios que revestem ductos - biliares, pancreáticos, renais etc - o epitélio gastro-intestinal, as células de Merkel da pele, papilas gustativas, etc) expressam as queratinas simples 7, 18, 19 e 20; enquanto epitélios complexos (escamoso estratificado) mostram queratinas complexas, cinco, seis, 10, 14 e 15⁴⁷.

Quando ocorre transformação maligna dos epitélios, o perfil de expressão das citoqueratinas típicas daquele epitélio tende a permanecer constante, desta forma os anticorpos anti-citoqueratina poderiam ser usados não apenas para determinação da origem epitelial da neoplasia, mas também para subclassificação¹⁷. Numa etapa inicial do desenvolvimento da

imunohistoquímica aplicada a oncologia, a maior parte dos anticorpos produzidos eram *cocktails* de pancitoqueratinas, não específicos, que reagem a vários tipos de citoqueratinas. Nesse contexto, eram usados para estabelecimento da histogênese epitelial de uma neoplasia maligna mal diferenciada e na identificação de tumores metastáticos de sítio primário desconhecido, particularmente para exclusão de origem mesenquimal, hematolinfóide ou da crista neural¹⁷.

Atualmente, já estão em uso anticorpos para os vinte tipos de citoqueratinas conhecidas e podem ser aplicados na diferenciação da histogênese dos carcinomas. Em alguns tipos de neoplasias o perfil de expressão das citoqueratinas é muito específico, sendo a imunohistoquímica um poderoso aliado para definição do diagnóstico. Podemos tomar como exemplo os adenocarcinomas do cólon e os carcinomas de células de Merkel da pele, ambos positivos para citoqueratina 20 em 90% e 86% dos casos, respectivamente¹⁷. Em outras circunstâncias, a imunomarcacão pode ser usada para limitar as hipóteses diagnósticas, excluindo esta ou aquela possibilidade, baseada no perfil de imunoexpressão das citoqueratinas¹⁷.

1.5. UTILIZAÇÃO DA IMUNOHISTOQUÍMICA NO DIAGNÓSTICO DAS LESÕES PROSTÁTICAS

Tradicionalmente a imunohistoquímica tem sido aplicada para identificação de origem prostática dos adenocarcinomas metastáticos de sítio primário desconhecido, principalmente através do anticorpo anti-antígeno prostático específico (PSA) e menos comumente pelo anticorpo anti-fosfatase prostática alcalina. Embora o adenocarcinoma prostático possua, na sua grande maioria, um perfil de citoqueratinas expressa por positividade para os subtipos sete, 20 e 18, em geral, dada a alta especificidade do anticorpo anti-antígeno prostático específico (PSA), as citoqueratinas não são utilizadas para esse fim¹⁷.

Mais recentemente, o reconhecimento da camada de células basais⁵⁶, passou a ser muito valorizado como adjuvante ao exame histopatológico convencional, para confirmação da ausência de invasão e conseqüentemente na exclusão do diagnóstico de adenocarcinoma, em lesões duvidosas. O anticorpo anti-citoqueratina mais utilizado para este fim tem sido o clone 34 β E12 que reconhece as queratinas de alto peso molecular designadas um, cinco, dez e 14¹⁷. Essas costumam expressarem-se em epitélios complexos como o malpighiano, em células basais com aplicação na próstata e em células mioepiteliais, utilizadas principalmente no esclarecimento de lesões

mamárias¹⁷. Na próstata a imunocoloração pela 34 β E12 expressa-se apenas nas células não secretórias da camada basal (células mioepiteliais), afastando quando positiva, o diagnóstico de malignidade^{7,17,29,30,53,55}. Entretanto, um exame imunohistoquímico com citoqueratina negativo não confirma a malignidade do tecido, visto que falsos negativos podem ocorrer, devido principalmente à fragmentação da camada basal. Nestes casos, a definição de malignidade deverá ser determinada pela correlação entre os achados clínicos e morfológicos^{7,30,53,55}. Apesar deste fato, a demonstração da camada de células basais elimina um percentual significativo de casos suspeitos, contribuindo substancialmente para o manuseio do paciente. No nosso meio a utilização do anticorpo anti-citoqueratina de alto peso molecular, no esclarecimento de lesões duvidosas, ainda não é freqüente havendo necessidade de desenvolvimento de experiência com o método. Considerando a importância do seu emprego, principalmente no esclarecimento das PPGSI em material de punção biópsia, pelo impacto dessa decisão no acompanhamento clínico dos pacientes é que foi realizado este estudo.

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

- Analisar os primeiros resultados do exame imunohistoquímico com marcador de citoqueratina de alto peso molecular (antígeno 34 β E12) realizado no Departamento de Patologia do Hospital de Câncer de Pernambuco, como método auxiliar ao exame histopatológico de rotina na determinação de benignidade de lesões prostáticas, utilizando-se amostras de lesões diagnosticadas como benignas e malignas, no estudo histopatológico de rotina.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Confirmar, em nosso meio, o padrão esperado de imunorreatividade do marcador citoqueratina de alto peso molecular (antígeno 34 β E12) descrito na literatura, isto é, imunomarcção de camada de células basais em condições benignas e ausência de imunomarcção de camada de células basais em condições malignas, através de sua utilização em casos de hiperplasia nodular benigna da próstata e de adenocarcinoma prostático em material de punção-biópsia e de peça cirúrgica.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. SELEÇÃO DOS CASOS E OBTENÇÃO DOS FRAGMENTOS

A partir do arquivo de blocos e lâminas no Departamento de Patologia do Hospital de Câncer de Pernambuco, foram selecionados de um total de 727 lesões prostáticas examinadas no período de junho de 1997 a março de 2002, 40 casos correspondentes a 20 pacientes, dos quais dez tiveram o diagnóstico de hiperplasia nodular benigna da próstata e dez de adenocarcinoma, feitos inicialmente em material de punção-biópsia e confirmados em peça cirúrgica.

