INSTITUTO NACIONAL DE ENSINO SUPERIOR E PESQUISA
CENTRO DE CAPACITAÇÃO EDUCACIONAL

ROSANA BEATRIZ PINHEIRO DA SILVA

O DIAGNÓSTICO DO MESOTELIOMA MALIGNO

RECIFE
2017

ROSANA BEATRIZ PINHEIRO DA SILVA

O DIAGNÓSTICO DO MESOTELIOMA MALIGNO

Monografia apresentada a Instituto Nacional de Ensino Superior e Pesquisa e Centro de Capacitação Educacional, como exigência do Curso de Pós-graduação Lato Sensu em Citologia Clínica.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Santiago Dimech

RECIFE
2017

S586m Silva, Rosana Beatriz Pinheiro da

O diagnóstico do mesotelioma maligno / Rosana Beatriz Pinheiro da Silva;

Gustavo Santiago Dimech, orientador. — 2017.

Trabalho de Conclusão de Curso Pós-graduação Lato Sensu em Citologia

Clínica. – Instituto Nacional de Ensino Superior e Pesquisa e Centro de

Catalogação na fonte: bibliotecária Rosaria Garcia Costa CRB 10/1230

ROSANA BEATRIZ PINHEIRO DA SILVA

O DIAGNÓSTICO DO MESOTELIOMA MALIGNO

Monografia apresentada a Instituto Nacional de Ensino Superior e Pesquisa e Centro de Capacitação Educacional, como exigência do Curso de Pós-graduação Lato Sensu em Citologia Clínica.

Recife, 15 de setembro de 2017

EXAMINADOR (ES);

Nome: _____

Titulação: _____

Nome: _____

Titulação: _____

PARECER FINAL:

_____

_____

_____

A Sergio Pinheiro da Silva e Inês da Rosa Silva.

Por me darem a vida e por cuidar de mim com todo amor do mundo.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, irmã, cunhado e sobrinha pelo apoio e incentivo durante todo o curso e ao longo da minha vida.

A toda a minha família, pelo suporte durante todos os anos de estudos.

A Luiz da Silva e Ermina da Rosa, *in memoriam,* que me transmitiram seus valores, me ensinaram a ser forte, sonhar e batalhar pelos meus objetivos sem esquecer meus princípios e sempre fazer e desejar o bem.

A Deus e todas as energias que me movem por permitir a minha existência e ter me guiado no caminho da sabedoria.

Ao professor Gustavo S. Dimech que orientou esta monografia.

A todos os professores do CCE Centro de Capacitação Educacional que durante todo o curso passaram todos os seus conhecimentos, profissionais e pessoais, contribuindo para meu aprendizado profissional e ser humano. E todos os demais funcionários, pela acolhida, atenção e carinho para comigo. Em especial Cícera, pelo amor que nos atendia todos os dias.

A todos os meus colegas de turma, que foram indispensáveis durante todo o processo, e se tornaram colegas de profissão e amigos para a vida toda.

Aos amigos do Rio Grande do Sul, que entenderam minha distância e ausência em muitos momentos.

Aos amigos de São Paulo, presentes que recebi. Agradeço todo o apoio, conversas, risadas e conselhos.

Aos amigos que fiz em Recife, sem os quais minha estadia seria sem graça, sem cor, sem vida. Não podendo infelizmente citar um por um, mas todos sintam se agradecidos.

Ao meu Guia espiritual e os irmãos de fé, obrigado por me manterem no caminho do bem, pelo apoio, carinho e compreensão.

Ọkàn ríran ju ojú lọ
(O coração pode ver muito mais profundamente do que os olhos)
Ẹni bá ṣe oun tí ẹnìkan ò ṣe rí á rí ohun tí ẹnìkan ò rí rí
(Quem faz o que ninguém fez, vai experimentar aquilo que ninguém experimentou)

RESUMO

Há séculos a ciência trava uma luta com uma das doenças que mais matam no mundo, o Câncer. Muitos avanços ocorreram ao longo dos séculos, tanto no diagnóstico quanto ao tratamento e cura, entretanto a cada ano nota-se um crescente aumento nos números de casos relatados. No Brasil, estima-se cerca de 600 mil casos novos de câncer, para o biênio 2016-2017. O Mesotelioma Maligno (MM) é um tipo raro de câncer, com incidência de um a dois casos para 1.000.000 de habitantes, (HIPEC, 2017), (INCA, 2017). É uma neoplasia altamente agressiva, podendo ter origem ocupacional ou ambiental. Um dos fatores para seu desenvolvimento é a contaminação através da inalação das fibras de amianto. O trabalho desenvolvido seguiu os preceitos de uma revisão de literatura, assim este estudo tem o objetivo de descrever o diagnóstico do mesotelioma maligno, conhecendo os líquidos cavitários e células mesoteliais, relatando as principais alterações citológicas encontradas nos líquidos cavitários, citando os principais métodos para diagnóstico. Existem três cavidades no corpo humano: pleural, peritoneal e pericárdica, formadas por camadas de células chamadas Mesoteliais, a quantidade de liquido presente nas cavidades é controlado pelo equilíbrio estabelecido entre forças hemodinâmicas arteriais e venosas e o ambiente conjuntivo circunjacente. O Mesotélio pode sofrer rações de hiperplasia e hipertrofia conforme os danos causados ao epitélio. Podendo, estes danos, serem provocados por agentes químicos, físicos, biológicos inflamatórios agudos ou crônicos, ou até mesmo processos neoplásicos na proximidade do epitélio. O Mesotelioma pleural é a neoplasia maligna do mesotélio mais comuns (90%), seguidos pelos mesoteliomas peritoneais e pericárdicos (10 - 6%). Apresenta alto grau de malignidade, expresso por invasão local de partes moles, como parede torácica, parênquima pulmonar, pericárdio adjacente e linfonodos regionais. O amianto ou asbesto é uma fibra mineral natural sedosa que, por suas propriedades físico-químicas e sua abundância na natureza e, principalmente, baixo custo, tem sido largamente utilizado na indústria e um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento do MM. Os métodos mais empregados para o diagnóstico do MM são a Citologia, Imunocitoquímica, Citometria de Fluxo, AgNOR e a técnica de FISH. A citologia é considerada o melhor método para o diagnóstico, uma vez, que as demais técnicas esbaram em algumas dificuldades, como falta de marcadores imunocitoquímicos para o MM e o alto custo da técnica de FISH. O ideal para o diagnóstico do MM é a combinação das técnicas e procedimentos de atenção ao paciente voltados para essa neoplasia. Constante aperfeiçoamento profissional e investimentos em pesquisas para o desenvolvimento de novas técnicas e aprimoramento das já existentes.

Palavras-chaves: Câncer. Líquidos Cavitários. Mesotelioma maligno. Diagnóstico.

ABSTRACT

For centuries science has been struggling with one of the most deadly diseases in the world, Cancer. Many advances have occurred over the centuries, both in diagnosis and treatment and cure, but each year there is a growing increase in the number of reported cases. In Brazil, an estimated 600,000 new cases of cancer, for the biennium 2016-2017. Malignant Mesothelioma (MM) is a rare type of cancer, with incidence of one to two cases for 1,000,000 inhabitants, (HIPEC, 2017), (INCA, 2017). It is a highly aggressive neoplasm, and may have an occupational or environmental origin. One of the factors for its development is the contamination through inhalation of asbestos fibers. The main objective of this study was to describe the diagnosis of malignant mesothelioma, knowing cavity liquids and mesothelial cells, reporting the main cytological alterations found in cavity liquids, citing the main methods for diagnosis . There are three cavities in the human body: pleural, peritoneal and pericardial, formed by layers of cells called Mesothelial, the amount of liquid present in the cavities is controlled by the established balance between arterial and venous hemodynamic forces and the surrounding conjunctive environment. Mesothelium may undergo hyperplasia and hypertrophy rations as damage to the epithelium occurs. These damages can be caused by chemical, physical, biological inflammatory agents acute or chronic, or even neoplastic processes in the proximity of the epithelium. Pleural mesothelioma is the most common malignant neoplasm of the mesothelium (90%), followed by peritoneal and pericardial mesotheliomas (10 - 6%). It presents a high degree of malignancy, expressed by local invasion of soft parts such as thoracic wall, pulmonary parenchyma, adjacent pericardium and regional lymph nodes. Asbestos or asbestos is a natural silky mineral fiber that, because of its physicochemical properties and its abundance in nature and especially low cost, has been widely used in industry and one of the main risk factors for the development of MM. The most used methods for the diagnosis of MM are Cytology, Immunocytochemistry, Flow Cytometry, AgNOR and FISH technique. Cytology is considered the best method to diagnose once the other techniques have failed in some difficulties, such as the lack of immunocytochemical markers for MM and the high cost of FISH technique. The ideal for the diagnosis of MM is the combination of patient care techniques and procedures for this neoplasm. Constant professional improvement and investments in research for the development of new techniques and improvement of existing ones.

Key-words: Cancer. Cavity Liquids. Malignant mesothelioma. Diagnostic.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Corte histológico do Mesotélio, célula mesotelial (flecha) 17
Figura 2 - Células mesoteliais isoladas.....18
Figura 3 - Grupo de células mesoteliais.....19
Figura 4 - Células mesoteliais apresentando “janelas”.....19
Figura 5 - Pleura e suas divisões.....20
Figura 6 - Pericárdio, cavidade do pericárdio e seio transverso do pericárdio.....21
Figura 7 - Cavidade peritoneal.....22
Figura 8 - Diferentes colorações das efusões.....23
Figura 9 - Células mesoteliais mimetizando adenocarcinomas.....26
Figura 10 - Célula mesotelial reacional.....26
Figura 11 - Célula mesotelial vacuolizada e célula de adenocarcinoma.....27
Figura 12 - Célula “anel de sinete.....27
Figura 13 - Célula apresentando mitose.....27
Figura 14 - Células que podem ser encontradas nas efusões.....29
Figura 15 - Derrame pleural, células de adenocarcinoma de mama em “anel-de-sinete”.....31
Figura 16 - Derrame peritoneal contendo um fragmento papilar de adenocarcinoma de ovário contendo um corpo de psammoma.....32
Figura 17 - Derrame pleural retratando um fragmento de não queratinização de carcinoma de células escamosas de brônquios.....33
Figura 18 - Célula queratinizante metastática de carcinoma de célula escamosas…33
Figura 19 - Carcinoma de células pequenas apresentando amoldamento, alterações nucleares e variação de tamanho.....34
Figura 20 - Linfoma maligno tipo de célula pequena, linfoma não-Hodgkin.....35
Figura 21 - Células de melanoma cutâneo metastático.....36
Figura 22 - Célula de sarcoma disgerminoma apresentando nucléolo.....37
Figura 23 - Grupos hipercelulares no liquido ascitico, característico de mesotelioma maligno epitelial.....41
Figura 24 - Mesotelioma maligno sarcomatoso, células em fuso.....42
Figura 25 - Conjunto papilar de células mesoteliais malignas, mesotelioma maligno de pleura.....43

Figura 26 - Conjuntos papilares de mesotelioma maligno de pericárdio (corte histológico) 43
Figura 27 - Célula mesotelial maligna multinucleada.....44
Figura 28 – Ciclo da carcinogênese do amianto. 46

LISTA DE TABELA

Tabela 1 – Diferenças entre Transudato e Exsudato.....25

LISTA DE QUADRO

Quadro 1 – Aspectos qualitativos das Efusões 24
Quadro 2 – Anticorpos utilizados para diferenciar MM Epitelióide de Adenocarcinoma.....52
Quadro 3 – Marcadores para diferenciar MM Sarcomatoide de Carcinoma escamoso e de células de transição. 54
Quadro 4 - Marcadores utilizados na imunomarcação para diferenciar carcinomas metastáticos dos mesoteliomas.....56

SUMÁRIO

INTRODUÇÂO.....12

1 LIQUIDOS CAVITÁRIOS E CÉLULAS MESOTELIAIS 15
1.1 EFUSÕES.....20

2 ASPECTOS CITOLÓGICOS ENCONTRADOS NAS EFUSÕES.....23
2.1 ASPECTOS CITOLÓGICOS CARACTERÍSTICOS DE MALIGNIDADE.....27

3 NEOPLASIAS DO MESOTÉLIO.....35
3.1 MESOTELIOMAS BENIGNOS.....36
3.2 MESOTELIOMAS MALIGNOS.....37
3.3 FATORES PREDISPONENTES.....42

4 O DIAGNOSTICO DO MESOTELIOMA MALIGNO 46
4.1 CITOLOGIA.....47
4.2 IMUNICITOQUIMICA.....49
4.3 CITOMETRIA DE FLUXO.....52
4.4 AgNOR.....54
4.5 HIBRIDIZAÇÃO FLUORESCENTE *IN SITU* – FISH.....55

CONCLUSÃO 58

REFERÊNCIAS.....60

INTRODUÇÃO

Há séculos a ciência trava uma luta com uma das doenças que mais matam no mundo, o Câncer. O primeiro registro da doença data de 4.000 a.C, (um maxilar com sinais de linfoma). Egípcios, persas e indianos, já faziam menções aos tumores malignos. Mas foi na Grécia com Hipócrates que primeiramente definiu a doença como um tumor duro que, muitas vezes, reaparecia depois de extirpado. (MUKHERJEE, 2012).

Nos séculos seguintes, com os avanços nos estudos nas áreas da anatomia, farmacêuticas e cirúrgicas, surgem os primeiros casos de sucesso em procedimentos de remoção de tumores em 1881 um tumor de estomago e em 1890 a mastectomia. No início do século XX e no seu decorrer temos as descobertas da radioterapia, através da descoberta do raio X, e quimioterapia, após a primeira guerra mundial e o início da segunda, descobriu-se que o gás mostarda utilizado como arma química, poderia ser utilizado no combate a leucemia (MUKHERJEE, 2012).

Muitos avanços ocorreram ao longo dos séculos, tanto no diagnóstico quanto ao tratamento e cura do Câncer, entretanto a cada ano nota-se um crescente aumento nos números de casos relatados, fazendo-se necessário a investigação de fatores externos, tais como, sociais, ambientais e econômicos. Com base no documento World cancer report 2014 da International Agency for Research on Cancer (Iarc), da Organização Mundial da Saúde (WHO), é inquestionável que o câncer é um problema de saúde pública, especialmente entre os países em desenvolvimento, onde é esperado que, nas próximas décadas, o impacto do câncer na população corresponda a 80% dos mais de 20 milhões de casos novos estimados para 2025.

No Brasil, estima-se cerca de 600 mil casos novos de câncer, para o biênio 2016-2017, onde, sem contar os casos de câncer de pele não melanoma, os tipos mais frequentes em homens serão próstata (28,6%), pulmão (8,1%), intestino (7,8%), estômago (6,0%) e cavidade oral (5,2%). Nas mulheres, os cânceres de mama (28,1%), intestino (8,6%), colo do útero (7,9%), pulmão (5,3%) e estômago (3,7%) figurarão entre os principais. (INCA)

No decorrer dos tempos os tipos de câncer identificados, tratados e curados aumentou vertiginosamente, já os tipos raros de câncer, com número de incidências mundiais baixos, trazem questionamentos para a ciências e se tornam alvo de

pesquisas, uma vez que os fatores de pré disposição, ambientais e fisiopatológicos para o acometimento destes cânceres, ainda não são completamente definidos e conhecidos, e os motivos podem ser devidos ao baixo número de casos diagnosticados, subnotificações bem como notificações errôneas, onde o tipo de câncer não foi corretamente descrito. Apesar da raridade de diagnósticos positivos para esses tipos de câncer, suas existências não podem ser ignoradas ou negligenciadas.

O Mesotelioma Maligno (MM) é um destes tipos raros de câncer, com incidência de um a dois casos para 1.000.000 de habitantes, (HIPEC, 2017), (INCA, 2017). O MM é uma neoplasia altamente agressiva, podendo ter origem ocupacional ou ambiental. Um dos fatores para seu desenvolvimento é a contaminação através da inalação das fibras de amianto (INCA, 2017). Acomete as células serosa da cavidade pleural, cavidade peritoneal e do pericárdio. Estes tipos de tumores são de mau prognóstico e têm um período de latência de cerca de 32 anos. (BARRERA; CHAVARRÍA; MORALES F, 2010).

A incidência de MM em nível global é variável. Nos Estados Unidos da América o número de mortes atingiu um pico de 3.060 casos em 2002, após o qual, houve um significativo declínio. Em contrapartida, no Reino Unido esta neoplasia é responsável por 2700-3000 mortes anualmente e estima-se que estes valores irão continuar a aumentar até 90.000 mortes em 2050 (BARRERA; CHAVARRÍA; MORALES F, 2010). As taxas de mortalidade de acordo com o banco de dados da OMS indicam que Reino Unido tem a maior incidência (31,1 óbitos / milhão / ano), mas em países como a Croácia (IM = 8,8), Japão (IM = 4,8) Argentina (IM = 2,5), Hungria (IM = 2,5) e Brasil (IM = 0,5) (BARRERA; CHAVARRÍA; MORALES F, 2010). A União Europeia e as principais economias do mundo proíbem o uso de todos os tipos de amianto desde as últimas décadas do século XX. No Brasil, estados como São Paulo, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Pernambuco e diversos municípios já proíbem a produção e utilização do amianto. O Brasil está entre os 5 grandes produtores, consumidor e exportador de amianto mundial, e apesar da proibição do seu uso, pode-se estar vislumbrando o início da curva de crescimento de caso de MM devido ao tempo excessivo de exposição ao amianto (INCA, 2017).

O trabalho desenvolvido seguiu os preceitos de uma revisão de literatura, onde foram utilizados como fonte de pesquisa os sites: Scielo, Pubmed, Google acadêmico.