Constituíram-se assim, neste estudo de série de casos^{20,57,58}, dois grupos: um formado por dez casos de hiperplasia nodular benigna da próstata, correspondente a dez punções-biópsias e dez prostatectomias, e o outro grupo representado por dez casos de adenocarcinoma, consistindo em dez punções-biópsias e dez prostatectomias. O material corresponde, portanto, a 40 amostras prostáticas para revisão histopatológica e exame imunohistoquímico.

Foram utilizados como critérios para seleção:

- A existência de peça cirúrgica confirmando o diagnóstico obtido pela punção-biópsia;

- A presença de material residual no bloco de parafina suficiente para realização de exame imunohistoquímico;
- O achado de glândulas benignas adjacentes às lesões diagnosticadas como adenocarcinoma, para controle interno da imunomarcção.
- Ausência de artefatos atribuíveis à fixação.(retração de glândulas malignas ou benignas e autólise).

3.2. PROCESSAMENTO IMUNOHISTOQUÍMICO, AVALIAÇÃO DOS ESPÉCIMES E ANÁLISE ESTATÍSTICA

As reações imunohistoquímicas foram realizadas no Departamento de Patologia do Hospital de Câncer de Pernambuco pelo Professor Luciano Montenegro, sem conhecimento do diagnóstico morfológico prévio das amostras encaminhadas (HNBP ou ACP). Todas as preparações histológicas foram também analisadas e revisadas em conjunto pela autora e professora-orientadora. Utilizou-se o método peroxidase-antiperoxidase (PAP)⁶⁴ com o anticorpo monoclonal citoqueratina de alto peso molecular (34 β E12 – M630; DAKO Co., Califórnia, USA) após recuperação antigênica em forno de microondas^{52,71}. Foram utilizadas como controle áreas de tecido prostático normal incluídas nas amostras selecionadas. Os casos foram considerados

positivos quando se identificava imunoexpressão dada pela cor castanha no citoplasma das células não secretórias (mioepiteliais) da camada basal, contornando as estruturas glandulares, nas áreas em estudo, e portanto comprovadamente benignas^{7,27,30,34,53,61,75}. A negatividade foi estabelecida pela não visualização da mesma camada com positividade no controle interno (glândulas normais incluídas nas amostras). Um resultado negativo apenas sugere, mas não confirma, o diagnóstico de malignidade^{7,27,30,34,53,61,75}.

A localização da área a ser analisada na lâmina (área de HNBP ou ACP) foi determinada por superposição de ambas as lâminas estudadas (coradas por HE e pelo marcador 34 β E12), facilitando a determinação do local exato e ser analisado.

A ocorrência ocasional de ausência de imunomarcagem em glândulas não neoplásicas foi ignorada quando a maior parte da amostra demonstrava positividade.

Uma vez efetivado o exame imunohistoquímico nas amostras de tecido prostático estudados, verificou-se o percentual de casos positivos para o marcador de citoqueratina de alto peso molecular (34 β E12) no grupo com diagnóstico histológico de hiperplasia nodular benigna da próstata e de casos negativos no grupo com diagnóstico de adenocarcinoma.

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

A faixa etária dos vinte pacientes, dos quais os tecidos prostáticos foram analisados, variou de 45 a 96 anos, com média de $75,4 \pm 16,7$ anos.

As amostras de tecido de punção prostática com lesões benignas (hiperplasia nodular benigna da próstata, figuras 1 e 2), mostraram imunomarcção positiva para 34 β E12 em todos os casos, tanto nos fragmentos de punção-biópsia (tabela 1), quanto nas peças cirúrgicas (tabela 2), confirmando o diagnóstico da condição benigna e a eficácia da técnica na demonstração da camada de células basais, mioepiteliais.

Em relação aos tecidos com lesão sabidamente maligna (adenocarcinoma da próstata; figuras 3 e 4), nenhuma reação com o anticorpo 34 β E12 foi evidenciada nos ácinos neoplásicos, tanto nos fragmentos de punção-biópsia (tabela 1), quanto nas peças cirúrgicas (tabela 2).

TABELA 1

Resultado da imunomarcção para citoqueratina de alto peso molecular (34 β E12) de 20 amostras obtidas por punção-biópsia transretal da próstata.

	Lesão Benigna (HNBP)	Lesão Maligna (ACP)	Total
IHQ positiva	10	-	10
IHQ negativa	-	10	10
Total	10	10	20

Percentual de positividade das lesões benignas = 100%;
Percentual de negatividade das lesões malignas = 100%.

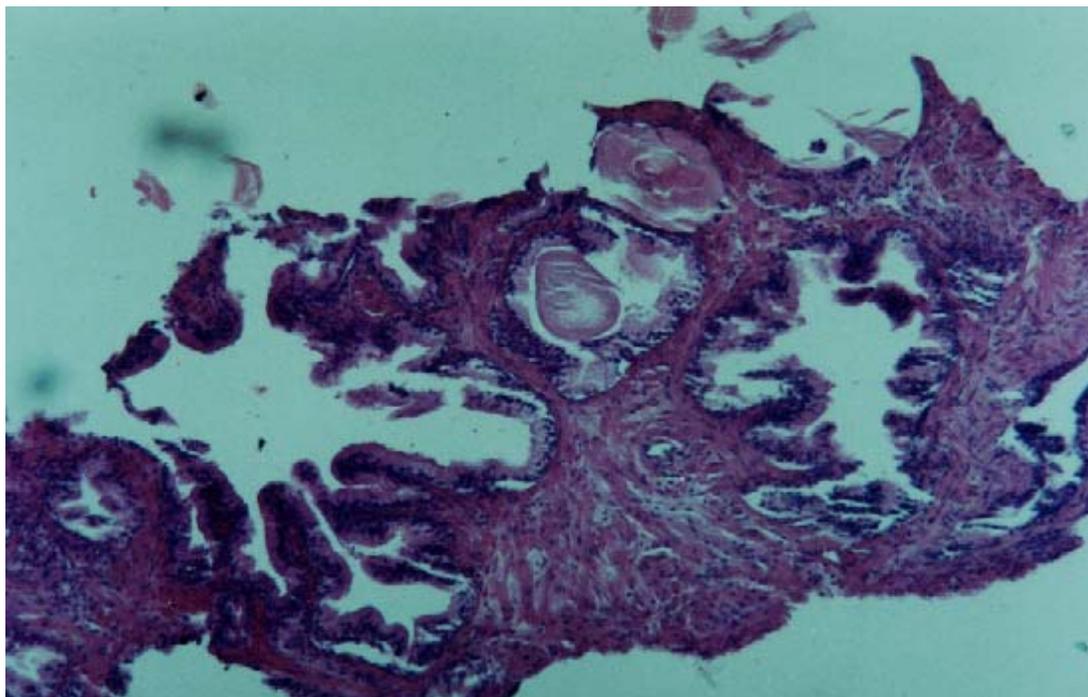


FIGURA 1: Exame histopatológico de tecido obtido por punção-biópsia da próstata, corada pela hematoxilina-eosina, com aumento de 100X: Hiperplasia nodular benigna da próstata.

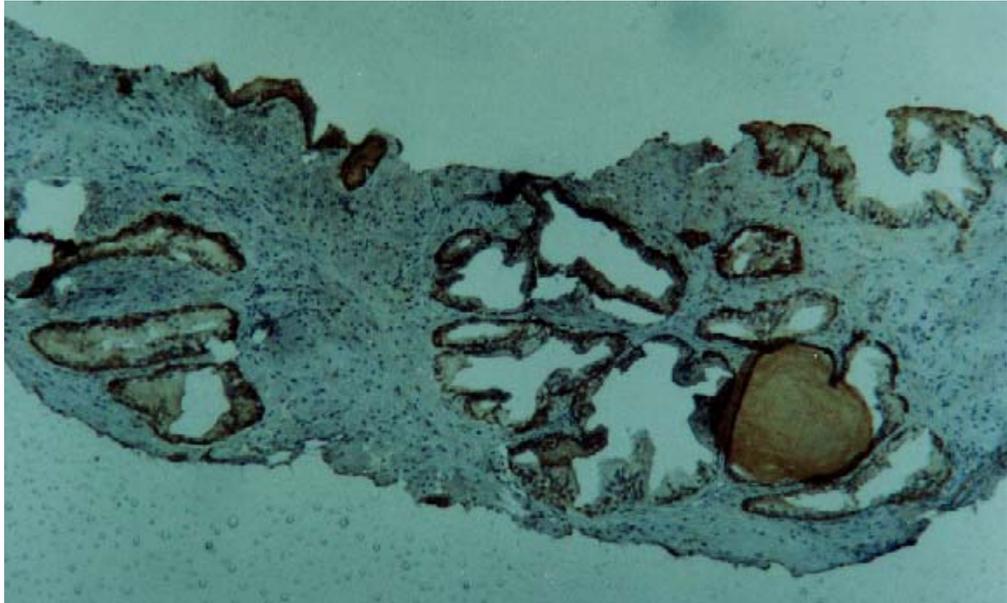


FIGURA 2: Exame imunohistoquímico com marcador de citoqueratina de alto peso molecular (34 β E12), com aumento de 100X:
Hiperplasia nodular benigna da próstata.
Nota-se células da camada basal marcadas com coloração acastanhada (imunohistoquímica positiva).

TABELA 02

Resultado da imunomarcção para citoqueratina de alto peso molecular (34 β E12) de 20 peças de prostatectomia.

	Lesão Benigna (HGBP)	Lesão Maligna (ACP)	Total
IHQ positiva	10	-	10
IHQ negativa	-	10	10
Total	10	10	20

Percentual de positividade das lesões benignas = 100%;
Percentual de negatividade das lesões malignas = 100%.

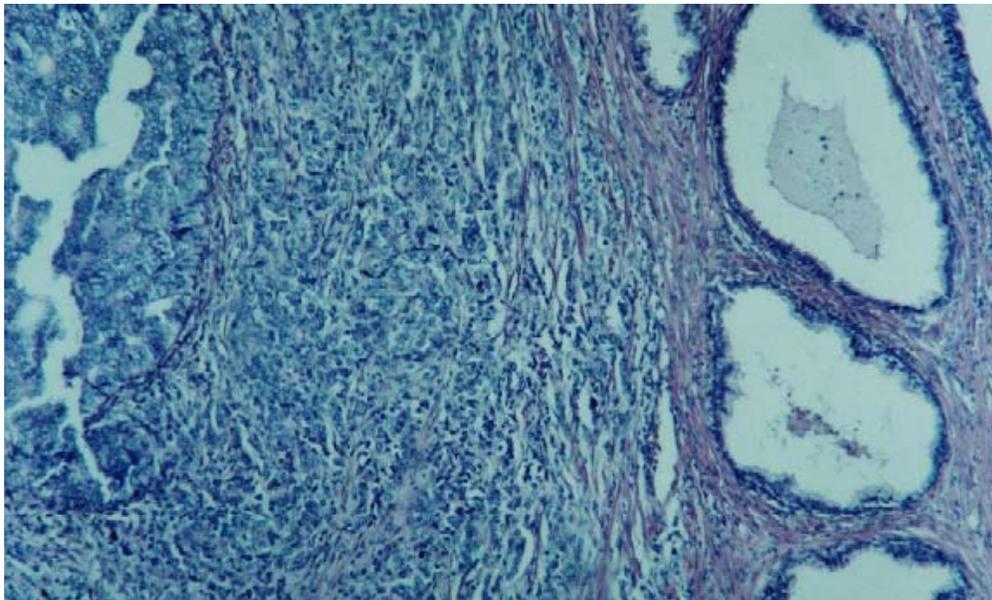


FIGURA 3: Exame histopatológico de tecido obtido por prostatectomia, corada pela hematoxilina-eosina, com aumento de 100X:
Adenocarcinoma da próstata.