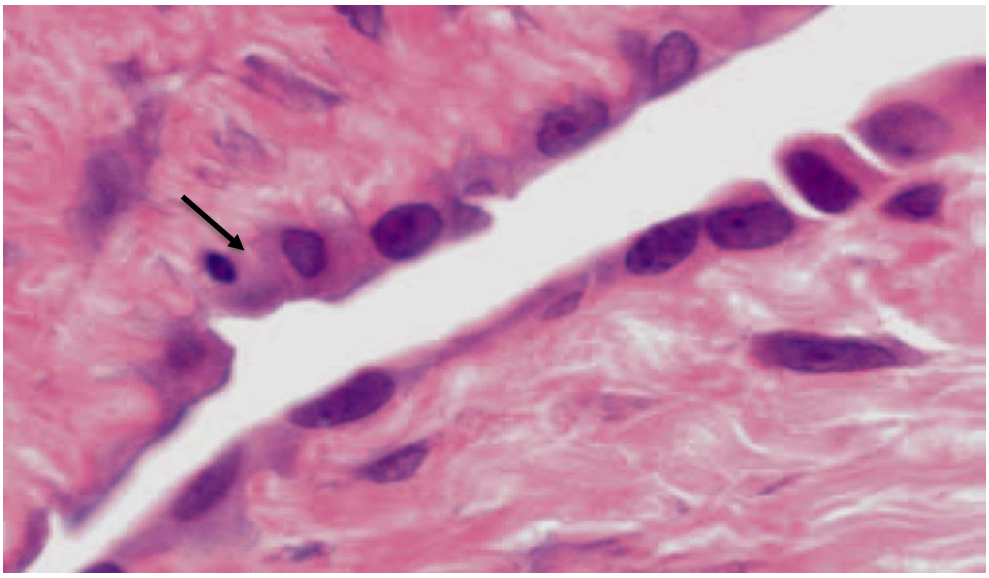
Fontes de referências em livros na área de diagnóstico citológico e anatomia.

Assim este estudo tem o objetivo de descrever o diagnóstico do mesotelioma maligno, conhecendo os líquidos cavitários e células mesoteliais, relatando as principais alterações citológicas encontradas nos líquidos cavitários, citando os principais métodos para diagnóstico.

1 LÍQUIDOS CAVITÁRIOS E CÉLULAS MESOTELIAIS

Existem três cavidades no corpo humano: pleural, peritoneal e pericárdica. Estas cavidades são forradas por uma membrana chamada Mesotélio, composto por uma monocamada plana de células mesoteliais, uma fina camada de tecido conjuntivo fibroso, que inclui vasos linfáticos e capilares (FIGURA 1). O Mesotélio possui duas camadas, a parietal que cobre a parede da cavidade e a visceral que fica em contato com os órgãos (SHAMBAYATI, 2011). A presença de conteúdo líquido em cavidades é um fenômeno fisiológico que permite lubrificação das superfícies orgânicas submetidas a movimentação constantes (GAMBONI; MIZIARA, 2013). Este liquido é produzido pelo Mesotélio e auxilia os batimentos cardíacos, movimentos peristálticos do intestino, expansão e contração pulmonar, também está presente nos órgãos reprodutores feminino e masculino (SHAMBAYATI, 2011).

Figura 1- Corte histológico do Mesotélio, célula mesotelial (flecha).



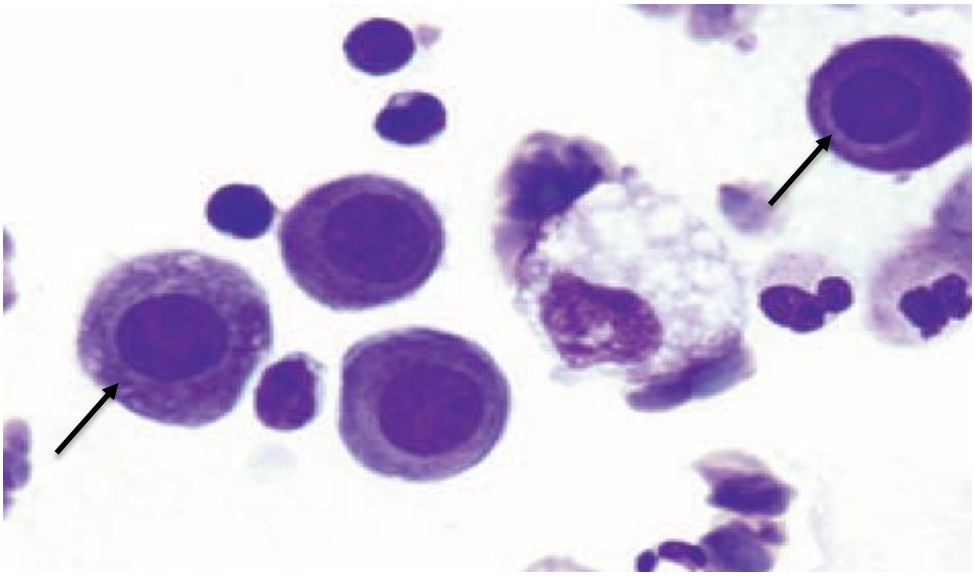
Fonte: Gray; Kocjan (2010, p. 116).

As células mesoteliais tem origem embrionária do mesoderma, proveniente da cavidade celômica e o termo mesotélio deriva da combinação de fenótipos de origem mesodérmica e epiteliais. Apresentam características escamosas como tonofibrilas e desmossomos, a superfície lumiar contem microvilosidades que aumentam a superfície de absorção facilitando as trocas de líquidos com as cavidades, são produtoras de mucina mesenquimais, ricas em ácido hialurônico, que atuam como

lubrificante nos movimentos das camadas parietal e visceral (GAMBONI; MIZIARA, 2013).

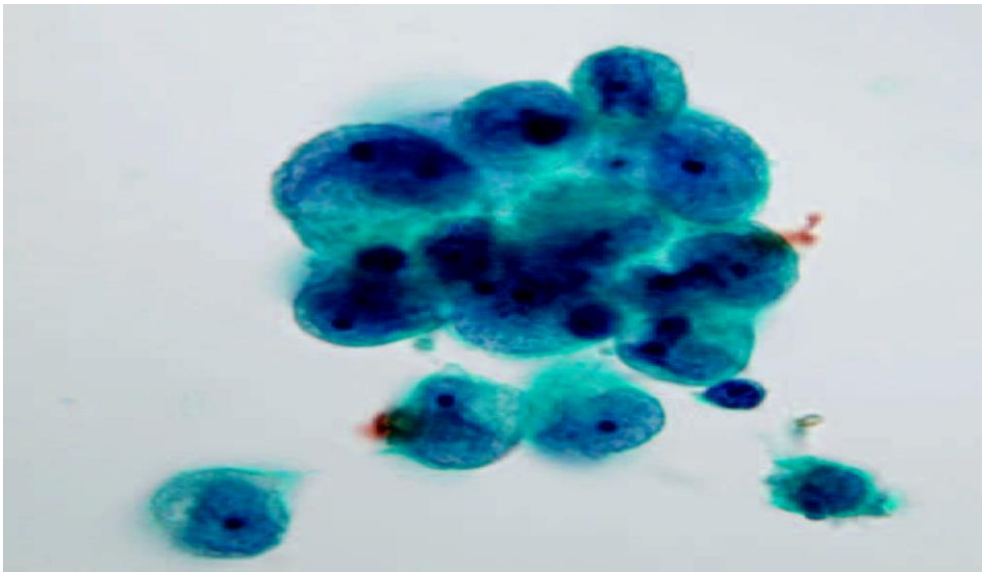
Quando as células descamam nos líquidos cavitários, de forma isolada (FIGURA 2) ou pequenos grupos como podemos ver na Figura 3, assumem forma arredondada, com núcleos redondos centrais ou excêntricos, ocasionais binucleações ou multinucleações, pequenos nucléolos, cromatina granular, citoplasma denso e borda exterior transparente. Podem apresentar densidades diferentes nas partes centrais e periféricas e, por vezes, coloração eosinofílica e espaços estreitos entre as células, denominados de “janelas” (FIGURA 4) (CIBAS; DUCATMAN,2014).

Figura 2 - Células mesoteliais isoladas (flechas).



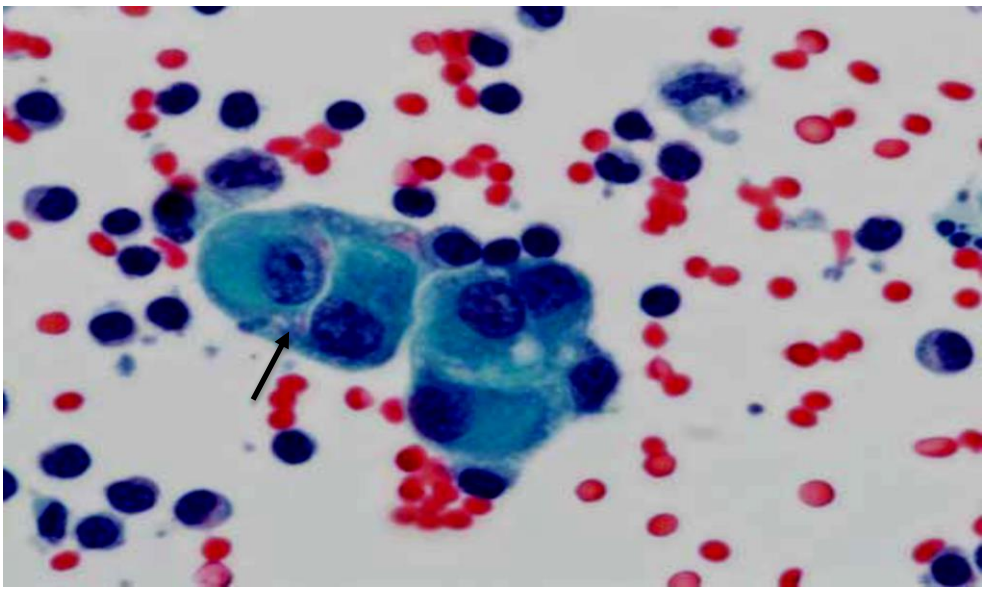
Fonte: Gray; Kocjan (2010, p. 117).

Figura 3 – Grupo de células mesoteliais.



Fonte: Gray; Kocjan (2010, p. 117).

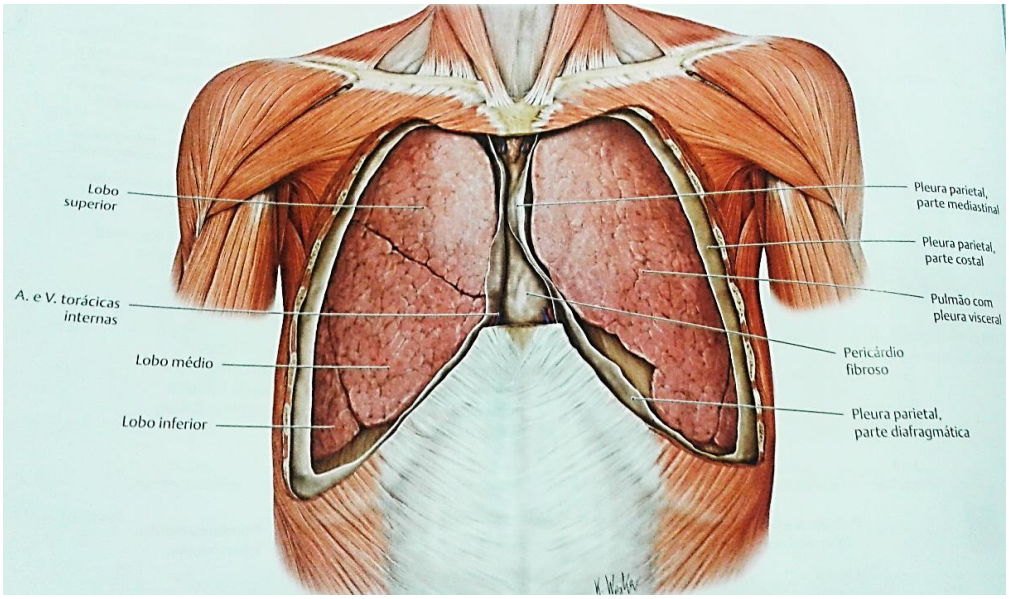
Figura 4 - Células mesoteliais apresentando “janelas” (flecha).



Fonte: Shambayati, (2011, p.218).

Os pulmões estão envoltos por um saco seroso completamente fechado, a pleura, que apresenta dois folhetos: a pleura pulmonar, que reveste a superfície do pulmão e mantem continuidade com a pleura parietal que recobre a face interna da parede torácica. Entre as pleuras existe um espaço virtual, a cavidade pleural, que contém uma película de liquido seroso que permite o deslizamento dos folhetos durante os movimentos respiratórios (GILROY; MACPHERSON; ROSS, 2015).

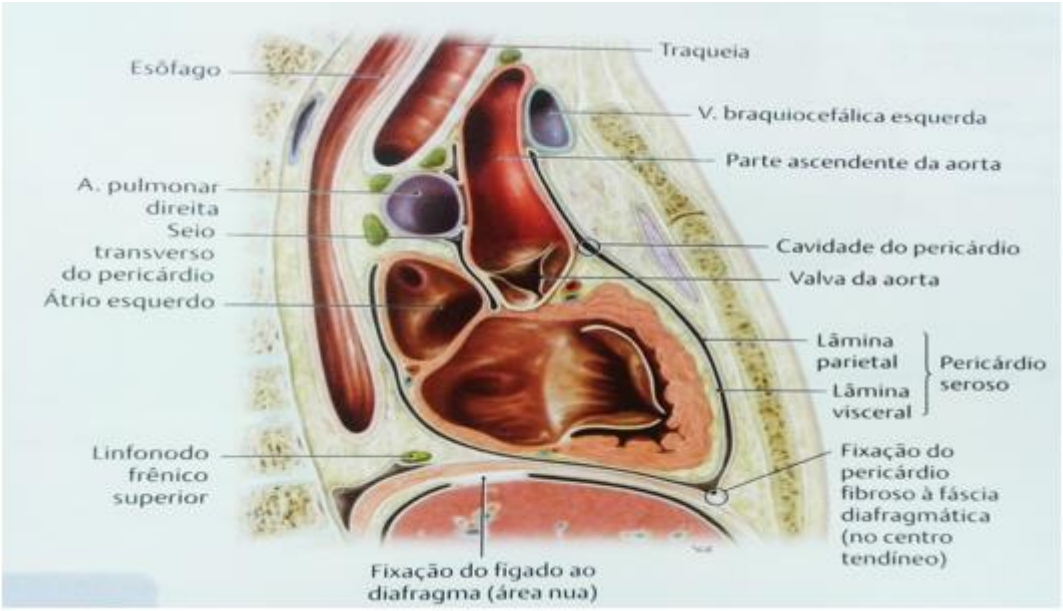
Figura 5 – Pleura e suas divisões.



Fonte: De Robertis et al, 2014

O pericárdio é um saco fibro-seroso que envolve o coração, separando-o dos outros órgãos do mediastino e limitando sua expansão durante a diástole ventricular (GILROY; MACPHERSON; ROSS, 2015). A lâmina parietal do pericárdio seroso reveste a superfície interna do pericárdio fibroso e a lâmina visceral adere ao coração. A cavidade do pericárdio, o espaço entre as laminas parietal e visceral do pericárdio seroso em torno do coração, é preenchida por uma fina camada de liquido seroso que possibilita o movimento cardíaco (De ROBERTIS; HIB, 2014).

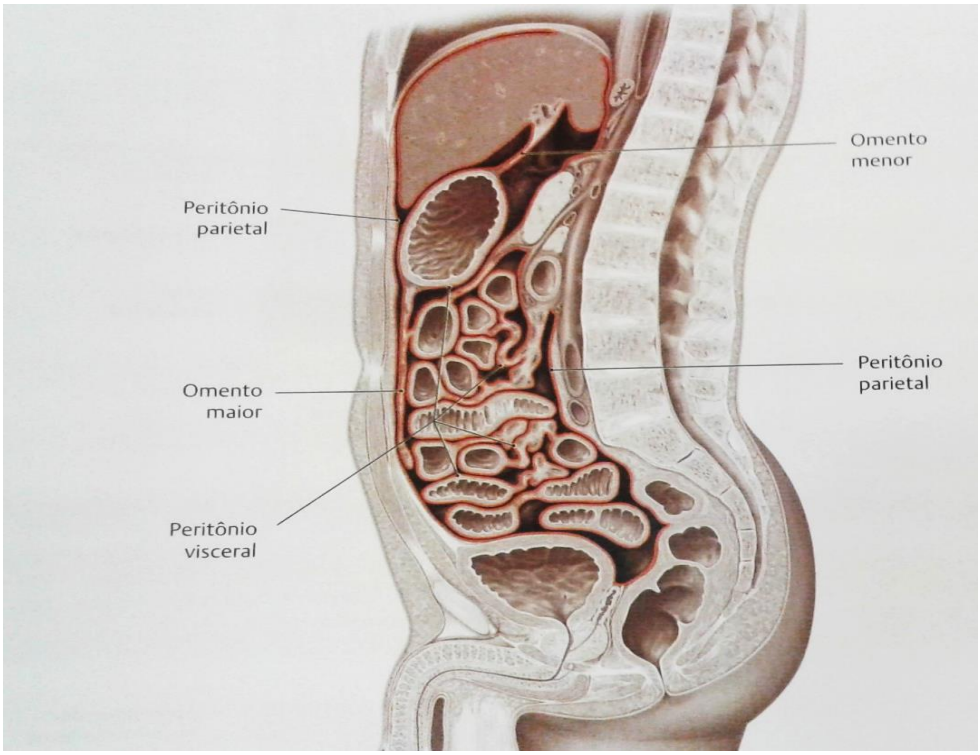
Figura 6 - Pericárdio, cavidade do pericárdio e seio transverso do pericárdio.



Fonte: De Robertis et al, 2014

Os órgãos abdominais são revestidos por uma membrana serosa, peritônio, que apresenta duas laminas: peritônio parietal reveste as paredes da cavidade abdominal e o peritônio visceral envolve as vísceras. As lâminas são contínuas, e entre elas existe uma cavidade preenchida por um liquido seroso (cavidade peritoneal). Alguns órgãos são retroperitoneais, ou seja, localizados posterior a lamina parietal. Outros destacam-se da parede peritoneal, e este, os acompanha formando uma lamina peritoneal, que se denomina meso. Essa lâmina recebe também a denominação de omento, quando localizada entre dois órgãos (GILROY; MACPHERSON; ROSS, 2015).

Figura 7 – Cavidade peritoneal.