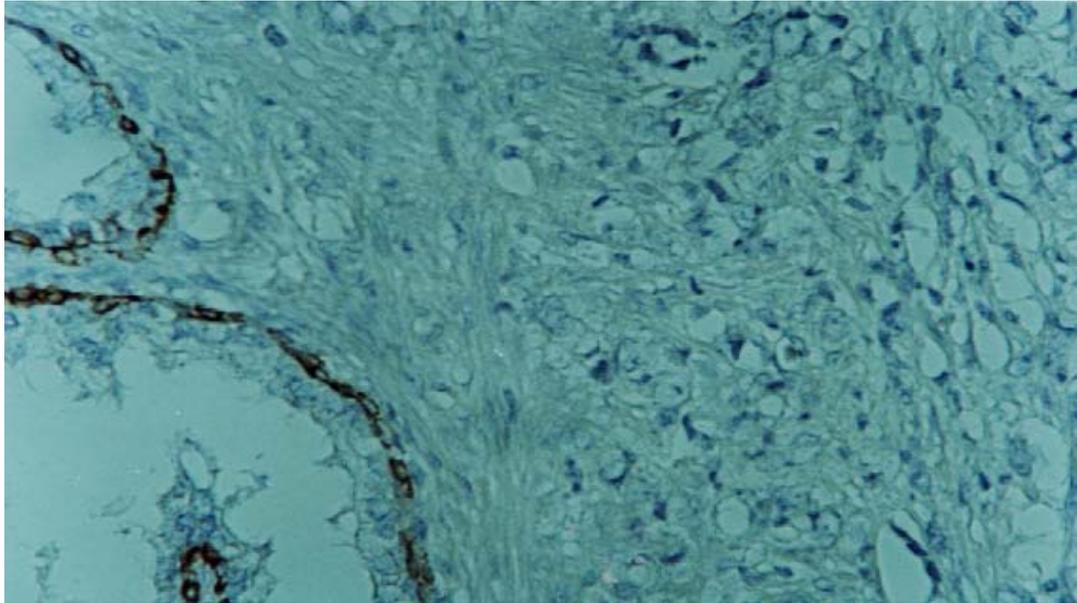


FIGURA 4: Exame imunohistoquímico com marcador de citoqueratina de alto peso molecular (34 β E12), com aumento de 100X:
Adenocarcinoma da próstata.
Nota-se ausência da coloração acastanhada pela inexistência de células da camada basal dos ácinos neoplásicos, a direita da foto (imunohistoquímica negativa).

A tabela 3 analisa os resultados em conjunto, isto é, agrupando os achados da imunomarcção na punção-biópsia com os vistos na peça cirúrgica.

TABELA 03

Resultado da imunomarcção para citoqueratina de alto peso molecular (34 β E12) de 40 amostras obtidas por punção-biópsia transretal da próstata e prostatectomia.

	Lesão Benigna (HNBp)	Lesão Maligna (ACP)	Total
IHQ positiva	20	-	20
IHQ negativa	-	20	20
Total	20	20	40

Percentual de positividade das lesões benignas = 100%;
Percentual de negatividade das lesões malignas = 100%.

Tanto nas amostras obtidas por punção-biópsia (tabela 1), quanto no tecido prostático ressecado cirurgicamente (tabela 2) e no grupo em conjunto (tabela 3), foram observados 100% de positividade para citoqueratina de alto peso molecular (34 β E12) em todas as lesões benignas e 100% de negatividade em todas as lesões malignas.

Em todas as amostras de prostatectomia e em algumas de punção-biópsia observou-se ocasional ausência de imunomarcção em glândulas não neoplásicas, todavia em relação aos adenocarcinomas não ocorreram casos de positividade nas estruturas glanduliformes neoplásicas.

5. DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

O termo proliferação de pequenas glândulas de significado incerto (PPGSI) foi definido com o objetivo de descrever lesões prostáticas que não apresentavam elementos morfológicos suficientes para diagnóstico conclusivo de benignidade ou malignidade^{5,7,8,31}. Como essa definição tem grande importância clínica e prognóstica, visto que os casos de lesões benignas são, na sua maioria, tratados por métodos conservadores, enquanto os de malignidade são submetidos a tratamentos agressivos, como cirurgia radical e/ou radioterapia, em muitos centros especialmente os norte-americanos, tem sido utilizada a imunohistoquímica para citoqueratina de alto peso molecular nos casos em que tenha havido dificuldade em avaliar a ocorrência de invasão^{7,30,53}.

Os casos com imunoexpressão positiva são confirmados como verdadeiramente benignos^{7,30,53}.

As amostras prostáticas com imunoexpressão negativa, ou seja, sem camada de células basais detectada ao método, não têm sua benignidade assegurada, estando o diagnóstico de malignidade a cargo da intensidade das alterações morfológicas, sobretudo aspecto do núcleo e nucléolo, do quadro clínico (idade, consistência prostática ao toque retal) e complementar (PSA

livre/total, aspecto ultra-sonográfico) do paciente. Isto decorre do fato de que a camada de células basais em lesões não neoplásicas pode, em algumas circunstâncias, ficar fragmentada, dificultando a coloração da mesma pelo marcador^{7,30,53}, como pode acontecer em ácinos comprometidos por processo inflamatório, ou na hiperplasia adenomatosa atípica. Outra causa de ausência de imunexpressão da camada de células basais, que pode produzir falhas na interpretação das PPGSI, resulta da má preservação antigênica por artefatos de fixação.

Em nosso meio, não tem sido freqüente a utilização da imunohistoquímica com o anticorpo anti-citoqueratina de alto peso molecular (34 β E12) para o esclarecimento de casos duvidosos. Para a utilização desse exame na prática clínica é necessário que se adquira experiência, visto que falsas interpretações poderiam levar a erros diagnósticos, imperdoáveis dentro do contexto de tratamento e prognóstico esperados.

Em âmbito hospitalar, a imunohistoquímica foi iniciada em Pernambuco em 1993¹⁵, no Departamento de Patologia do Hospital do Câncer de Pernambuco. Inicialmente, foi instalada com apenas cinco marcadores, contando no momento com 52 anticorpos. O marcador de citoqueratina de alto peso molecular (34 β E12) foi adquirido em 2000, ainda não havendo, até então, experiência prévia com a sua utilização em lesões prostáticas. No nosso meio, acredita-se ser de grande importância o desenvolvimento do método, que pode auxiliar no esclarecimento da inquietante dúvida que acompanha o diagnóstico

de proliferação de pequenas glândulas de significado incerto, evitando procedimentos de rebiópsia.

Vale ainda chamar atenção para sua realização dentro do contexto de minimizar possíveis erros diagnósticos⁶, que poderiam originar processos por má prática da Medicina. Dados do *The Doctors Company*, dos Estados Unidos da América, obtidos a partir da revisão de denúncias de má prática no período de 1995 a 1997, demonstraram que em 54% dos casos as falhas ocorreram em seis tipos específicos de espécimes que foram considerados de “alto risco”. Incluía espécimes de biópsias mamárias (14%), diagnóstico de melanoma (11%), linfoma (7%), punção aspirativa por agulha fina (geral 7%, de lesões de mama 6%), biópsia intraoperatória (5%) e biópsias por punção de próstata (4%). Nessas últimas, 78% das falhas ocorreram como falso positivo, em lesões que simulam adenocarcinoma da próstata, tais como atrofia, hiperplasia pós-atrótica, adenose e neoplasia intra-epitelial da próstata⁶⁹.

Nesse estudo procurou-se validar a técnica no serviço onde foi realizada. Embora seja relativamente pequeno o número de casos, acredita-se que a experiência prévia de nove anos no uso da imunohistoquímica e os resultados obtidos com o uso de anticorpo anti-citoqueratina 34 β E12 permitem a utilização do método em nosso meio.

Os testes imunohistoquímicos são usados em todo o mundo para diagnósticos anatomopatológicos. No que toca a sua aplicação em oncologia, tem sido utilizada principalmente para esclarecimento da histogênese de

neoplasia, subtipagem de linfomas e determinação de fatores prognósticos e preditivos da terapêutica²⁹.

Os reagentes utilizados são anticorpos contra componentes celulares específicos, incluindo oncogenes, substâncias do tecido normal, hormônios, enzimas ou outras proteínas. São necessários profissionais experientes para a realização correta da técnica, e patologistas treinados para a adequada interpretação dos resultados²⁹.

Na próstata, é pouco usada, sendo os marcadores mais conhecidos os anticorpos anti-antígeno específico prostático (PSA) e anti-fosfatase ácida específica prostática (PAP), que são, em geral, utilizados para definir a origem prostática de tumores metastáticos de sítio primário não determinado⁴⁰.

A imunohistoquímica com marcador de citoqueratina de alto peso molecular (34βE12) reage com as células mioepiteliais (não-secretórias) da camada basal dos ácinos prostáticos. Como essa estrutura só está presente em lesões prostáticas benignas, esse método é hoje freqüentemente utilizado como suporte no diagnóstico diferencial de carcinoma prostático, inclusive em amostras de tecido obtidas por punção-biópsia^{7,27,30,34,53,61,75}. Alguns autores^{19,52} chamam atenção para as limitações do exame. Uma delas está no fato de que amostras colhidas por punção transretal podem fornecer pouco material para exame, sobretudo em lesões muito pequenas. Outra está na perda de expressão antigênica por artefatos atribuíveis à má fixação, que pode ser

minimizada pela utilização de técnicas específicas com aquecimento em microondas^{52,71}, método utilizado neste estudo.

Dado ao pequeno tamanho dos fragmentos, em geral, em material de punção-biópsia, não há problemas relacionados à fixação incompleta e sim ao excesso de fixação⁷¹. A técnica de recuperação da imunorreatividade com aquecimento com microondas, acima mencionamos, só não tem efeito satisfatório quando o tempo em formalina for superior a uma semana⁷¹, o que é desnecessário e geralmente não acontece com amostras de punção-biópsia.

Já em material de prostatectomia, pelo grande volume de tecido, os artefatos atribuíveis à fixação insuficiente são mais comuns. No material em estudo, o achado de ocasional ausência de imunomarcção da camada de células basais em glândulas não neoplásicas é atribuível a possíveis artefatos de fixação, apesar da tentativa de excluir os casos mal fixados, na fase de seleção do material, pela utilização de critérios histopatológicos. Esse é um problema comum nos laboratórios de patologia, dada a dificuldade de controle do tempo de fixação na etapa que precede à chegada do tecido ao patologista. Uma ótima fixação é aquela em que o material é colocado em formalina neutra, tamponada a 10%, logo após a retirada, em volume de até 10 vezes ao do tecido¹⁴. Considera-se como tempo padrão, oito horas para um milímetro de espessura do tecido. Assim, dependendo do volume do material, a fixação deverá ser processada entre oito a 48 horas⁵⁰. Para assegurar uma ótima preservação antigênica e conseqüentemente, uma boa imunomarcção, recomenda-se que o tempo de fixação não ultrapasse oito horas e 24 horas

para pequenas biópsias e espécimes grandes, respectivamente⁷⁴. Essas recomendações permanecem válidas apesar das novas técnicas de recuperação antigênica minimizarem essa necessidade. Em geral, uma fixação deficiente, resultando em autólise é mais prejudicial que a super-fixação para a realização do exame imunohistoquímico.

Em relação á quantidade de material disponível para análise após punção-biópsia por agulha, quando não for suficiente para fazer diferentes lâminas para coloração com o HE e imunohistoquímica, trabalhos mostram que é possível a imunomarcação utilizando a mesma lâmina, após técnica de descoloração do HE¹⁹. Outro aspecto enfatizado como causa da falha da imunomarcação são os artefatos atribuíveis à cauterização, sobretudo em material obtido por RTU.