Fonte: De Robertis et al, 2014

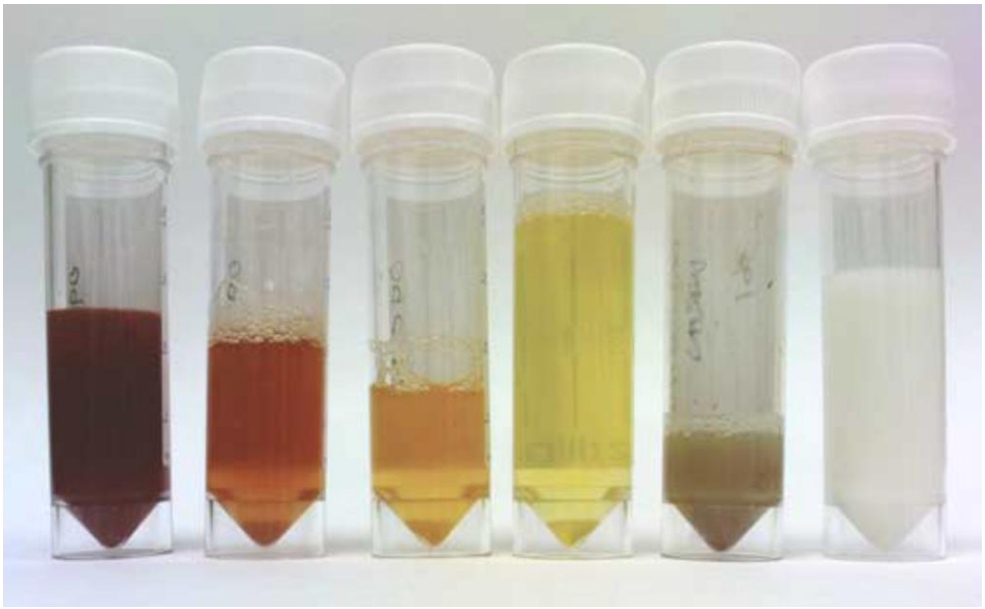
1.1 EFUSÕES

A quantidade de liquido presente nas cavidades é controlado pelo equilíbrio estabelecido entre forças hemodinâmicas arteriais e venosas e o ambiente conjuntivo circunjacente, quando o fluxo continuo e regular do plasma sanguíneo para o estroma e a reabsorção do mesmo pelos vasos linfáticos. Quando condições patológicas alteram esse sistema balanceado, pode ocorrer o acumulo do líquido, ocasionando o derrame cavitário ou efusão (GAMBONI; MIZIARA, 2013). Algumas condições que podem ocasionar um derrame: insuficiência cardíaca, renal e hepática. Dano local a serosas e vasos, neoplasias, infecções, traumatismos, radioterapia, quimioterapia. Além de aumento na pressão negativa da cavidade pleural (GAMBONI; MIZIARA, 2013).

O derrame de fontes distintas, transudato, é decorrente do aumento exclusivo do fluxo de plasma do espaço intravascular para o estroma, não existe lesão do endotélio capilar, mantendo assim sua função de membrana semipermeável retendo os coloides. Alterações hidrostáticas e osmóticas levam a aumento da permeação vascular com saída exclusiva de liquido. Já o exsudato é decorrente do

extravasamento de liquido, componentes coloides e celulares devido a uma lesão no endotélio, a maioria das efusões malignas são exsudatos na Figura 8 podemos observar a diferença na coloração das efusões, no Quadro 1 os aspectos qualitativos para cada tipo de efusão e na Tabela 1 são apresentadas características para distinção entre transudato e exsudato (GAMBONI; MIZIARA, 2013).

Figura 8 – Diferentes colorações das efusões



Fonte: Shambayati, (2011, p. 214).

Quadro 1 – Aspectos qualitativos das Efusões

Cor	Efusões	Características
Variando do laranja ao vermelho escuro	Derrame hemorrágico.	Aproximadamente metade (46%) das efusões manchadas de sangue são positivas para as células malignas.
Marrom claro	Hemorragia crônica	Efusões com muitos hemosiderófagos
Chocolate castanho	Com melanina	Efusões com numerosas células de melanoma
Castanho-laranja ou mesmo esverdeado	Efusões em casos com Icterícia ou associado a vazamento de bile na cavidade peritoneal	Após centrifugação, a descoloração persiste no sobrenadante.
Os sedimentos grossos de branco-acinzentado a amarelo se assentam espontaneamente na parte inferior das efusões hipercelulares	Efusão purulenta celular	Numerosos neutrófilos e alto conteúdo bacteriano. O sedimento esbranquiçado e floculento intenso sugere Pleurite ou Pericardite. Esferoides grosseiramente visíveis, elipsoides, de até 2 mm de tamanho semelhante a pequenas sementes de gergelim representam esferas de proliferação e grupos de células cancerosas.
Amarelas com brilho	Cristais de colesterol	Eles são dissolvidos e não são vistos facilmente em preparações de Papanicolau.
Brancos leitosos	Efusões quilosos	Camada de lipídio emulsionado, e são devido a ruptura ou bloqueio dos vasos linfáticos
Efusões viscosas	Podem estar relacionadas com Mesotelioma de tipo epitelial	Associada a uma elevada concentração de ácido hialurônico

Fonte: Da autora, adaptado de Gray e Kocjan (2010).

Tabela – Diferenças entre Transudato e Exsudato

	Transudato	Exsudato
Aparência	**aquoso, claro**	**variável, turvo**
Densidade	**< 1.015**	**> 1.015**
Proteina	**<3 (<2 p/ ascite)**	**>3 (>2 p/ acsite)**
Coágulo	**não**	**sim**
Deshidrogenase láctea	**<200 U /L ou <0.6**	**>200 U/L ou >0.6**
Células	**poucas; geralmente benignas**	**muitas; podendo ser neoplásicas**
Causa	**1. Insuficiência cardíaca congestiva 2. Atelectasia pulmonar 3. Síndrome nefrótica 4. Derrame pós-parto 5. Diálise peritoneal 6. Obstrução da veia cava superior 7. Hipertensão portal secundária a Cirrose, Esquistossomose e doença difusa. Neoplasia metastática no fígado 8. Cirurgia abdominal pós-operatória 9. Síndrome de Meig 10. Doenças renais crónicas com deficiência função renal 11. Hipertensão da veia cava inferior 12. Transtorno de coagulação e terapia anticoagulante**	**1. Neoplasias malignas 2. Infecções, incluindo pneumonia bacteriana, pulmão abscesso, tuberculose, infecções fúngicas, infecções e doenças parasitárias 3. Doenças vasculares do colagénio incluindo doenças sistémicas Lúpus eritematoso e pleurite reumatóide 4. Embolia pulmonar / infarto 5. Algumas doenças abdominais, incluindo Pancreatite, Abcesso subfrênico, esôfago Ruptura e abscesso hepático 6. Radioterapia 7. Peritonite biliar 8. Trauma 9. Infarto do miocárdio e pós-miocárdio Síndrome do infarto 10. Dissecção aórtica 11. Ruptura cardíaca**

Fonte: Adaptado pelo autor com base em Gray e Kocjan (2010, p.129).

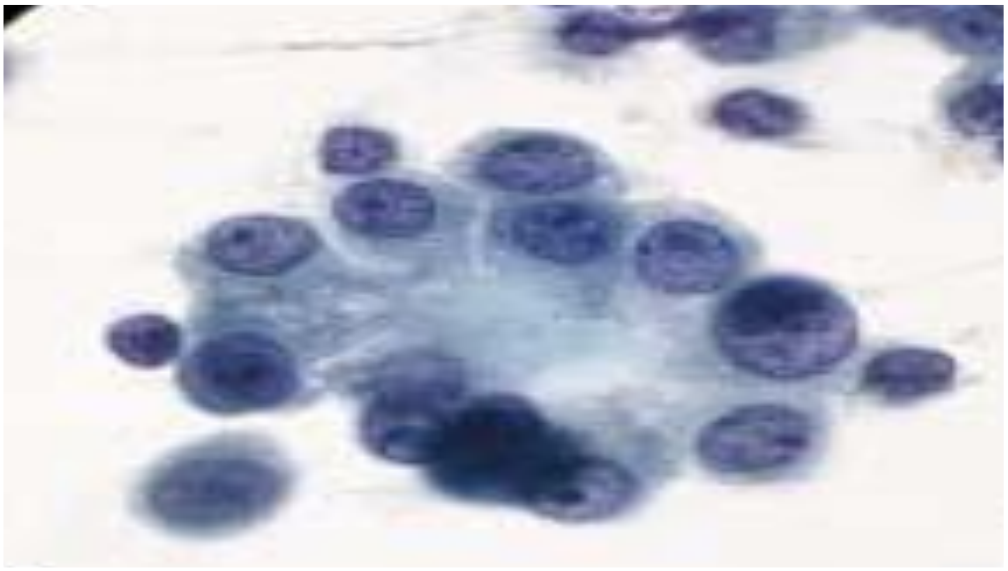
2 ASPECTOS CITOLÓGICOS ENCONTRADOS NAS EFUSÕES

O Mesotélio pode sofrer rações de hiperplasia e hipertrofia conforme os danos causados ao epitélio. Podendo, estes danos, serem provocados por agentes químicos, físicos, biológicos inflamatórios agudos ou crônicos, ou até mesmo processos neoplásicos na proximidade do epitélio (GRAY; KOCJAN, 2010). Quando isso ocorre o epitélio torna-se reativo e as efusões consideradas benignas podem ocorrer (GAMBONI; MIZIARA, 2013).

As células mesoteliais reacionais encontradas nas efusões consideradas benignas, respondendo aos processos de agressão sofrem proliferação. O epitélio torna-se estratificado e com esse aumento na quantidade celular, estas podem descamar em pequenos grupos papilares mimetizando adenocarcinomas (FIGURA 9) (GRAY; KOCJAN, 2010)

.

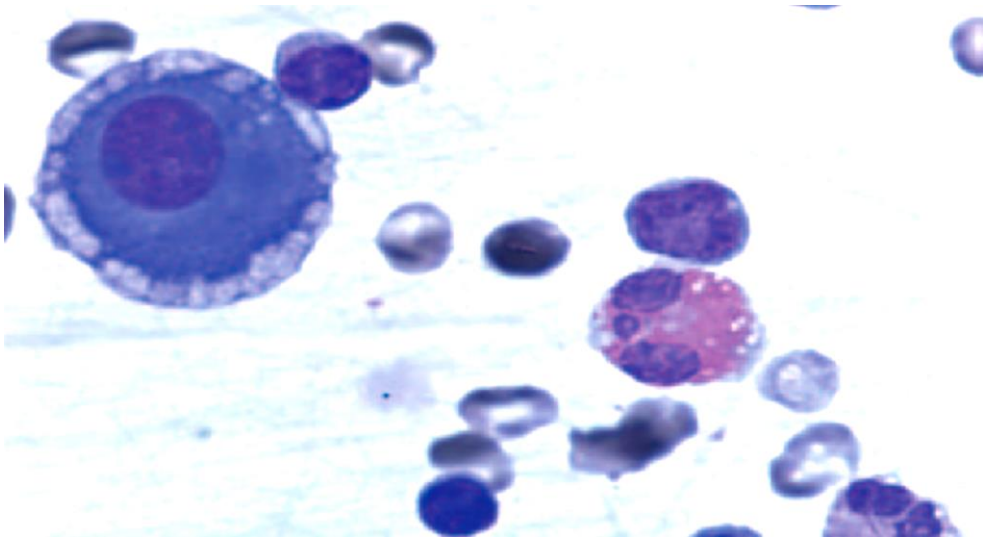
Figura 9 – Células mesoteliais mimetizando adenocarcinomas.



Fonte: Gray, Kocjan, (2010, p. 117).

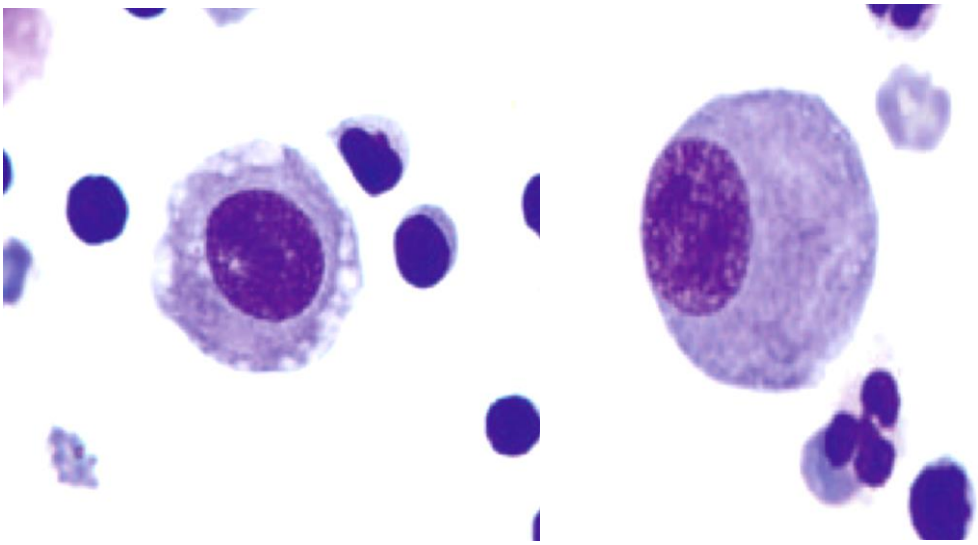
Estas células reacionais podem apresentar cariomegalia, hipercromasia, cromatina irregular, multinucleação, nucléolos ou múltiplos nucléolos, além de, citoplasma denso basofílico, que pode exibir vacuolização (FIGURA 10), na Figura 11 vemos a diferença entre uma célula mesotelial reacional com vacúolos e uma célula de adenocarcinoma que apresenta um núcleo excêntrico que toca a borda da membrana celular e um citoplasma sem diferença de coloração.

Figura 10 – Célula mesotelial reacional.



Fonte: Gray, Kocjan, (2010, p. 119).

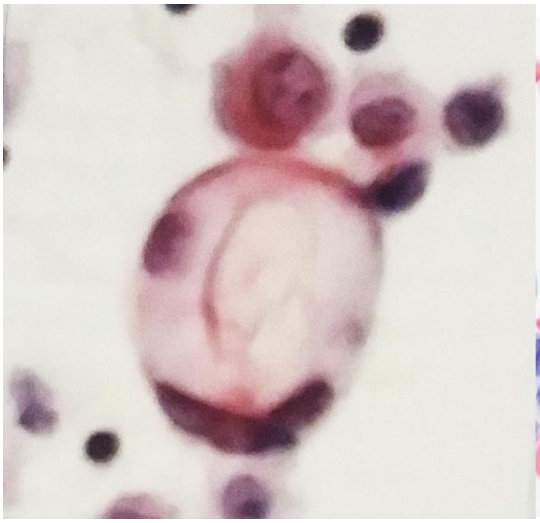
Figura 11 - Célula mesotelial vacuolizada e célula de adenocarcinoma.



Fonte: Gray, Kocjan, (2010, p. 118).

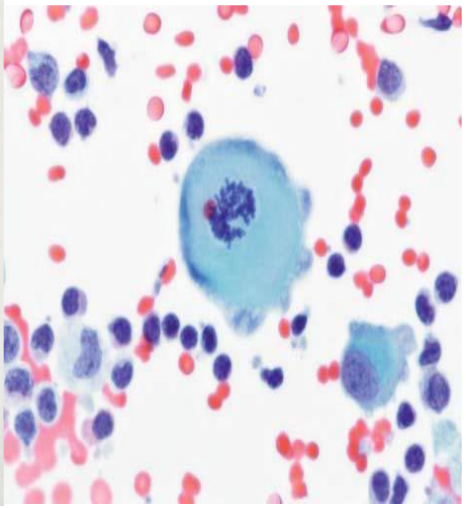
Outras características das células mesoteliais são formação de “anel de sinete” (FIGURA 12), formação em fila indiana, formação em roseta e figuras de mitose (FIGURA 13). Tais características podem levar os profissionais citologistas ao erro, pela semelhança das formações com células neoplásicas maligna (GAMBONI; MIZIARA, 2013).

Figura 12 – Célula “anel de sinete”.



Fonte: Gamboni, Miziara, (2013, p.202).

Figura 13 – Célula apresentando mitose.



Fonte: Shambayati, (2011, p.218).

Além das células mesoteliais podemos encontrar células leucocitárias nas efusões, em sua maioria, provenientes de processos benignos, e também podem

estar presentes devido ao processo de coleta do material. Os Macrófagos são células leucocitárias fagocíticas, presentes em quase todas as efusões serosas, são células grandes de aparência variada e podem ter vacúolos em seu citoplasma, este pode ser irregular e sua coloração normalmente difere das células mesoteliais. O núcleo tem forma variada, geralmente arredondado e alongado (SHAMBAYATI, 2011).

Os Histiócitos podem ser encontrados nas efusões de forma isolada e dispersa, com contornos citoplasmáticos mal definidos e vacuolizados e levemente basofílico. Os núcleos geralmente excêntricos, muitas vezes em formado de rim, cromatina regular a margem nuclear, quando na periferia da célula, pode ser estreitamente próxima à membrana (GRAY, KOCJAN, 2010). A presença de neutrófilos nas efusões pode indicar infecções, abscessos, empiema, infarto (embolia), doença intestinal, tuberculose recente ou tumor (GAMBONI; MIZIARA, 2013).

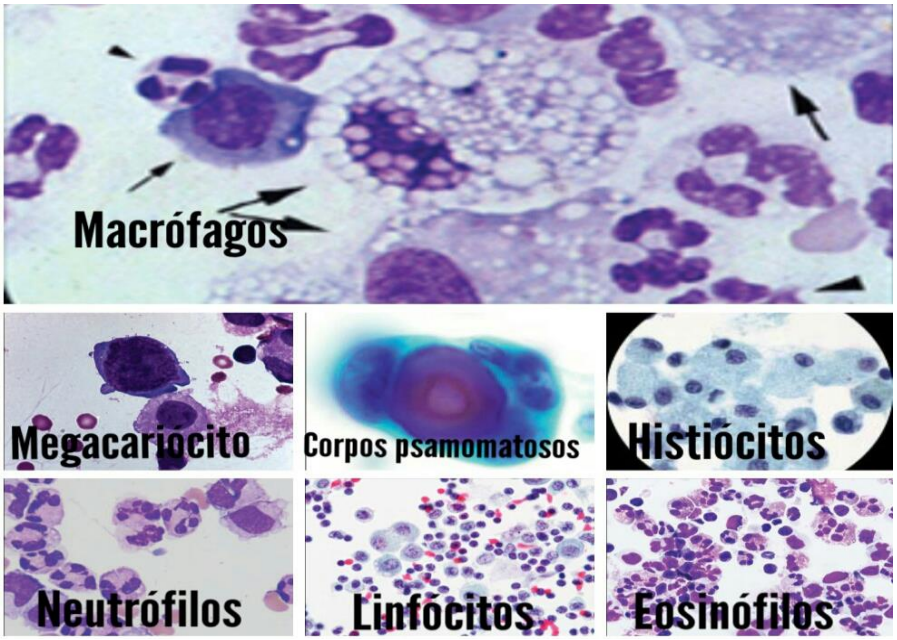
Segundo Gray et al. 2010, outra célula que pode ser observada nas efusões é o Megacariócito, este achado é muito raro e pode indicar disturbio mieloproliferativo ou hemopoiese extramedular, são células grandes com variável quantidade de citoplasmae núcleos multilobados. Sua presença em derrames pleurais pode ser secundário a hemorragia microvascular pulmonar.

Linfócitos são células pequenas, aparecem de forma isolada, núcleo redondos, com cromatina densa e eventualmente grumoso. Em casos de insuficiência cardíaca congestiva, pleurite idiopática, câncer / linfoma, doença reumatoide, cirrose, pericardite congestiva, nefrose, hepatopia, tuberculose, sarcoidose e lúpus eritematoso sistêmico. Quando os linfócitos se apresentam em um número muito elevado pode indicar uma doença linfoproliferativa.

É possível encontrar Eosinófilos nas efusões, este achado pode indicar câncer metastático, pneumonia, pneumotórax, embolismo pulmonar, reação a drogas, parasitoses, hemotórax ou trauma torácico (GAMBONI; MIZIARA, 2013).

Corpos psamomatosos são esferas de calcificação, derivadas de eosinófilos degenerados, cristais de colesterol em efusões de longa duração, cristais de hematoidina e hemoglobina. Podem ser encontrados em efusões benigans ou malignas, quando na pleura e pericardio são associados a neoplasias malignas, em efusões peritoniais pode ser associados a processos benignos como cistoadenoma ovariano, cistoadenóide, endometriose e hiperplasia mesotelial pleural. Todas essas células estão representadas na Figura 14 (GAMBONI; MIZIARA, 2013).

Figura 14 – Células que podem ser encontradas nas efusões.



Fonte: Adaptado pelo autor com base em Gray, Kocjan, 2010 e Shambayati, 2011.

2.1 ASPECTOS CITOLÓGICOS CARACTERÍSTICOS DE MALIGNIDADE

As células malignas que podem ser encontradas nas efusões podem ser derivadas do Mesotelioma Maligno (MM), que falaremos mais a frente, ou de metástases malignas. A maioria dos tumores pode se espalhar para as cavidades serosas, embora alguns tumores tenham mais tendência a isso do que outros, a frequência relativa de diferentes tumores difere de acordo com idade, gênero e cavidade serosa (SHAMBAYATI, 2011). Os tumores malignos são uma das principais causas da formação de exsudato (CIBAS; DUCATMAN,2014) e a detecção de células malignas nas cavidades serosas é a primeira manifestação de metástase maligna (SHAMBAYATI, 2011).

Os tumores que, na maioria dos casos, geram metástases nos líquidos cavitários em homens são carcinoma de pulmão, do trato gastrointestinal e pancreático. Nas mulheres o carcinoma de mama, seguido por carcinoma de pulmão e ovário (GRAY, KOCJAN, 2010). Já em crianças a causa mais comum de lesão pleural ou peritoneal maligna nas efusões é linfoma não-Hodgkin (CIBAS; DUCATMAN,2014).

Segundo Shambayati 2011, para um diagnóstico diferencial das células presentes nas efusões é necessária uma avaliação da segunda população de células,

onde em condições normais ou processos reacionais benignos, os achados citológicos predominantes norteiam entre células mesoteliais e leucocitárias, quando a segunda população se apresenta de forma mais abundante os critérios de avaliação utilizados, além do maior número, segundo Bibbo et al, 2015, são hipercromasia, grupos com agregamento celular, coesos e grandes. Koos 2006, destaca também como critérios para diagnóstico diferencial que, a configuração das células pode variar de esférica para fusiforme, citoplasma pode apresentar queratinização excessiva, vacúolos contendo muco e inclusões intracitoplasmáticas, alta relação núcleo: citoplasma, nucléolos, que podem ser irregulares, grandes, únicos ou múltiplos, além de figuras de mitose.

Outros achados podem auxiliar na identificação do sitio primário do tumor, como por exemplo, a formação de ácinos ou glândulas, são mais fáceis de se identificar se vistos em *cell blocks,* podem ser oriundos de adenocarcinomas de mama, pulmão, colón, estomago, ovário, endométrio ou até mesmo o mesotelioma do tipo epitelial.

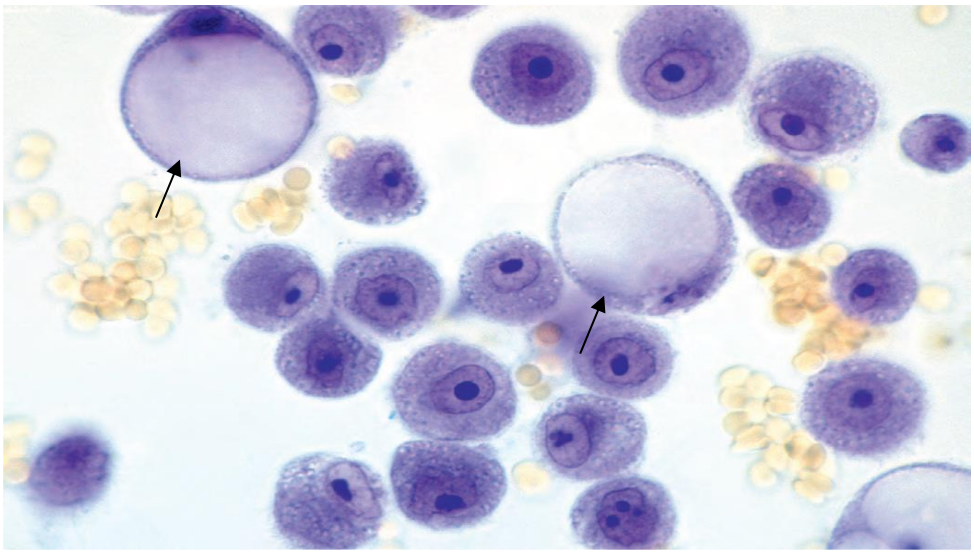
As formações papilares podem ser vistas em câncer do ovário, tireoide e pulmão (SHIDHAM; FALZON, 2010) e estas formações papilares podem vir acompanhadas de corpos de psammoma (COSTA; De AGUSTIN, 2003). Assim como, células em fila indiana podem indicar carcinoma mamário. População de células não coesivas e solitárias pode sugerir uma malignidade de tecido epitelial e grupo de células altas e colunares podem sugerir metástase do cólon (SHIDHAM; FALZON, 2010).

A seguir serão descritos algumas das principais neoplasias malignas, que frequentemente geram metástases nos líquidos cavitários e podem dificultar o diagnóstico da neoplasia maligna dos líquidos cavitários o Mesotelioma.

Adenocarcinoma: as células geralmente formam grupos coesivos, suavemente contornados, podem assumir a forma de grupos papilares ou acinares, sendo o arranjo em camadas esféricas o mais comum, as vezes associados a corpos psomamomas. Os núcleos podem apresentar contornos irregulares, ser excêntricos, pleomórficos, hipercromáticos e apresentar grandes nucléolos (BIBBO; WILBUR, 2015). O citoplasma pode ser vacuolizado, estes segundo Shambayati 2011, geralmente são degenerativos, entretanto podem ser devido a produção de mucinas pelo tumor. Os adenocarcinomas podem apresentar suas células em foram de “anel-de-sinete”, onde

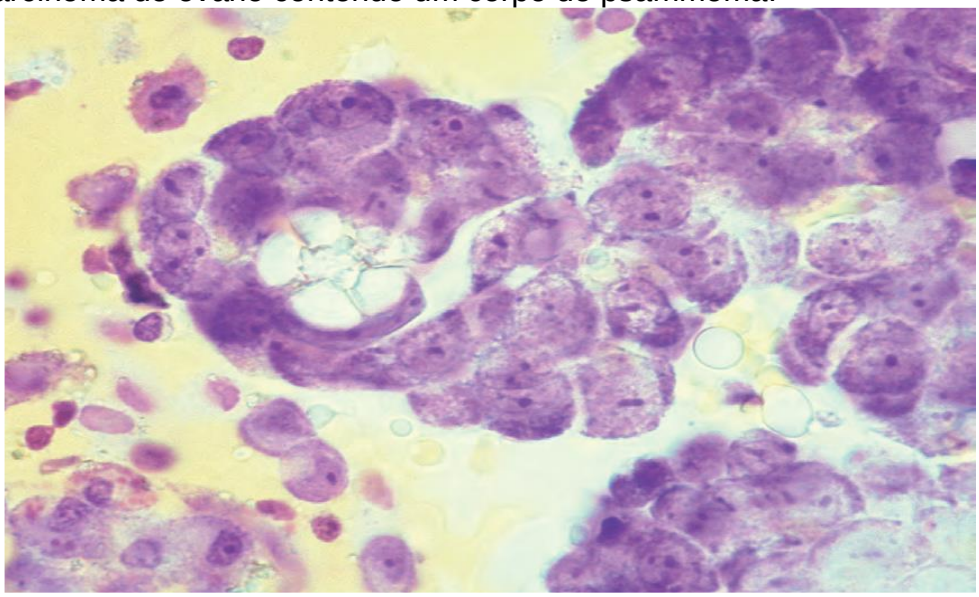
grandes vacúolos empurram o núcleo para a periferia da célula. Nas Figuras 15 e 16 observa se algumas formas citológicas que um adenocarcinoma pode apresentar em uma efusão maligna.

Figura 15 - Derrame pleural, células de adenocarcinoma de mama em “anel-de-sinete” (flechas).



Fonte: Bibbo, Wilbur (2015, p. 406)

Figura 16 - Derrame peritoneal contendo um fragmento papilar de adenocarcinoma de ovário contendo um corpo de psammoma.

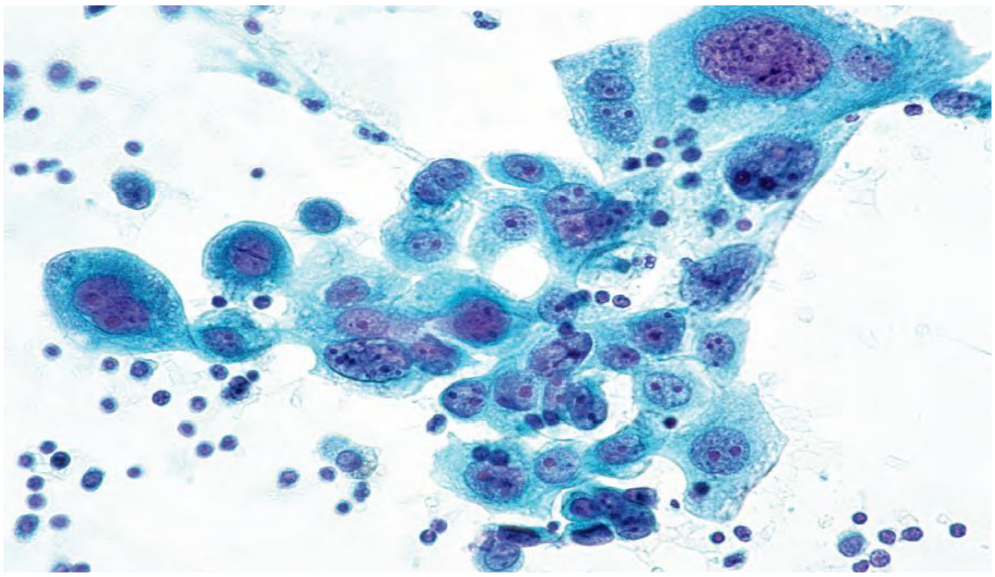


Fonte: Bibbo, Wilbur (2015, p. 407).

Carcinoma escamoso: raramente provocam metástase para a pleura, pericárdio ou peritônio, e os que fazem são comumente carcinomas do pulmão, da

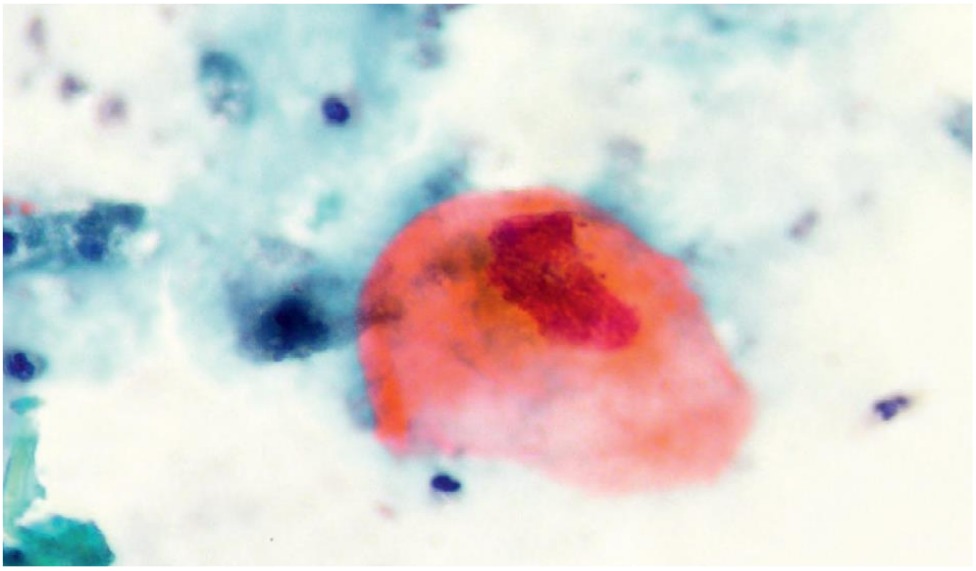
laringe e do trato genital. Podem formar grupos coesos ou descamar de forma isolada (FIGURA 17), a aparência citológica difere dependendo do grau de queratinização do tumor, que pode ocasionalmente estar ausente (SHAMBAYATI, 2011). Segundo Cibas et al. 2014, o citoplasma das células de carcinoma escamoso geralmente é denso, ocasionalmente orangeofílicos (FIGURA 18). Células em forma de girino ou fuso são incomuns, os núcleos podem ser alargados, hipercromáticos e grosseiros, por vezes picnóticos, apresentar cariorrex, nucléolos proeminentes também podem ser identificados, bem como escamas anucleadas e vacuolização citoplasmática que não pode ser interpretada como indicativo de diferenciação glandular (CIBAS; DUCATMAN,2014).

Figura 17 - Derrame pleural retratando um fragmento de não queratinização de carcinoma de células escamosas de brônquios.



Fonte: Bibbo, Wilbur (2015, p. 431).

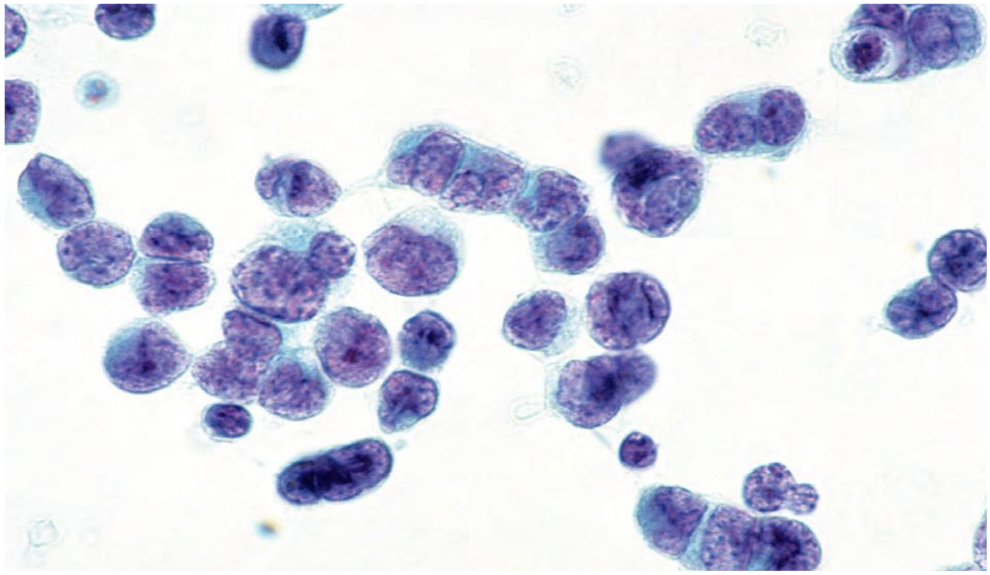
Figura 18 - Célula queratinizante metastática de carcinoma de célula escamosas.



Fonte: Bibbo, Wilbur (2015, p. 431).

Carcinoma de células pequenas (CCP): podem ser encontrados nas cavidades pleurais, pericárdicas e mais raramente nas cavidades peritoneais (SHAMBAYATI, 2011), apesar de sua predileção por metástases, é responsável por apenas 3% dos casos de derrame pleural (CIBAS; DUCATMAN,2014). Além do pulmão o CCP (FIGURA 19) pode ser originário da bexiga, cérvice ou esôfago (SHAMBAYATI, 2011). Nas efusões as células de CCP são pequenas, com um diâmetro aproximadamente duas a três vezes maior do que linfócitos, podem ser vistas de forma isoladas ou pequenos grupos coesos, auxiliando no diagnostico diferencial, uma vez que células linfoblásticas não formam agrupamentos. Bibbo et al. 2015, afirma que uma das características destas células agrupadas, se moldam umas às outras, dando um aspecto de mosaico devido à pouca quantidade de citoplasma, ou também em forma de pequenas correntes. Os núcleos são escuros, textura finamente granular da cromatina e hipercromasia, nucléolos discretos, quando presentes, e podem apresentar cariorrex (CIBAS; DUCATMAN,2014).

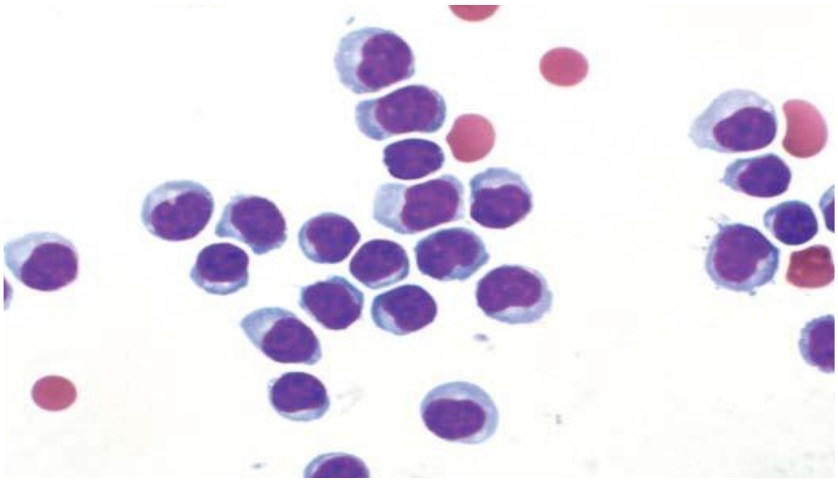
Figura 19 - Carcinoma de células pequenas apresentando amoldamento, alterações nucleares e variação de tamanho.