Alguns autores alertaram para a rara possibilidade de uma reação positiva com tecido maligno⁷⁶. Em um desses estudos foi realizado imunohistoquímica em tecido metastático de carcinoma prostático, que demonstrou positividade em dois casos (menos de 0,2% das células tumorais estudadas), de um total de 100 casos, e não tendo sido estas células, seguramente identificáveis às da camada basal⁷⁶. No material em estudo não foi observado imunomarcação nos casos de adenocarcinoma, todavia chama-se a atenção para o fato de que foram utilizados tecidos diferentes do acima mencionado em uma série menor de casos^{27,34,61,75}.

No presente estudo, a imunohistoquímica com marcador de citoqueratina de alto peso molecular demonstrou presença de camada de células basais em todos

os casos de HNPB e ausência da mesma em todos os casos de ACP, confirmando os dados da literatura.

Pode-se afirmar que esses resultados dão segurança para o início da utilização da imunohistoquímica em nosso meio, em tecido obtido por punção biópsia transretal da próstata, como importante método auxiliar de esclarecimento de lesões duvidosas ao exame histopatológico, evitando novos procedimentos invasivos.

6. CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

Utilizando-se o anticorpo anti-citoqueratina de alto peso molecular (34 β E12) em hiperplasia nodular benigna e adenocarcinoma da próstata, diagnosticados em material de punção-biópsia e de prostatectomia, confirmaram-se os achados descritos na literatura:

1) Imunomarcção positiva com demonstração da camada de células basais na hiperplasia nodular benigna;

2) Imunomarcção negativa pela ausência da camada de células basais no adenocarcinoma;

3) Em conseqüência, é recomendada a sua utilização nos casos de proliferação de pequenas glândulas de significado incerto e outras condições simuladoras do adenocarcinoma prostático, como adjunto aos exames histopatológicos de rotina, que permanece como importante critério para definição de malignidade. O exame imunohistoquímico com marcador de citoqueratina de alto peso molecular (34 β E12) deve ser rotineiramente utilizado para exclusão de malignidade de amostras de tecido prostático com lesão caracterizada à morfologia como proliferação de pequenas glândulas de significado incerto.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABREU-E-LIMA, M. C. C. A biópsia estereotática no diagnóstico das lesões impalpáveis da mama: uma integração da anatomia patológica com a radiologia de alta precisão. Recife, 1997. Tese (Doutorado) – Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco.
2. ABREU-E-LIMA, M. C. C. Atitudes para minimizar a possibilidade de erro ou falha no diagnóstico histopatológico. **O Patologista**, v.68, p.6-7, 2002.
3. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Referências Bibliográficas: NBR 6023. Rio de Janeiro, 1989.
4. BILLIS, A. Carcinomas da próstata. In: BACCHI, C. E.; ALMEIDA, P. C. C.; FRANCO, M. **Manual de padronização de laudos histopatológicos da Sociedade Brasileira de Patologia**. 2ª ed. Rio de Janeiro, Reichmann & Affonso Editores, 1999. p.125-136.
5. BILLIS, A. **Uropatologia prostática: guia prático para o diagnóstico anatomopatológico**. Goiânia, Editora da UFG, 1997.
6. BOSTWICK, D. G., CHANG L. Overdiagnosis of prostatic adenocarcinoma. **Semin. Urol. Oncol.**, v.17, n.4, p.199-205, 1999.
7. BOSTWICK, D. G.; DUNDORE, P. A. **Biopsy pathology of the prostate**. New York, Chapman & Hall Medical, 1997.

8. BOSTWICK, D. G.; SRIGLEY, J.; GRIGNON, D. J.; MAKSEM, J.; HUMPHREY, P.; VAN DER KWAST, T. H.; BOSE, D.; HARRISON, J.; YOUNG, R. H. Atypical adenomatous hyperplasia of the prostate: morphologic criteria for its distinction from well-differentiated carcinoma. **Hum. Pathol.**, v.24, p.819-32, 1993.
9. BOSTWICK, D. G.; WOLLAN, P.; ADLAKHA, K. Collagenous micronodules in prostate cancer: a specific but infrequent diagnostic finding. **Arch. Pathol. Lab. Med.**, v.119, p.444-7, 1995.
10. BRAWER, M. K.; CHETNER, M. P. Ultrasonography of the prostate and biopsy. In: WALSH, P. C. **Campbell's urology**. 7^a ed. W. B. Saunders Company, 1998. p.2506-18.
11. BRAWN, P. N. Adenosis of the prostate: a dysplastic lesion that can be confused with prostate adenocarcinoma. **Cancer**, v.49, p.826-33, 1982.
12. CADEDDU, J. A.; KAVOUSSI, L. R. Laparoscopic radical prostatectomy: is it feasible and reasonable? **Urol. Clin. North Am.**, v.28, n.3, 2001.
13. CARLSON, K. V.; NITTI, V. W. Prevention and management of incontinence following radical prostatectomy. **Urol. Clin. North Am.**, v.28, n.3, 2001.
14. CARVALHO, A. R. L. Biópsia. **Ministério da Saúde: Divisão Nacional de Câncer**, p.1-25, 1971.

15. CARVALHO, A. R. L.; ABREU-E-LIMA, M. C. C. História da patologia de Pernambuco. In: FRANCO, M. F.; SOARES, F. A. **A história da patologia no Brasil**. 1ª ed. São Paulo, Sociedade Brasileira de Patologia, 2001. p.202-24.
16. CHAN, T. Y.; EPSTEIN, J. I. Follow-up of atypical prostate needle biopsies suspicious for cancer. **Urology**, v.53, p.351-5, 1999.
17. CHU, P. G.; WEISS, L. M. Keratin expression in human tissues and neoplasms. **Histopathology**, v.40, p.403-39, 2002.
18. COTRAN, S. R.; KUMAR, V.; ROBBINS, S. L.; SCHOEN, F. J. **Robbins pathologic basis of disease**. 6ª ed. W. B. Saunders Company, 1999. p.1011-34: The male genital tract.
19. DARDIK, M.; EPSTEIN, J. I. Efficacy of restaining prostate needle biopsies with high-molecular weight cytokeratin. **Hum. Pathol.**, v.31, n.9, p.1155-61, 2000.
20. EBRAHIM, G. J.; SULLIVAN, K. R. **Métodos de pesquisa em saúde materno-infantil**. Recife, Edições Bargaço Ltda, 1995. p.89-103: Tipos de estudo – I.
21. EPSTEIN, J. I. Diagnosis of adenocarcinoma of the prostate on needle biopsy. In: XXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE PATOLOGIA, 2001. (CD-ROM).
22. EPSTEIN, J. I. Prostate biopsy interpretation. **Raven. Press.**, New York, 1989.