Fonte: Bibbo, Wilbur (2015, p. 433).

Linfoma: o linfoma é o câncer das células linfoides, originadas principalmente em linfonodos, divididos em linfoma de Hodgkin e não-Hodgkin (SHAMBAYATI, 2011) a descoberta desta malignidade nos derrames cavitários sem uma clínica pregressa do paciente é raro, exceto em casos com apresentação inicial de efusão de doença sistêmica ou em casos de linfoma primário de efusão (GRAY, KOCJAN, 2010). De um modo geral os achados citológicos de linfoma em uma efusão maligna são células isoladas e pleomorfismo nuclear, de acordo com Shambayati 2011, os linfomas de células grandes apresentam uma alta relação núcleo/citoplasma, seu núcleo pode ser redondo ou irregular, cromatina grosseira e presença de nucléolos, citoplasma frequentemente abundante, pálido e vacuolizado. Já os linfomas de células pequenas (FIGURA 20) são mais difíceis de distinguir devido as semelhanças com linfócitos maduros normais, sendo necessário o uso de outras técnicas para concluir o diagnóstico. No linfoma de Hodgkin a marca citológica característica é a presença de células Reed-Sternberg uma célula grande, multinucleada com grandes nucléolos, outros aspectos que podem ser encontrados são, variantes mononucleares, população mista de linfócitos, células plasmáticas, eosinófilos, neutrófilos e histiócitos (CIBAS; DUCATMAN,2014).

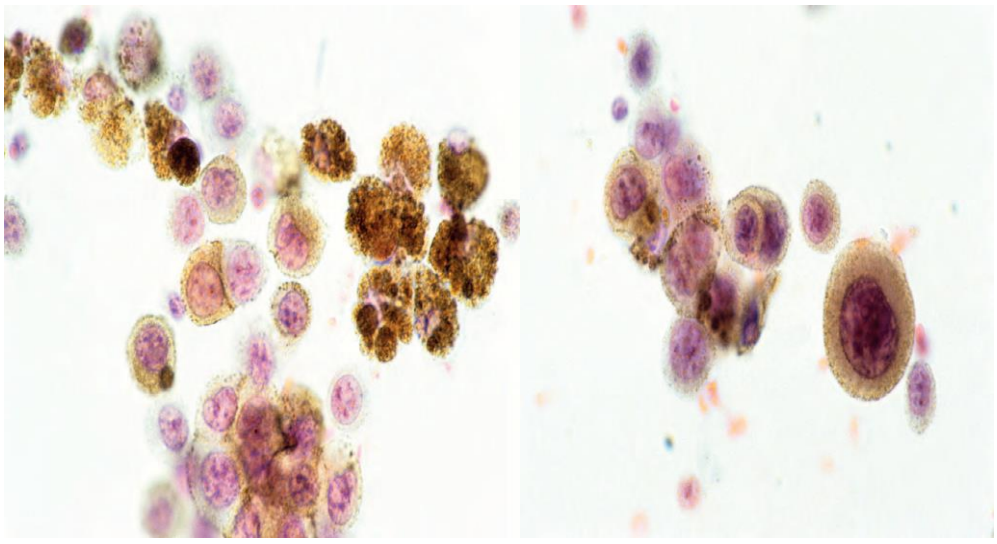
Figura 20 - Linfoma maligno tipo de célula pequena, linfoma não-Hodgkin.



Fonte: Shambayati, (2011, p. 232).

Melanoma: é uma neoplasia maligna que se desenvolve dos melanócitos, geralmente de origem cutânea, entretanto outros lugares podem originar melanoma, como olhos, vagina e órgãos urogenitais. Dificilmente provocam uma efusão maligna, mas a sua presença em uma efusão pode ser o primeiro indicativo de metástase (BIBBO; WILBUR, 2015). As células apresentam-se de forma isolada, raros grupamentos, são redondas e citoplasma pode ser levemente ou fortemente pigmentado por causa da melanina na Figura 21 pode se observar as células pigmentadas, consequentemente as efusões possuem coloração cor de palha, castanho claro ou castanho escuro, seus núcleos podem apresentar nucléolo (CIBAS; DUCATMAN,2014).

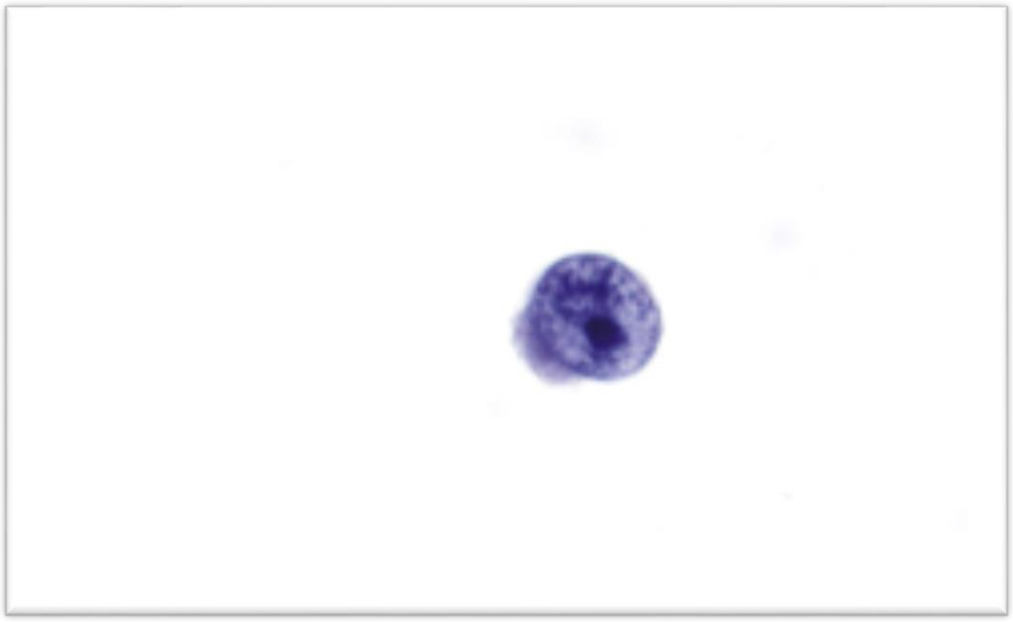
Figura 21 - Células de melanoma cutâneo metastático.



Fonte: Bibbo, Wilbur (2015, p. 434).

Sarcoma: praticamente qualquer tipo de sarcoma pode metastatizar para as cavidades serosas, entretanto é o tipo de tumor que menos frequentemente provoca este evento, quando ocorre o paciente já apresenta quadro muito avançado da doença (CIBAS; DUCATMAN,2014). Os achados citológicos dos sarcomas nos líquidos cavitários, sofrem variações morfológicas de acordo com o tipo de sarcoma desenvolvido, podem ser encontradas células redondas ou ovais, grupos podem ser coesos ou apresentarem-se de forma isolada, pequenas ou grandes. Segundo Cibas et al. 2014, os sarcomas do tipo seminoma do testículo e o disgerminoma de ovário, apresentam células não coesas (FIGURA 22), uniformes que se assemelham as células mesoteliais, possuem menos citoplasma, mas nucléolos mais proeminentes, que podem levar ao erro de diagnóstico.

Figura 22 – Célula de sarcoma disgerminoma apresentando nucléolo.



Fonte: Cibas, Ducatman (2014, p. 163).

3 NEOPLASIAS DO MESOTÉLIO

De acordo com Gamboni et al. 2013, as neoplasias mesoteliais podem ser divididas em benignas ou malignas, e classificados de acordo com sua histogênese e comportamento biológico. Podem ter origem mesotelial ou do tecido conjuntivo de sustentação (KOSS; MELAMED, 2006).

Os tumores mesoteliais de origem mesenquimal, sejam benignos ou malignos, raramente provocam derrames e, quando o ocasionam, o acúmulo de liquido seroso e a quantidade celular encontrada são mínimos. Tornado difícil o diagnóstico diferencial, de uma reação reacional benigna (GAMBONI; MIZIARA, 2013). Os tumores derivados das células mesoteliais considerados benignos são Mesotelioma papilar, Mesotelioma multicêntrico abdominal, também tumores oriundos de proliferação benigna e reativas de células mesoteliais. Já o tumor maligno de origem mesotelial é Mesotelioma epitelial (KOSS; MELAMED, 2006).

Os tumores benignos que tem origem no tecido conjuntivo também classificados como mesoteliomas, são placas pleurais fibrosas, Fibromas (muitas vezes citado como mesotelioma fibroso), o maligno é o Mesotelioma sarcomatoide. E há uma terceira linhagem de mesotelioma maligno, o mesotelioma bifásico ou misto (KOSS; MELAMED, 2006).

3.1 MESOTELIOMAS BENIGNOS

Os tumores mesoteliais benignos são extremamente raros, sendo o Mesotelioma Papilar o mais frequente, com incidência maior em mulheres e não apresenta sintomatologia especifica, os casos registrados não indicam exposição ao amianto, um dos fatores de risco para desenvolvimento de Mesotelioma, que será descrito mais adiante. Esse tumor é restrito às células epiteliais e pode desenvolver se nas cavidades peritoneais, pleurais e pericárdicas, e até mesmo, na túnica vaginal e testículos (GONZÁLEZ; BOTELLO; BARBERO, 2005).

Outro tumor benigno é o mesotelioma peritoneal multicêntrico benigno (BMPM), este tumor é raro e ocorre principalmente em mulheres em sua idade reprodutiva. A patogênese do BMPM não é clara e pode ser caracterizado como um processo lento

e progressivo, suas taxas de recorrência após intervenção cirúrgicas são altas, entretanto não tem tendências a malignidade. Pode estar associado a cirurgia abdominal anterior, endometriose ou doença inflamatória pélvica (SAFIOLEAS; CONSTANTINOS; MICHAEL, et al. 2006).

As placas pleurais são lesões fibrosas na pleura parietal, normalmente assintomáticos, embora sejam relativamente grandes. Lesões formadas por tecido fibroso, hipocelulares e colagenizadas. Calcificações são iniciadas formando pequenas placas densas de 1 a 4 cm de comprimento com bordas irregulares (BOLDÚ; EGUÍA, 2005).

Batista et al. 2005, relata em seu estudo um caso clínico de Mesotelioma Fibroso (MF) localizado na região renal, extremamente raro de ocorrer, com apenas cinco casos relatados. O MF ocorre mais frequentemente na pleura e apresenta características citológicas como, proliferação de células fusiformes alternadas com áreas de hiper e hipocelularidade com hialinização ou colágeno intercelular e proeminente vascularização. Relatos dão conta de ocorrência deste tumor no trato respiratório superior, glândulas salivares, tireoide, peritônio, retroperitônio, fígado, pelve, adrenais, vagina, medula espinhal, meninges, pele, periósteo e partes moles (BATISTA; D'IPPOLITO; SZEJNFELD; et al., 2005).

3.2 MESOTELIOMAS MALIGNOS

O Mesotelioma maligno (MM) é um tumor carreado de estigma de doença com característica ocupacional, mormente em operários de indústria de mineração ou trabalhadores de aplicação de isolamento térmico, dependente de prolongada aspiração, ingestão ou contato cutâneo com asbestos (GAMBONI; MIZIARA, 2013).

Segundo Shambayati, 2011, o MM é uma doença extremamente rara, os números de mortes registradas em 2005 foram de 2.164 (2,7 por 100.000), 2006 de 1.996 mortos e o previsto para 2016, era um aumento para 2.038 novos casos.

Um câncer originário das células de revestimento (mesothelium) das cavidades pleurais e peritoneais, bem como o pericárdio e da túnica vaginal (MOORE; PARKER; WIGGINS, 2008). Mesoteliomas pleurais são os mais comuns (90%), seguidos pelos mesoteliomas peritoneais e pericárdicos (10 - 6%). De outros locais como a túnica vaginal e testículos são extremamente raros. Apresenta alto grau de malignidade, expresso por invasão local de partes moles, como parede torácica, parênquima

pulmonar, pericárdio adjacente e linfonodos regionais. Pode produzir metástases para os pulmões, fígado, pâncreas, rins, supra-renais e medula óssea (ENZINGER; WEISS, 1995). Sua distribuição pode ser uni- ou multifocal ou pode envolver as células de revestimento de uma maneira contínua (MOORE; PARKER; WIGGINS, 2008).

O MM de pericárdio, como mencionado anteriormente, é o tumor com menor incidência de casos relatados 0,0022 para 500000 autopsias, 1% de todos os casos de MM e de 2-3% de tumores cardíacos e pericárdicos. Sua etiologia não é totalmente esclarecida, uma vez que não apresenta alta relação com a exposição ao amianto, um dos fatores de risco para o MM que será melhor detalhado no próximo capitulo. Outros fatores podem incluir radiação, exposição a tuberculose e não minerais como fibras de erionite. Os sintomas frequentes são dispneia, dor no peito, tosse, palpitação, ortopnéia, febre, suores noturnos, perda de peso e fraqueza. O MM de pericárdio pode circundar o coração, infiltrar o miocárdio, átrios, seio coronário e artérias. Dificilmente provocam metástases, quando o fazem, os locais frequentemente afetados são pulmões, rins e nódulos linfáticos (QUINTERO; MÚNERA; ARROYAVE; et al., 2015).

Os pacientes com MM peritoneal, podem relatar dores abdominais e inchaços. Nessa fase é possível ver através de Raio X pequenos nódulos neoplásicos em ambas as camadas serosas. A medida que a doença avança os nódulos aumentam de tamanho e coalesce para produzir uma casca grossa de neoplasia em cada superfície serosa, podendo eventualmente fundir-se diminuindo assim, o espaço disponível para as efusões, podendo causar obliteração do espaço, deslocamento ou constrição dos órgãos próximos (BIBBO; WILBUR, 2015).

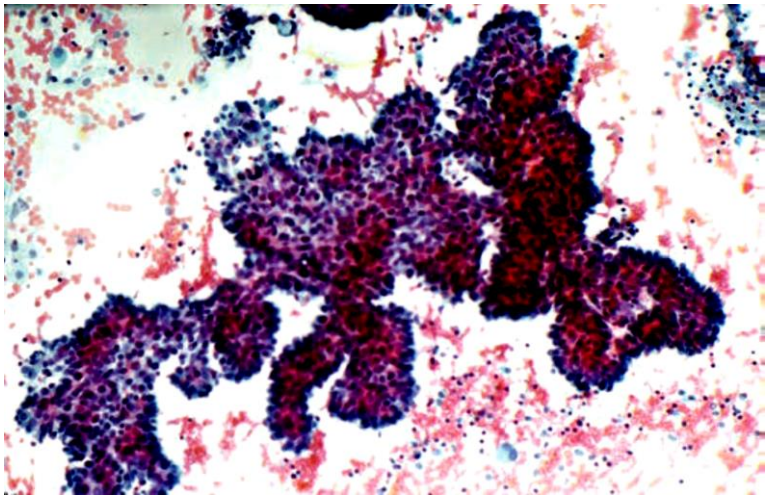
Mesotelioma maligno de pleura é um tumor que começa com o espessamento pleural parietal, progride para a pleura visceral, os sulcos do pulmão, do mediastino, diafragma e invadem a cavidade peritoneal. Pode invadir os tecidos moles do peito. A maioria dos pacientes morrem de invasão progressiva dos tecidos adjacentes ou metástases distantes (ECHEGOYEN-CARMONA; CAMACHO-MENDOZA, 2015). Mais comum em homens do que mulheres, pode apresentar os seguintes sintomas: dor no peito, dispneia ou derrame pleural. Estes sintomas podem ocorrer concomitantes em 90% dos casos. Outros sintomas como: fadiga, febre, sudorese, palidez, mal-estar e perda de peso, podem ser indicativo de MM de pleura. Nos quadros avançados da doença, pela compressão dos órgãos intratoráxicos, pode

ocorrer rouquidão, disfagia, síndrome da veia cava superior e dor irradiada para o braço correspondente (ECHEGOYEN-CARMONA; ROSALES, 2013).

O MM é subtipificado em três formas de acordo com a morfologia histológica: epitelial, sarcomatoide e bifásica. O prognóstico de MM é pobre, e o tempo médio de sobrevivência para esses três tipos é 18, 8 e 11 meses, respectivamente (YANG; TESTA; CARBONE, 2008). O epitelial ocorre em 50 a 60% dos casos e se caracteriza por melhor prognóstico clínico. O tipo sarcomatoide compreende 15% dos casos, sendo composto por células fusiformes e assemelhando-se ao fibrossarcoma ou ao leiomiossarcoma. De acordo com Bibbo et al 2015, o mesênquima submesotelial mantém o potencial de se diferenciar em qualquer tipo de neoplasia, epitelial, sarcomatoso ou em ambos, sendo assim o mesotelioma bifásico é representado pela associação de áreas epiteliais e sarcomatóides (PISTOLESI; RUSTHOVEN, 2004).

Conforme Bibbo et al 2015, o MM do tipo epitelial, mais comum dentre os MM, frequentemente mostram características morfológicas semelhantes aos adenocarcinomas metastáticos, e apresentam efusões hipercelulares (FIGURA 23), o que auxilia na diferenciação entre o MM do tipo sarcomatoso ou bifásico que apresentam efusões hipocelulares (GRAY, KOCJAN, 2010). Apresentam grupos de células que podem mostrar ramificações, relação núcleo/citoplasma aumentadas e cromatina mínima, também podem apresentar células com coloração laranja, quando coradas pelo método Papanicolau, assemelhando-se as células queratinizadas de amostras cervicais (SHAMBAYATI).