23. GARNICK, M. B. Overview of the clinical presentation, diagnosis, and staging of prostate cancer. **UpToDate online 9.3**, 2002.
24. GAUDIN, P. B.; EPSTEIN, J.I. Adenosis of the prostate: histologic features in needle biopsy specimens. **Am. J. Surg. Pathol.**, v.19, p.737-47, 1995.
25. GLEASON, D. F. Atypical hyperplasia, benign hyperplasia, and well differentiated adenocarcinoma of the prostate. **Am. J. Surg. Pathol.**, v.9, p.53-67, 1985.
26. GOLDSTEIN, N. S.; QIAN, J.; BOSTWICK, D. G. Mucin expression in atypical adenomatous hyperplasia of the prostate. **Hum. Pathol.**, v.26, p.887-91, 1995.
27. GOLDSTEIN, N. S.; UNDERHILL, J.; ROSZKA, J.; NEILL, J. S. Cytokeratin 34-beta-E-12 immunoreactivity in benign prostatic acini: quantitation, pattern assessment, and electron microscopic study. **Am. J. Clin. Pathol.**, v.112, n.1, p.69-74, 1999.
28. HAHNFELD, L. E.; MOON, T. D. The aging male patient: prostate cancer. **Med. Clin. North Am.**, v.83, n.5, p.1231-45, 1999.
29. HAINSWORTH, J. D.; GRECO, F. A. Poorly differentiated neoplasms of unknown primary site. **UpToDate online 9.3**, 2002.
30. HEDRICK, L.; EPSTEIN, J. I. Use of keratin 903 as an adjunct in the diagnosis of prostate carcinoma. **Am. J. Surg. Pathol.**, v.13, p.389-96, 1989.

31. HELPAP, B. Differential diagnosis of glandular proliferations in the prostate: a conventional and immunohistochemical approach. **Virchows Arch.**, v.433, n.5, p.397-405, 1998.
32. HELPAP, B. Observations on the number, size and localization of nucleoli in hyperplastic and neoplastic prostatic disease. **Histopathology**, v.13, p.203-11, 1988.
33. HELPAP, B.; KÖLLERMANN, J. Atypical acinar proliferations of the prostate. **Pathol. Res. Pract.**, v.195, n.12, p.795-9, 1999.
34. HELPAP, B.; KÖLLERMANN, J.; OEHLER, U. Limiting the diagnosis of atypical small glandular proliferations in needle biopsies of the prostate by the use of immunohistochemistry. **J. Pathol.**, v.193, n.3, p.350-3, 2001.
35. HOEDEMAEKER, R. F.; KRANSE, R.; RIETBERGEN, J. B.; KRUGER, A. E.; SCHRODER, F. H.; VAN DER KWAST, T. H. Evaluation of prostate needle biopsies in a population-based screening study: the impact of borderline lesions. **Cancer**, n.85, v.1, p.145-52, 1999.
36. ICZKOWSKI, K. A.; BOSTWICK, D. G. Prostate biopsy interpretation. **Urol. Clin. North Am.**, v.26, n.3, p.435-52, 1999.
37. ICZKOWSKI, K. A.; MACLENNAN, G. T.; BOSTWICK, D. G. Atypical small acinar proliferation suspicious for malignancy prostate needle biopsies: clinical significance in 33 cases. **Am. J. Surg. Pathol.**, v.21, n.12, p.1489-95, 1997.

38. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. Câncer de próstata. (Online).
Disponível: <http://www.inca.gov.br/cancer/prostata/> (novembro, 2002).
39. JENSEN, P. E.; GARDNER, W. A. Jr.; PISERCHIA, P. V. Prostatic crystalloids: association with adenocarcinoma. **The Prostate**, v.1, p.25-30, 1980.
40. KELEMEN, P. R.; BUSCHMANN, R. J.; WEISZ-CARRINGTON, P. Nucleolar prominence as a diagnostic variable in prostatic carcinoma. **Cancer**, v.65, p.1017-20, 1990.
41. KLEIN, E. A.; GARNICK, M. B. Overview of treatment for early prostate cancer. **UpToDate online 9.3**, 2002.
42. KOVI, J. Microscopic differential diagnosis of small acinar adenocarcinoma of prostate. **Pathol. Ann. Part.**, v.1, p.157-96, 1985.
43. KRAMER, C. E.; EPSTEIN, J. I. Nucleoli in low-grade prostate adenocarcinoma and adenosis. **Hum. Pathol.**, v.24, p.618-23, 1993.
44. LEPOR, H. Radical retropubic prostatectomy. **Urol. Clin. North Am.**, v.28, n.3, 2001.
45. LITTRUP, P. J.; BAILEY, S. E. Prostate cancer: the role of transrectal ultrasound and its impact on cancer detection and management. **Rad. Clin. North Am.**, v.38, n.1, p.87-113, 2000.
46. MCCULLOUGH, A. R. Prevention and management of erectile dysfunction following radical prostatectomy. **Urol. Clin. North Am.**, v.28, n.3, 2001.