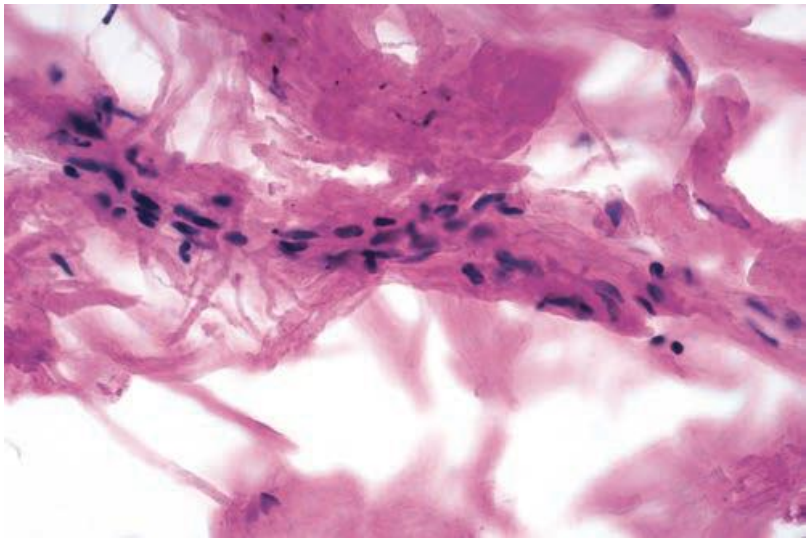
Figura 23 - Grupos hipercelulares no liquido ascitico, característico de mesotelioma maligno epitelial.



Fonte: Koss, Melamed, (2006, p.970).

O MM do tipo sarcomatoso é de difícil diagnostico, por causa da baixa celularidade encontrada nos derrames. As células do fuso geralmente são alongadas (FIGURA 23), irregulares e sobrepostas, as vezes acompanhadas por uma grande quantidade de colágeno são características desse mesotelioma (BIBBO; WILBUR, 2015).

Figura 24 - Mesotelioma maligno sarcomatoso, células em fuso.



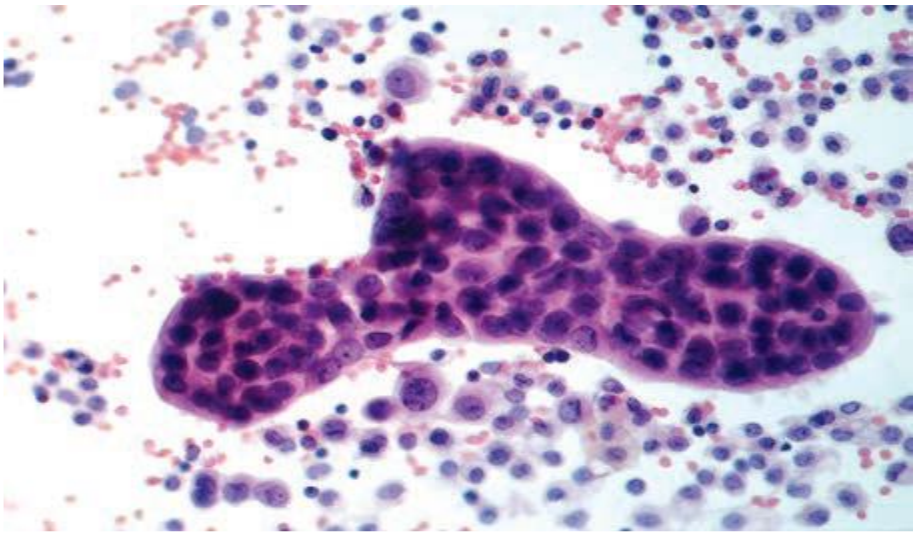
Fonte: Koss, Melamed, (2006, p.970).

No estudo realizado por Koller et al 2017, na região sul do Brasil, foram analisados os casos diagnosticados como MM no período de 2001 a 2014, foram

relatados 58 casos de MM, sendo destes, 10 do tipo epitelioide, 5 fibroso e 1 bifásico. Os 42 casos restantes a morfologia não foi especificada, demonstrando a complexidade em diferenciar e diagnosticar corretamente esse tipo de câncer.

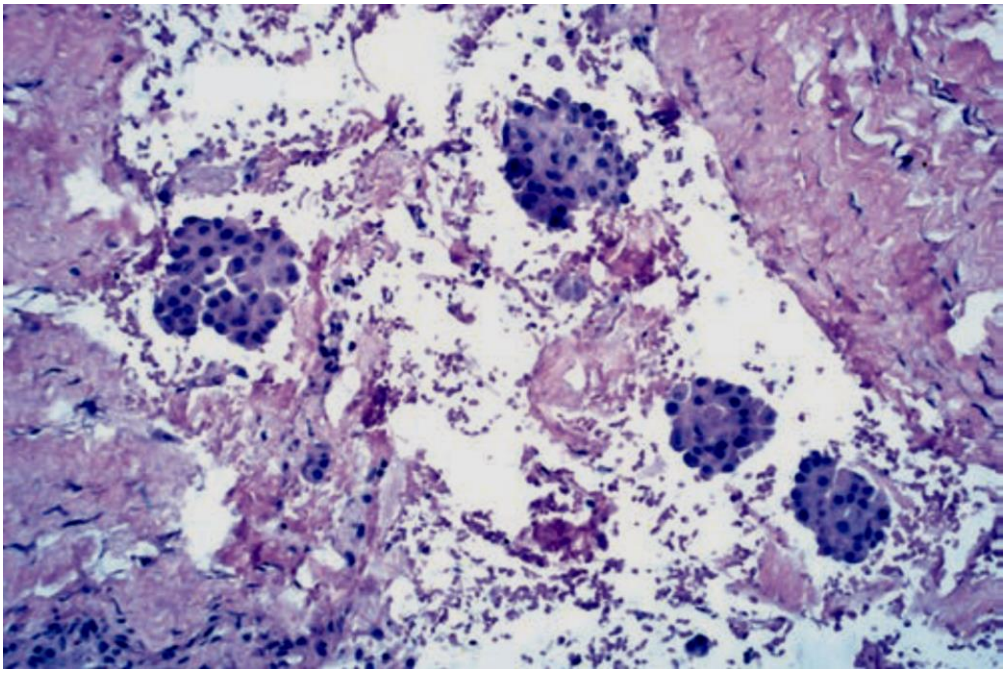
A distinção entre a célula mesotelial benigna e maligna requer uma atenção maior do observador, uma vez que as diferenças são sutis e muitas vezes podem confundir e levar a um diagnóstico equivocado. Os critérios morfológicos das células malignas a serem observados são, placas hipercelulares grandes e coesas acompanhadas por grupos menores, células alargadas tipo em folha, grupos tridimensionais com contornos irregulares, as vezes papilar (FIGURA 25 e 26), com núcleo estromal, janelas intercelulares largas, núcleos centrais, multinucleação (FIGURA 27), nucléolos visíveis, figura de mitose, metacromasia, cromatina mais densa e grosseiramente granular, vacúolos, bolhas e “célula in célula” (GRAY, KOCJAN, 2010).

Figura 25 – Conjunto papilar de células mesoteliais malignas, mesotelioma maligno de pleura.



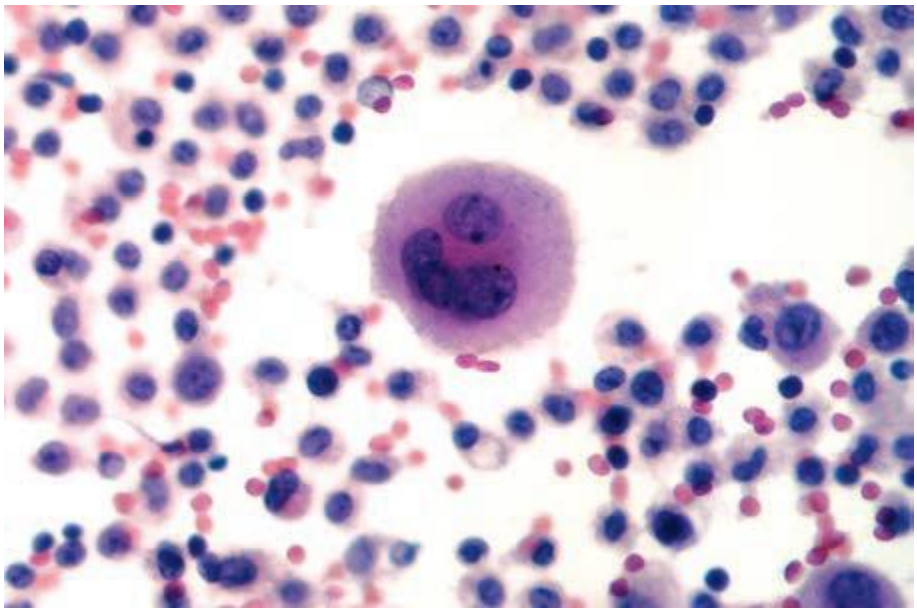
Fonte: Koss, Melamed, (2006, p.966).

Figura 26 - Conjuntos papilares de mesotelioma maligno de pericárdio (corte histológico)



Fonte: Koss, Melamed, (2006, p.967).

Figura 27 - Célula mesotelial maligna multinucleada.



Fonte: Koss, Melamed (2006, p.966).

3.3 FATORES PREDISPONENTES

O MM era tão raro até os anos de 1950, primeiro caso relatado em 1947, que sua existência era questionada. Em 1960, Wagner et al., relatou uma epidemia de MM

entre os mineiros de amianto e foi o primeiro a demonstrar relação entre a exposição ao amianto e o MM (YANG; TESTA; CARBONE, 2008). Entretanto, na Roma antiga Plínio, o Ancião, já relatava uma possível associação, já que os escravos que trabalhavam nas minas de amianto, morriam prematuramente e muitos em decorrência de doenças pulmonares (SHAMBAYATI, 2011).

Com um período de latência de 15 a 60 anos da exposição ao aparecimento do mesotelioma, mesmo com diminuição na produção de amianto na década de 80, os índices de mortalidade tendem a se elevar nas próximas décadas. (MOORE; PARKER; WIGGINS, 2008)

Na etiologia do MM, em 70% dos casos, pode ser estabelecido uma história de exposição direta ou indireta a fibras de amianto. Estima-se que o risco de desenvolver doença pleural secundário tal exposição é de 8% -13%. A exposição ao amianto está também associada com a ocorrência de bronquite crônica, fibrose pulmonar e neoplasia pulmonar. (BARRERA; CHAVARRÍA; MORALES F, 2010).

O amianto ou asbesto, do latim e grego respectivamente, é uma fibra mineral natural sedosa que, por suas propriedades físico-químicas e sua abundância na natureza e, principalmente, baixo custo, tem sido largamente utilizado na indústria. O asbesto é constituído por feixes de fibras com tendência a produzir um pó de partículas muito pequenas que flutuam no ar aumentando o risco de câncer de pulmão, são capazes de penetrar no pulmão e causar danos repetidos, reparação de tecidos e inflamação local (YANG; TESTA; CARBONE, 2008). Os principais grupos minerais de amianto são fibras serpentinas ou fibras de anfibólio, esta distinção é importante porque a forma da fibra serpentina é mais facilmente eliminada do trato respiratório. Dados epidemiológicos sugerem que o anfibólio, crisotlia (amianto branco), crocidolite (amianto azul) e amosita (amianto marrom), sendo o azul e marrom os que estão associados ao maior risco de mesotelioma, (MOORE; PARKER; WIGGINS, 2008).

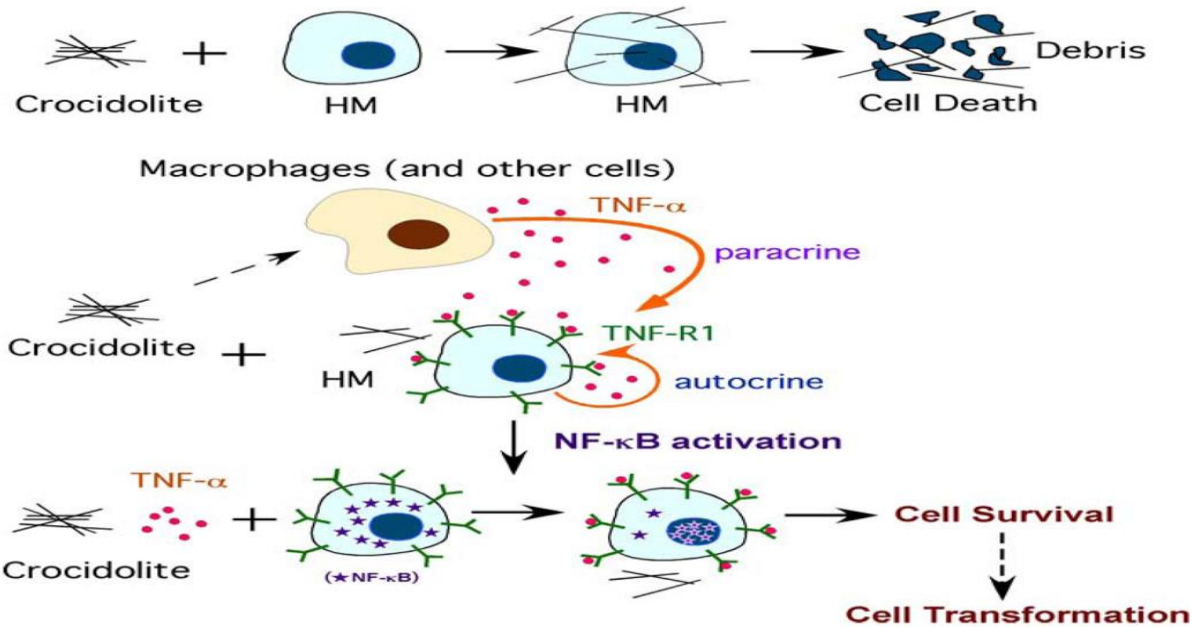
Outros minerais como o erionite, que possuem em suas estruturas fibras de amianto, pode ser ligado ao desenvolvimento de MM. De acordo com Shambayati, 2011, na região da Capadócia na Turquia, um estudo mostrou alta incidência de MM, devido a exposição ao erionite que está presente no solo da região.

Entre as doenças relacionadas ao amianto estão a asbestose (doença crônica pulmonar de origem ocupacional), cânceres de pulmão e do trato gastrointestinal e o

Mesotelioma que pode atingir tanto a pleura como o peritônio. Aproximadamente 7% dos trabalhadores expostos ao asbesto desenvolvem a enfermidade.

A carcinogênese derivada do amianto ainda não é completamente compreendida. Segundo Accinelli e López, 2016, após o contato com as fibras de amianto, que são biopersistentes, permanecendo assim por um longo período no organismo, devido a sua baixa solubilidade, as células mesoteliais humanas são suscetíveis a citotoxicidade do amianto, ocorrendo uma reação inflamatória. Por conseguinte, ocorre a liberação de uma grande quantidade de macrófagos, que fagocitam o amianto e, em resposta, liberam TNF-α. Ao mesmo tempo, o amianto induz as células mesoteliais a expressar o receptor TNF-α TNF-R1 e também estimula a secreção de TNF-α (efeito paracrino e autocrino). O TNF-α liga-se ao seu receptor e ativa a via NF-κB, o que aumenta a percentagem de células mesoteliais que sobrevivem à exposição ao amianto (FIGURA 28). Estas células, com lesão em seu DNA, não sofrem à apoptose, e se o dano genético suficiente se acumular pode- se desenvolver o MM (YANG; TESTA; CARBONE, 2008).

Figura 28 – Ciclo da carcinogênese do amianto.



Fonte: Yang, Testa e Carbone, (2008).

Yang et al, 2008, associam outros contribuintes para o desenvolvimento do MM, entre eles, fator de crescimento (TGF-β), que possui o papel de estimulação para o

crescimento tumoral. Fator de crescimento derivado de plaquetas, que pode atuar como fator regulador na proliferação de células MM, fator de crescimento semelhante a insulina, que promove a proliferação tumoral e a migração celular. Interleucinas tais como IL-6 e IL-8, fator de crescimento endotelial vascular e fator de crescimento de hepatócitos que estimulam a migração celular e a invasividade tumoral.

Estudos citogenéticos e moleculares identificaram várias alterações genéticas frequentes no mesotelioma, embora nenhum deles sejam compartilhados por todos os casos de MM. As deleções citogenéticas do braço curto do cromossomo 9, 9p, foram detectadas em linhas celulares de mesotelioma maligno e outros tipos de tumores (PRINS; WILLIAMSON; KAMP, et al, 1998) acredita-se que a anormalidade mais comum no MM, seja a deleção homozigótica de 9p21 que almeja o gene CDKN2A (XIO; LI; VIJQ, et al, 1995). Estudos demonstraram que a prevalência da deleção de CDKN2A no MM é de 73% em séries limitadas de tumores primários e até 100% em linhas celulares de mesotelioma (PRINS; WILLIAMSON; KAMP, et al, 1998). O CDKN2A é o gene que codifica duas proteínas reguladoras do ciclo celular, proteína p16 e p14ARF, a p16 é uma proteína inibidora de quinase dependente de ciclina, ela bloqueia a fosforilação da proteína Rb e o p14ARF bloqueia a MDM2, como resultado, ocorre uma regulação positiva da p53, supressor tumoral. Com a deleção do gene nas células mesoteliais anormais não ocorre a supressão tumoral propiciando na proliferação do MM (ILLEI; LANDANYI; RUSCH, et al, 2002).

No estudo desenvolvido por Krocynska et al, 2006, o vírus SV40, foi testado como possível agente carcinogênico para o MM, uma vez que, sua relação não era bem estabelecida, realizaram 3 testes em hamester e células mesoteliais, um com SV40, outro com amianto, e um com a combinação de ambos os agentes. O SV40 é um vírus encontrado em macacos e que provocam tumores, ele produz duas proteínas que são oncogênicas: antígenos T grande e pequeno. Nas biópsias de MM humano, descobriu-se que o antígeno T grande (Tag) se liga e inibe as proteínas supressoras de tumores p53 e pRb descritas anteriormente, contribuindo para a carcinogênese do MM (YANG; TESTA; CARBONE, 2008).

Nas décadas de 50 até 90 o vírus contaminou vacinas contra a poliomielite humana em todo o mundo, estudos epidemiológicos realizados detectaram um aumento relativo no risco do desenvolvimento de MM nos pacientes vacinados com a vacina contaminada. No entanto, as evidencias gerais foram consideradas

inconclusivas. Os resultados do estudo de Krocynska et al, 2006, demonstraram que o vírus SV40 cooperam na indução de fosforilação ERK1 / 2 que, por sua vez, provoca um aumento na atividade de ligação e transativação de AP-1, a atividade da AP-1 causou um aumento na expressão e atividade de MMP-1 e MMP-9 que levaram à invasão celular. Esses resultados fornecem evidência da carcinogênese entre SV40 e amianto para o desenvolvimento do MM, entretanto, conforme o estudo, as baixas quantidades de amianto ou SV40 podem ser inofensivas em certos indivíduos, mas podem ser suficientes para causar MM em pessoas expostas a ambos os agentes.