47. McLEAN, W. H.; LANE, E. B. Intermediate filaments in disease. **Curr Opin. Cel. Biol.** 1995; 7; 118-125.
48. MCNEAL, J. E. Origin and development of carcinoma in the prostate. **Cancer**, v.23, p.24-34, 1969.
49. MCNEAL, J. E.; BOSTWICK, D. G. Intraductal dysplasia: a premalignant lesion of the prostate. **Hum. Pathol.**, v.17, p.64-70, 1986.
50. MICHALANY, J. **Anatomia patológica geral na prática médico-cirúrgica.** Ed. Artes Médicas 1995. p.73-82.
51. MOSTOFI, F. K.; SESTERHENN, I. A.; DAVIS, C. J. Jr. Prostatic carcinoma: problems in the interpretation of prostate biopsies. **Hum. Pathol.**, v.23, p.223-41, 1992.
52. MULTHAUPT, H. A.; FESSLER, J. N.; WARHOL, M. J. Loss of high-molecular-weight cytokeratin antigenicity in prostate tissue obtained by transurethral resections. **Arch. Pathol. Lab. Med.**, v.124, n.12, p.1764-7, 2000.
53. NAGLE, R. B.; AHMANN, F. R.; MCDANIEL, K. M.; PAQUIN, M. L.; CLARK, V. A.; CELNIKER, A. Cytokeratin characterization of human prostatic carcinoma and its derived cell lines. **Cancer Res.**, v.47, p.281-6, 1987.
54. NEHRA, A.; MORELAND, R. B. Neurologic erectile dysfunction. **Urol. Clin. North Am.**, v.28, n.2, 2001.

55. O'MALLEY, F. P.; GRIGNON, D. J.; SHUM, D. T. Usefulness of immunoperoxidase staining with high-molecular-weight cytokeratin in the differential diagnosis of small-acinar lesions of the prostate gland. **Virchows Arch.**, v.417, p.191-6, 1990.
56. PARTIN, A. W.; COFFEY, D. S. The molecular biology, endocrinology, and physiology of the prostate and seminal vesicles. In: WALSH, P. C. **Campbell's urology**. 7^a ed. W. B. Saunders Company, 1998. p.1381-1428.
57. PEREIRA, M. G. **Epidemiologia: teoria e prática**. Rio de Janeiro, Ed. Guanabara-Koogan, 2000. p.289-306: Estrutura, vantagens e limitações dos principais métodos.
58. PEREIRA, M. G. **Epidemiologia: teoria e prática**. Rio de Janeiro, Ed. Guanabara-Koogan, 2000. p.269-288: Métodos empregados em epidemiologia.
59. PINDER, S. E.; MCMAHON, R. F. T. Mucins in prostatic carcinoma. **Histopathology**, v.16, p.43-6, 1990.
60. PUTZI, M. J.; DE MARZO, A. M. Prostate pathology: histologic and molecular perspectives. **Hemat. Oncol. Clin. North Am.**, v.15, n.3, 2001.
61. RAMNANI, D. M.; BOSTWICK, D. G. Basal cell-specific anti-keratin antibody 34-beta-E-12: optimizing its use in distinguishing benign prostate and cancer. **Mod. Pathol.**, v.12, n.5, p.443-4, 1999.

62. RO, J. Y.; GRIGNON, D. J.; TRONCOSO, P.; AYALA, A. G. Mucin in prostatic adenocarcinoma. **Sem. Diag. Pathol.**, v.5, p.273-83, 1988.
63. ROSAI, J. **Ackerman's Surgical Pathology**. 8^a ed. Mosby, New York, 1995. p.1221-56: Male reproductive system / prostate and seminal vesicles.
64. ROSAI, J. **Ackerman's Surgical Pathology**. 8^a ed. Mosby, New York, 1995. p.29-62: Special techniques in surgical pathology.
65. SHEKARRIZ, B.; UPADHYAY, J.; WOOD, D. P. Intraoperative, perioperative, and long-term complications of radical prostatectomy. **Urol. Clin. North Am.**, v.28, n.3, 2001.
66. SMALL, E. J.; REESE, D. M. New treatment strategies in advanced prostate cancer. **Rad. Clin. North Am.**, v.38, n.1, p.203-11, 2000.
67. SRIGLEY, J. R. Small-acinar patterns in the prostate gland with emphasis on atypical adenomatous hyperplasia and small-acinar carcinoma. **Sem. Diag. Pathol.**, v.5, p.254-72, 1988.
68. TAYLOR, N. S. Histochemistry in the diagnosis of early prostatic carcinoma. **Hum. Pathol.**, v.10, p.513-20, 1979.
69. TROXEL DB: Diagnostic erros in surgical pathology uncovered by a review of mal practice clains. Part I. **Int. J. Surg. Pathol.**, v.8, n.2, p.161-3, 2000.
70. UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. FACULDADE DE MEDICINA. SERVIÇO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO. Estrutura e apresentação de dissertações e teses, elaborado por Annelise Carneiro da Cunha. 2^a ed. São Paulo, 1996.

71. VARMA, M.; LINDEN, M. D.; AMIN, M. B. Effect of formalin fixation and epitope retrieval techniques on antibody 34-beta-E-12 immunostaining of prostatic tissues. **Mod. Pathol.**, v.12, n.5, p.472-8, 1999.
72. WALSH, P. C. **Campbell's urology**. 7^a ed. W. B. Saunders Company, 1998. p.2539-46: The natural history of localized prostate cancer a guide to therapy.
73. WAYNE STATE UNIVERSITY. HARPER HOSPITAL. Curso de patologia uro-oncológica. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo, 1999.
74. WEISS, L. M.; CHANG, K. L. **Handout: USCAP Annal Inceting**, 2002. p.1- 77.
75. YAMANAKA, Y.; ISHIDA, H.; OKADA, K.; NEMOTO, N. Immunohistochemical analysis with anti-cytokeratin antibody in the prostatic epithelium. **Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi**, v.92, n.5, p.545-53, 2001.
76. YANG, X. J.; LECKSELL, K.; GAUDIN, P.; EPSTEIN, J.I. Rare expression of high-molecular-weight cytokeratin in adenocarcinoma of the prostate gland: a study of 100 cases of metastatic and locally advanced prostate cancer. **Am. J. Surg. Pathol.**, v.23, n.2, p.147-52, 1999.
77. YU, K. K.; HRICAK, H. Imaging prostate cancer. **Rad. Clin. North Am.**, v.38, n.1,p.59-85, 2000.
-

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)