Carbone et al, 2002 e Jaurand e Fleury- Feith, 2005, também reforçam em seus estudos a associação do SV40 e do amianto como agentes carcinogênicos para o MM.

O desenvolvimento do MM, como os estudos demonstram, requer uma maior avaliação de outros fatores, como predisposição genética, tempo de exposição ao amianto e a forma de contagio ao SV40, uma vez que há casos em que estas evidencias não ficaram totalmente claras. Seguindo os casos já relatados e as evidencias já comprovadas os governos, como o do Reino Unido, estabeleceram leis para proibição de utilização do amianto. Neste país, por exemplo, o diagnóstico precoce de MM, é reconhecido pelo departamento de Trabalho e Pensões, como uma doença industrial, sendo assim, as pessoas diagnosticadas e suas famílias podem conseguir assistencia financeira alegando Industrial Injuries Disablement Benefício através do Plano de Pensões de Guerra, ou processando seu empregador anterior por danos (SHAMBAYATI, 2011).

4 O DIAGNÓSTICO DO MESOTELIOMA MALIGNO

Diversos fatores podem desencadear uma efusão cavitária, assim, ao analisar um líquido seroso, podemos encontrar diversos processos que vão desde processos inflamatórios simples, com um mesotélio reativo, até um tumor primário das cavidades MM, ou ainda, um derrame maligno de origem metastática (COSTA; DE AGUSTIN, 2003). Se a distinção entre efusões benignas e malignas dos líquidos cavitários já requer atenção dos analisadores, a distinção entre as efusões malignas provocadas pelo MM ou metástases de outros tumores requer uma atenção redobrada.

Exames por imagens como radiografia simples, ultrassonografia, tomografia computadorizada, e ecocardiograma podem confirmar a presença de acumulo de líquidos nas cavidades e o comprometimento causado pelo mesmo, porem somente a análise laboratorial é que pode determinar a etiologia (MAJI; MAIKAP; JASH, et al, 2013).

Uma vez esgotados os critérios para estabelecer a origem das efusões outros métodos devem ser empregados para o diagnóstico diferencial, tornando se necessário a coleta desse líquido. É de suma importância para o delineamento do diagnóstico todas as informações do paciente, histórico clinico, ocupacional, familiar e qualquer informação que possa contribuir, tendo em vista e como já dito anteriormente, que o MM é uma patogenia considerada ocupacional devido a associação com a exposição ao amianto.

A coleta do líquido realizada no espaço pleural é denomidada Toracocentese, Pericardiocentese na cavidade pericárdica e Paracenteses na cavidade peritoneal (SHAMBAYATI, 2011). A coleta se dá, em sua maioria, através de punção aspirativa, que consiste na sucção do liquido através de uma agulha, a técnica recebe o nome de Punção Aspirativa por Agulha Fina (PAAF), o liquido é recolhido em um recipiente limpo e seco contendo heparina e encaminhado ao laboratório para análise, aspectos como, volume, coloração e densidade das efusões também devem ser avaliados, uma vez que, essas caracteristicas podem auxiliar no diagnóstico (QUADRO 1, pg.24), analises bioquímicas e microbiológicas podem ser realizadas.

A seguir serão detalhadas as técnicas mais recomendadas para o diagnóstico diferencial do MM.

4.1 CITOLOGIA

O diagnóstico através da citologia, consiste na análise da amostragem celular encontradas nos líquidos cavitários por um profissional capacitado com o auxílio de um microscópio ótico. Para a preparação das amostras o liquido é centrifugado e o sedimento é coletado. Pode se utilizar os métodos de Papanicolau, a técnica de azul de toluidina e a confecção de blocos celulares com o material da centrifugação, podendo, a fim de confiabilidade dos resultados, utilizar as três técnicas.

O corante azul de toluidina (AT), pode ser utilizado como método inicial e de rastreamento, com a finalidade de detectar áreas de degeneração tecidual, quando utilizado diretamente em um tecido, através da sua afinidade por ácidos nucleicos que estão presentes em maior quantidade nas células alteradas, que consequentemente, absorvem mais quantidade do corante, indicando probabilidade de displasia epitelial (VILARDI; VILARDI, 2016). Para a análise de líquidos utiliza-se uma gota da amostra sedimentada e uma gota do corante, em uma lamina e coberta com lamínula, a análise pode ser feita a fresco ou fixadas e o diagnóstico é realizado com base na tonalidade expressas nas células. Essa técnica pode permitir um diagnóstico rápido, revelar corpos psamomatosos e cristais e que as amostras altamente positivas sejam segregadas e analisadas (BIBBO; WILBUR, 2015).

A técnica de Papanicolau utiliza as amostras na forma de esfregaços citológicos, fixados com álcool em lâminas e uma bateria de coloração especifica. Constituída de etapas de coloração do núcleo em tons purpura a roxo, pela hematoxilina corante básico de solução aquosa corando estruturas ácidas. Coloração do citoplasma pelo corante ácido de base alcoólica *orange* G, que cora os componentes básicos do citoplasma das células em tons de laranja. E o EA corante de base alcoólica, com afinidade por estruturas basofílicas/ácidas e acidófilas/básicas, com a finalidade de corar os grânulos oxifílicos do citoplasma, corando células imaturas em tons de verde. Com a finalidade de identificar alterações significativas nas células, alterações já detalhadas anteriormente, que possam indicar processo patológico neoplásico (CONSOLARO; MARIA-ENGLER, 2014).

Os blocos celulares são feitos com os sedimentos restantes provenientes da centrifugação, são envoltos em papel filtro e colocados em cassetes embebidos em parafina e cortados em seções histológicas (CIBAS; DUCATMAN, 2014). Outra

técnica consiste em adicionar plasma e trombina ao sedimento e formalina tamponada a 10%, a coagulação ocorre espontaneamente e os cortes podem ser feitos. Os blocos celulares são vantajosos uma vez que podem utilizar uma quantidade maior de células, aumentando a porcentagem de resultados positivos, e revelar entidades não visíveis nos esfregaços citológicos (BIBBO; WILBUR, 2015). Esses blocos podem ser corados o que é particularmente útil para a Imunocitoquímica, que será detalhada mais adiante.

A citologia é a técnica de diagnóstico mais sensível do que a biopsia cega para detectar malignidade das cavidades serosas71% versus 45%, presumivelmente de acordo com Cibas e Ducatman, 2014, porque o fluido fornece uma amostra mais representativa e a sensibilidade da citologia para o diagnóstico de malignidade variam de 58% a 71%, na detecção de câncer a taxa por citologia é aumentada de 2% a 38% quando múltiplas amostras são examinadas.

Em seu estudo Aguirre, 2016, analisou 70 amostras de líquidos, onde 57,1% eram efusões da pleura e 42,9% efusões de ascite, comparando os resultados da citologia com a avaliação citogenética das metáfases celulares, para determinar a sensibilidade e especificidade de ambos os métodos de diagnóstico. Os resultados obtidos foram, a sensibilidade da citogenética e citologia nos líquidos pleurais de 100% e 92,3% respectivamente e a especificidade de 100% e 80%, no liquido de ascite a sensibilidade foi de 90% e 77,8% e a especificidade de 50% e 66,7% para a citogenética e citologia respectivamente. Apesar dos altos índices, o ideal é a utilização de ambas as técnicas para o diagnóstico mais preciso, o grau de concordância entre os testes foi de 0,918.

Essa eficiência depende, além de uma coleta e procedimentos técnicos bem executados, da experiência do citologista, uma vez que, a maior dificuldade no diagnóstico correto de MM e seus subtipos, está na diferenciação entre as alterações celulares características de malignidade das alterações de reatividades benignas, e outro ponto a ser considerado, para a dificuldade do diagnóstico citológico, é a semelhança do MM com outras neoplasias malignas que provocam metástases nos líquidos cavitários.

4.2 IMUNOCITOQUÍMICA

A Imunocitoquímica é uma técnica utilizada para localizar proteínas celulares ou populações celulares e tem como fundamentos, a utilização de anticorpos específicos contra a proteína ou célula que pretende se localizar tornando a um antígeno, a ligação permite situar e identificar a presença de variadas substâncias nas células e tecidos por intermédio da cor que é associada aos complexos antígeno-anticorpo (FERRO, 2013). Quando a técnica é empregada em um corte histológico recebe o nome de imunohistoquímica. Para sua eficiência, são utilizados duas linhas de anticorpos de reconhecimento, onde o segundo anticorpo é associado a um marcador que pode ser radioativo, visível ao microscópio ótico ou fluorescência (SIMERLY; MORENO; RAMALHO-SANTOS, et al 2003).

Anticorpos monoclonais utilizados para o diagnóstico do MM com sensibilidade e especificidade variáveis foram introduzidos ao longo das últimas décadas. Entre eles citoqueratina CK 5/6, WT-1 antígeno tumoral de Wilms-1, EMA antígeno da membrana epitelial, CEA antígeno carcinoembrionário, TTF-1 fator de transcrição da tireoide-1, ER marcador retículo endoplasmático. O Painel Internacional de Mesotelioma recomenda o uso de pelo menos dois marcadores mesoteliais e dois marcadores para outro tumor além de uma pancitatatina. Recomenda também, marcadores com sensibilidade superior a 80%, Calretinina, WT-1, D2-40, h- caldesmon e trombomodulina são os melhores marcadores positivos para mesotelioma, enquanto MOC-31, B72.3, proteína Ber-EP4, S-100, Leu-M1 (CD45), CEA, TTF-1, ER e PR são marcadores negativos para mesotelioma. O EMA e pancinoqueratina podem marcar células tumorais positivas para mesotelioma e negativos ou fracos positivos para mesotelioma a Citoqueratina 5/6 (NASIT; DHRUVA, 2014)

Contudo, um marcador absolutamente específico e sensível para as proliferações mesoteliais ainda não foi identificado.

O estudo de Motta et at, 2006, analisou 58 tecidos obtidos por biópsia, toracoscopia ou necropsia, através de imunohistoquímica. Os anticorpos utilizados foram CEA monoclonal clone II-7, Leu-M1 clone C3-01, anticorpo monoclonal de rato antiproteína p53 humana, antígeno Ki-67 e anticalretinina clone NCL. A coloração nuclear marrom foi considerada como evidência da expressão antigênica das células para p53, Ki-67, calretinina e trombomodulina, ao passo que a coloração das

membranas e do citoplasma caracterizou a expressão de CEA e Leu-M1. Sete casos com padrão atípico para mesotelioma foram inseridos na categoria sem classificação devido à falta de expressão associada às formas histológicas confusas e heterogêneas. Demonstrando que os anticorpos não se mostraram totalmente sensíveis ou específicos para o mesotelioma.

Nos Quadros 2 e 3, a relação de anticorpos utilizados para o diagnóstico diferencial do MM, estabelecidos pela Guidelines of the European Respiratory Society and the European Society of Thoracic Surgeons for the management of malignant pleural mesothelioma (SCHERPEREEL; ASTOUL; BAAS, et al, 2010).

Quadro 2 – Anticorpos utilizados para diferenciar MM Epitelióide de Adenocarcinoma

Anticorpo	Valor atual	Mesotelioma	Positividade	Adenocarcinoma	Positividade
Mesotelioma					
Calretinina	Essencial	Positivo (nuclear e citoplasmático)	80-100%	Normalmente negativo	5-10% de positividade citoplasmática do adenocarcinoma pulmonar
Queratina CK5 / 6	Útil	Positivo (citoplásmico)	60-100%	Normalmente negativo	2-10% de positividade focal
WT-1	Útil	Positivo (nuclear)	43-93%	O adenocarcinoma pulmonar é negativo	0%
EMA	Útil	Positivo (membranoso)	60-100%	Positivo (citoplásmico)	70-100%
Podoplanin	Útil	Positivo (membranoso)	80-100%	Normalmente negativo	7% de positividade focal
Adenocarcinoma pulmonar					
CEA monoclonal	Muito útil	Quase invariavelmente negativo	0%	Positivo (citoplásmico)	50-90%

CD15	Útil	Nunca foi expresso em mesotelioma	0%	Positivo (membranoso)	50-70% focalmente positivo
Ber-EP4	Muito útil	Positivo ou negativo (membranoso)	Até 20% podem ser focalmente positivos	Positivo (membranoso)	95-100%
TTF-1	Muito útil	Nunca expressou	0%	Positivo (nuclear)	70-85% de adenocarcinoma pulmonar
B72.3	Muito útil	Raramente positivo	<1%	Positivo (citoplásmico)	70-85% de adenocarcinoma pulmonar
Carcinoma de mama					
ER	Muito útil	Nunca foi expresso em mesotelioma	0%	Coloração nuclear positiva	~ 70%

Fonte: Scherpereel; Astoul; Baas, et al, 2010.

Quadro 3 – Marcadores para diferenciar MM Sarcomatoide de Carcinoma escamoso e de células de transição.

Anticorpo	Valor atual	Mesotelioma	Positividade	Carcinoma de células escamosas e de transição	Positividade
Mesotelioma					
Calretinina	Útil	Positivo (forte nuclear e citoplasmática)	80-100%	Geralmente a positividade citoplasmática	5-40%
Queratina CK5 / 6	Nao é útil	Positivo (citoplásmico)	60-100%	Positividade citoplasmática	100%
WT-1	Muito útil	Positivo (nuclear)	43-93%	Negativo	0%

Carcinoma de células escamosas					
P63	Muito útil	Quase sempre negativo	0%	Positivo (nuclear)	~ 100%
Ber-EP4	Útil	Positivo ou negativo	Até 20% são positivos	Positivo (citoplásmico)	80-100%
MOC 31	Útil	Positivo ou negativo (coloração membranosa focal)	2-10%	Positivo (membranoso)	97-100%

Fonte: Scherpereel, Astoul, Baas, et al, 2010.

4.3 CITOMETRIA DE FLUXO

A imunofenotipagem por citometria de fluxo consiste em caracterizar e diferenciar fenotipicamente populações de células anormais de normais e estagio de maturação, mesmo quando a quantidade celular da amostra é baixa. Uma serie de moléculas corantes fluorescentes são usadas, tais como, fluorescein isothiocyanate (FITC), phycoerythrin (PE), peridinin-chlorophyll-protein (PerCP) e allophycocyanin (APC) (VIRGO; GIBBS, 2012).

O desenvolvimento comercial de anticorpos monoclonais "cluster de diferenciação"(CD), proporcionou um avanço no uso da citometria de fluxo para o diagnóstico de tumores. As células são previamente marcadas com anticorpo monoclonal ligado a uma substancia fluorescente (fluorocromo), formando uma molécula corante, que são suspensas em solução salina isotônica. Essa mistura é aspirada pelo citômetro de fluxo e injetados em uma câmara de fluxo, as células passam enfileiradas por sensores que analisam suas caracteristicas. As células são interceptadas por feixes de radiação de excitação, esses feixes sofrem dispersão e essa mudança de rota dos feixes que será captada, transformada em números e histogramas, e os dados são analisados por software. As informações obtidas com o processo são dimensão, granularidade/complexidade, morfologia e o fenótipo celular (GOLIM; DEFFUNE; ROSSI-FERREIRA, et al, 2007). Entretanto a perda de integridade da membrana pode alterar as características de coloração das células

devido a alterações na expressão do antígeno e absorção não específica dos anticorpos, causando uma fluorescência aumentada (VIRGO; GIBBS, 2012).

A citometria de fluxo também pode usar corantes de ligação ao DNA como iodeto de propídio ou 7 - amino-actinomicina D9, para constatar viabilidade celular, estudos dos mecanismos de apoptose, pois células mortas absorvem o corante e fluorescem, e no estudo de aneuploidia do DNA.

Assim como a supressão da p53 é a anomalia de DNA mais comum nas células tumorais, as aneuploidia são o achado citogenético usuais, o uso da citometria de fluxo para a análise de ploidia de DNA pode aumentar o percentual de positividade para o diagnóstico do MM, uma vez que, auxilia na diferenciação de efusões benignas das malignas, através do índice que mede o conteúdo de DNA intracelular. Nesta técnica, os núcleos são suspensos e impregnados com corante fluorescente que se liga ao DNA, a citometria possibilita que sejam definidas as fases do ciclo celular. A aneuploidia é avaliada pelo conteúdo de DNA das fases G0/G1 da célula em relação ao conteúdo de DNA das células normais diploides. Os resultados são representados graficamente como picos separados de células normais diploides e aneuploides (BORILE; SELISTRE; EL HAJE, et al 1999).

A utilização de marcadores tumorais pela Citometria de fluxo e a Imunocitoquímica, vai além do diagnóstico, são utilizados para acompanhar a evolução da doença, estadiamento do tumor, avaliação da resposta terapêutica, detecção de recidivas e prognostico. Entretanto, como já mencionado anteriormente, não existem marcadores tumorais específicos para o MM, os utilizados são mais uteis para excluir outros tumores do que indicar o Mesotelioma, como demonstrado no Quadro 4. No estudo desenvolvido por Reis, 2015, com objetivo de avaliar os fenótipos das células presentes nos líquidos cavitários e analisar a sua importância como marcadores fenotípicos para o diagnóstico diferencial entre efusões malignas e as benignas, foi prejudicado pelo fato que, as células mesoteliais apesar de estarem presentes nos fluidos, não poderem ser identificadas com precisão, por não haver um painel de marcadores específicos.

Quadro 4 - Marcadores utilizados na imunomarcação para diferenciar carcinomas metastáticos dos mesoteliomas.

Marcador	**Expressão em carcinoma metastático**	**Expressão no mesotélio/ mesotelioma**
Queratina	+ citoplasmático/de membrana	+ perinuclear/ citoplasmático
CK7	Pulmão, ovário, mama, pâncreas, endométrio, bexiga	+
CK20	Cólon, pâncreas, bexiga, estômago	-
CEA	Pulmão, trato digestivo, pâncreas, mama	-
Ber-EP4	Pulmão	-
TTF-1	Tireoide e reação nuclear em pulmão	-
BRST-2 (GCDFP-15)	Mama	-
HER-2	Mama	-

Fonte: Reis, (2015) adaptado de ATKINSON (2005).

4.4 AgNOR

A região organizadora nucleolar (NOR) é a região do cromossomo, na qual estão localizados os principais genes de rDNA que são transcritos em uma molécula de RNA e posteriormente clivados em moléculas menores, a junção das NORs resulta na formação dos nucléolos nos núcleos, sendo, portanto, significativos para a síntese de proteínas (FERNANDES; BARTH; SAMPAIO, 2008).

Essas regiões estão associadas com proteínas acidas não histonas que podem ser visualizadas por coloração argyrophilic (AgNOR), o nitrato de prata é a solução mais utilizada. O uso desta técnica em histopatologia mostra que o padrão de AgNOR é útil no diagnóstico de malignidade, já que as células tumorais apresentam um aumento na atividade metabólica e formações de macro nucléolos ou múltiplos nucléolos (HUANG; TSAI; HWANG, et al, 1994). O diagnóstico é obtido com um microscópio ótico e através da mensuração do tamanho do nucléolo em relação a área do núcleo e a quantidade de nucléolos, indicando maior ou menor atividade metabólica.

O baixo custo e rapidez faz com a técnica de AgNOR sirva como triagem para detecção de células cancerígenas, o estudo de Huang et al, 1994, comparou os

resultados obtidos na citologia com os obtidos na citometria de fluxo e no teste de AgNOR para o diagnóstico de efusões, e concluiu que a citometria de fluxo e a técnica de AgNOR fornecem medidas comparáveis ao diagnóstico, no entanto, a técnica de AgNOR é mais rápida, simples e barata podendo ser associada rotineiramente a citopatologia diagnóstica.

A citologia ainda é considerada o método ouro para o diagnóstico do MM, todavia as utilizações dessas técnicas não devem ser descartadas e se possível combinadas para um diagnóstico mais preciso e confiável.

4.5 HIBRIDIZAÇÃO FLUORESCENTE *IN SITU* – FISH

Esta técnica pode ser aplicada a diferentes tipos de núcleos tumorais, incluindo núcleos impressos, núcleos obtidos a partir de procedimentos citogenéticos convencionais, núcleos congelados, núcleos embebidos em parafina e núcleos extraídos de seções embutidas em parafina. O FISH é uma abordagem de alta sensibilidade em estudos de tumores que podem evidenciar aberrações genéticas presentes em uma pequena porcentagem de células que podem escapar à detecção se apenas técnicas moleculares forem aplicadas (TIBILETTE, 2004).

A técnica baseia se na molécula de DNA, que é formada por duas fitas complementares unidas por pares de bases especificas. Essas fitas podem ser facilmente desnaturadas, por meio de aquecimento ou tratamento alcalino, e renaturadas por resfriamento ou acidificação do meio. A técnica de FISH consiste na utilização de moléculas marcadas (sondas) que competirão com as fitas de DNA cromossômico e poderão ser hibridizadas ao DNA alvo (NEVES; GUEDES, 2012).

As sondas são sequencias de oligonucleotídeos complementares e marcados com substancias fluorescentes, podem ser obtidas a partir de fragmentos de DNA ou RNA isolados, purificados e amplificados, há duas possíveis marcações das sondas a direta e a indireta. Na direta um ou mais fluorocromo são ligadas as regiões 5’ ou 3’ do alvo, na indireta, utiliza se um complexo formado por uma molécula de digoxigenina ligada a um anticorpo conjugado com o fluorocromo, que aumenta a sensibilidade (SUNDE; OLSEN; GÖBEL, et al, 2003). Os três tipos de sondas mais utilizadas são as centroméricas (ou de sequências repetitivas - CEP), as sondas locus-específicas (ou de sequências únicas - LSI) e sondas de cromossomos inteiros (pintura cromossômica - WCP) (HACKEL; VARELLA-GARCIA, 1997). Após as marcações as

amostras são analisadas ao microscópio de fluorescência, com filtros epifluorescentes específicos.

A técnica de FISH é altamente sensível e especifica, possibilita a obtenção de informações genômicas em núcleos interfásicos, contornando uma limitação importante das metodologias citogenéticas convencionais que é a obtenção de metáfases de células tumorais, pode ser utilizada na identificação de cromossomopatias, diagnostico pré-natal, reconhecimento de doenças virais, monitoramento pré-transplante e diagnóstico de leucemias. A FISH pode ser aplicadas em amostras biológicas, incluindo suspensões de células, tecidos sólidos desagregados, fluidos corporais, bem como cortes histológicas de tecidos sólidos (HACKEL; VARELLA-GARCIA, 1997).

A técnica foi utilizada para identificação da deleção do gene CDKN2A no estudo desenvolvido por Illei, et al, 2002, onde analisou 6 amostras suspeitas de MM e 7 confirmadas com MM pela citologia, 12 das 13 amostras apresentaram delação do gene CDKN2A, enquanto as 19 amostras negativas para MM expressavam o gene. Demonstrando ser uma opção para o diagnóstico diferencial do MM com o auxílio da técnica de FISH.

Apesar das vantagens, a técnica de FISH ainda sofre resistências devido as dificuldades de obtenção de sondas especificas, a necessidade de um sistema de microscopia de fluorescência com captura de imagens, programas específicos para captura e edição de imagens, tornam todo o processo dispendioso. Outro fato importante, a experiência dos profissionais com o sistema, pois a demora na captura das imagens pode resultar no desbotamento da fluorescência (SUI; OU; CHEN, et al, 2009).

CONCLUSÂO

Vários fatores podem desencadear um derrame de líquidos serosos para as cavidades pleural, peritoneal e pericárdica. A distinção entre transudado e exsudato e a descoberta da causa do derrame, são ferramentas importantes para o diagnóstico do Mesotelioma Maligno. Derrames derivados do MM são, em sua maioria, o último sintoma a aparecer, quando a doença já se apresenta em um estágio bem avançado.

O MM é um câncer raro, com período de latência de aproximadamente 20 a 30 anos, com fortes relações ocupacionais e ambientais e extremamente agressivo. Os achados citológicos inconclusivos, demora na distinção do MM de outras neoplasias malignas, falta de dados clínicos do paciente e informações que possam contribuir para o diagnóstico e a falta de experiência dos profissionais com relação a esse tipo de malignidade, são fatores que contribuem para os índices de mortalidade.

As políticas públicas adotadas para a proibição do uso do amianto, fator de risco para o MM, e que ainda não ocorre em todo o território nacional, foram um grande passo para a saúde da população, o problema é o grande período de latência desse câncer. Podemos estar vislumbrando a crescente nos números de casos, como já demonstras os dados extraídos do DATASUS. No ano de 1996 foram registradas 1.206 mortes em decorrência do MM, no ano de 2015 foram registrados 2.679, demonstrando que a tendência é aumentar as notificações e que os números de casos não irão diminuir nos próximos 30 anos, uma vez que no Brasil ainda se produz o amianto.

A citologia é considerada a técnica mais sensível e especifica para o diagnóstico do MM, baixo custo, rápida execução e altos índices de positividade, tornam a principal escolha como método de diagnóstico, entretanto técnicas mais sofisticadas como Imunocitoquímica, FISH, Citometria de fluxo e AgNOR, com valores significativos de positividade para a confirmação de MM, ainda esbarram em dificuldades operacionais, altos valores, falta de desenvolvimento biotecnológico, como na criação de marcadores e sondas especificas para o MM, falta de experiência dos profissionais, o que dificulta o prognóstico do paciente e suas utilizações . Mesmo com essas técnicas empregadas ao MM, de 5% a 10% dos casos só são confirmados na autopsia.

A combinação de técnicas se mostrou a forma mais eficiente para o diagnóstico do MM, algumas estão confinadas a grandes centros de pesquisas e laboratórios de grande porte o que dificulta o acesso da maioria da população a um diagnóstico preciso, rápido e confiável. Faz se necessário o aperfeiçoamento das técnicas consideradas mais simples, desenvolvimento de marcadores imunológicos específicos para MM, a criação de um protocolo padrão voltado para o MM com as informações clinicas e ocupacionais dos pacientes. Estudos e capacitações constante dos profissionais da atenção primária, profissionais médicos e laboratoriais para essa malignidade. Além de investimentos em pesquisas voltados para o desenvolvimento de ferramentas que auxiliem na prevenção, diagnóstico e tratamento do Mesotelioma Maligno.

REFERÊNCIAS

ACCINELLI, Roberto A.; LÓPEZ. Lidia M. **Asbestos: a silent epidemics.** Acta Médica Peruana. Vol.33 n.2 Peru Lima Abr./Jun. 2016. Disponível em:< http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172016000200008&lang=pt**>** Acesso em: 15 de fevereiro de 2017.

AGUIRRE, Kevin J.M. **Evaluación citológica y su correlación con la evaluación citogenética de líquidos corporales, para detectar células neoplásicas Laboratorio de Citología -Hospital Nacional Dos de Mayo, Lima 2015**. 2016, pg.35. (Título Profesional de Licenciado en Tecnología Médica). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Peru, 2016.

BARRERA, Raul; CHAVARRÍA, Jorge; MORALES, Jorge**. Malignant mesothelioma: Clinical and pathological features from 247 case.** Revista Chilena de enfermedades respiratórias, v.26 n.3 Santiago sep. 2010. Disponível em: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-73482010000300003&lng=en&nrm=iso&tlng=en. Acesso em: 15 de fevereiro de 2017

BATISTA, Giovani R.; D'IPPOLITO, Giuseppe; SZEJNFELD, Jacob; MENASCE, Suzan; FISCHMAN, Marcos T.I.; JUNIOR, Renato L.de M.; **Solitary fibrous tumor of the kidney: a case report.** Radiol Bras, Vol.38, nº4. São Paulo. Jul/Ago. 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-39842005000400016&lang=pt >. Acesso em: 30 de junho de 2017.

BIBBO, Marluce; WILBUR; David C. **Comprehensive Cytopathology Fourth Edition.** Philadelphia, USA. Elsevier Sauders, 2015.

BOLDÚ, J.; EGUÍA, V.M.; **Enfermedades pleurales benignas inducidas por asbestos**. ***Benign pleural diseases induced by asbestos.*** Anales Sis San Navarra, Vol.28, Supl.L Pamplona, 2005. Disponível em:< http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272005000200004&lang=pt> Acesso em: 30 de junho de 2017.

BORILE, Giuliano; SELISTRE, Luciano da S.; EL HAJE, Samir A.; TELLEZ, Luiz J.; PROLLA, João C.; NEUMANN, Jorge; SPORLEDER, Heloisa, CAMARGO, José de J. P.; FELICETTI, Jose C.; CARDOSO, Paulo F. G**. Estudo prospectivo de derrames pleurais através da análise de ploidia do DNA por citometria de fluxo.** Jornal Pneumologia, Vol. 25, n.3, Mai/Jun de 1999. Disponível em:< file:///C:/Users/Rosana/Downloads/1999_25_3_4_portugues.pdf> Acesso em : 15 de agosto de 2017.

CARBONE, M.; KRATZKE, R.A.; TESTA, J.R.; **The pathogenesis of mesothelioma**. Semin Oncol. Vol. 29, n. 1, pg. 2-17. Fev 2002. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11836664. Acesso em: 20 de julho de 2017.

CIBAS, Edmund S.; DUCATMAN, Barbara S. **Cytology Diagnostic Principles and Clinical Correlates Fourth Edition.** Philadelphia, USA. Elsevier Sauders, 2014.

CONSOLARO, Márcia E. L.; MARIA-ENGLER, Silvya S. **Citologia Clínica Cérvico-Vaginal Texto e Atlas.** São Paulo. Roca, 2014.

COSTA, J.Rodrigues; DE AGUSTIM, Domingo. **Cuadernos de Citopatología. Líquidios Orgânicos: I Ascítico, pleural e pericárdico**. 1.ed. Madrid, Españaa: Diaz de Santos, 2003.

De ROBERTIS, Edward M.; HIB, José. **Biologia celular e molecular.** 16. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.

ECHEGOYEN-CARMONA, Rufino; CAMACHO-MENDOZA, Catalina; **Revisión del tratamiento y sobrevida del mesotelioma pleural maligno en el INER.** Neumología y cirugía de tórax. Vol. 74, n. 3. México. Jul/Set 2015. Disponível em: < http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0028-37462015000300004&lang=pt> Acesso em: 27 de março de 2017.

ECHEGOYEN-CARMONA, Rufino; ROSALES, Rosa M. R.; **Asbestosis y mesotelioma pleural maligno.** Revista de la Facultad de Medicina. Vol. 56, n. 2. México. Mar/Abr 2013. Disponível em: < http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0026-17422013000600002&lang=pt> Acesso em: 5 de julho de 2017.

ENZINGER, F.M.; WEISS, S.W.; **Soft tissue tumors,** 3rd ed. St Louis, Mosby, pg 787-819, 1995. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000072&pid=S0104-42301997000300015000006&lng=pt. Acesso em: 2 de julho de 2017.

FERNANDES, Anderson; BARTH, Adriane; SAMPAIO, Wagner M.S. **Banda AgNOR como marcador citológico e indicador da atividade sintética de células para duas espécies de abelha sem ferrão (*Hymenoptera: Apidae: Meliponina).*** IX Simpósio Nacional Cerrado. ParlaMundi, Brasília-DF 2008. Disponivel em: < http://www.ipefan.com.br/Fernandes%20et%20al.2008.pdf> Acesso em: 15 de agosto de 2017.

FERRO, Amadeu B. **Imunohistoquímica.** Instituto Politécnico de Lisboa - - Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa. Disponível em: http://amadeuferro.webs.com/documentos/texto%20total%20v2.4a.pdf. Acesso em: 2 de agosto de 2017.

GAMBONI, Mercedes; MIZIARA, Elias F.; **Manual de citopatologia diagnóstica.** Barueri, SP: Manole, 2013.

GILROY, Anne M.; MACPHERSON, Brian R.; ROSS, Lawrence M.; **Atlas de Anatomia.** 2. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

GOLIM, Márjorie A.; DEFFUNE, Elenice; ROSSI-FERREIRA, Rosana; OLIVEIRA, Ana Paula E.; PANDOVANI, Carlos R.; MACHADO, Paulo E. A**. Conjugação e validação de controle isotípico IgG1 -FITC para uso em citometria de fluxo Conjugation and validation of IgG 1 -FITC isotype control to be used in flow cytometry**. Revista Brasileira Hematologia e Hemoterapi. Vol 29, n.4, pg. 361-368, 2007**.** Disponível em:< http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v29n4/a08v29n4.pdf> Acesso em: 15 de agosto de 2017.

GONZÁLEZ, José A.A.; BOTELLO, Laura N.; BARBERO, José M.R.; **Hallazgos citomorfológicos del mesotelioma papilar bien diferenciado. A propósito de un caso y revisión de la literatura.** Revista Española de Patologia. Vol 3.8, nº3, 2005. Disponível em:< http://www.patologia.es/volumen38/vol38-num3/38-3n08.htm>. Acesso em: 30 de junho de 2017.

GRAY, Winifred; KOCJAN, Gabrijela; **Diagnostic Cytopathology 3 Ed.** Londres, Inglaterra: Ed.Elsevier, 2010**.**

HACKEL, Christine; VARELLA-GARCIA, Marileila**. Interphase cytogenetics using fluorescence *in situ*hybridization: an overview of its application to diffuse and solid tissue.** Brazilian Journal of Genetics. Ribeirão Preto, Vol. 20, n.1. Mar 1997. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-84551997000100018> Acesso em: 16 de agosto de 2017.

HIPEC: **Mesotelioma maligno.** Disponível em:< http://www.hipec.com/es/knowledge-base/mesotelioma-maligno/>. Acesso em: 8 de março de 2017.

HUANG, Ming-Shyan; TSAI, Mee-Sun; HWANG, Jhi-jhu, WANG, Tung-Heng. **Comparison of nucleolar organiser regions and DNA flow cytometry in the evaluation of pleural effusion.** Thorax. Vol. 49, pg. 1152-1156. Jul, 1994. Disponível em:< http://thorax.bmj.com/content/thoraxjnl/49/11/1152.full.pdf> Acesso em: 16 de agosto de 2017.

ILLEI; Peter B.; LADANYI, Marc; RUSCH, Valerie W.; ZAKOWSKI, Maureen F. **The use of *CDKN2A* deletion as a diagnostic marker for malignant mesothelioma in body cavity effusions.** Cancer Cytopathology. Vol 99, pg. 51-56, Fev 2003. Disponível em: http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cncr.10923/full Acesso em: 18 de agosto de 2017.

INCA: **Mesotelioma.pdf.** Disponivel em:<http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/comunicacao/mesotelioma.pdf> .Acesso em: 8 de março de 2017.

KOLLER, Francisco J.; SARQUIS, Leila M.M.; MANTOVANI, Maria de F.; MIRANDA, Fernanda M. D'A.; CONSONNI, Dario; MENSI, Carolina; **Monitoramento do mesotelioma no sul do Brasil: uma realidade ainda a ser estudada.** Cogitare Enfermagem, vol. 22, n 1, Jan/Mar 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5380/ce.v22i1.49192> Acesso em: 15 de fevereiro de 2017.

KOSS, Leopold G.; MELAMED, Myron R. **Koss's Diagnostic Cytology and its Histopathologic Bases**. 5 ed. Philadelphia, Pennsylvania, USA:Lippincott Company, Vol.2, 2006.

KROCYNSKA, Barbara; CUTRONE, Rochelle; BOCCHETTA, Maurizio; YANG, Haining; ELMISHAD, Amira G.; VACEK, Pamela; RAMOS-NINO, Maria; MOSSMAN, Brooke T.; PASS, Harvery I.; CARBONE, Michele; **Crocidolite asbestos and SV40 are cocarcinogens in human mesothelial cells and in causing mesothelioma in hamsters.** Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. Vol.103, n.38, pg. 14128-12133, Set 2006. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1599923/. Acesso em: 20 de julho de 2017.

JAURAND, M.C.; FLEURY- FEITH, J.; **Pathogenesis of malignant pleural mesothelioma.** Respirology. VOL10, n. 1, pg. 2-8, 2005. Disponivel em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15691231. Acesso em: 20 de julho de 2017.

MAJI, Arnab; MAIKAP, Malay K.; JASH, Debraj; SAHA, Kaushik; KUNDU, Abhijit; SAHA, Debabrata; BANERJEE, Sourindranath; PATRA, Anupam. **Role of common investigations in aaetiological evaluation of exudative pleural effusions**. Journal of Clinical and Diagnostic Research, Vol.7, pg. 2223-2226, 2013.Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3843477/> Acesso em: 20 de julho de 2017

MOORE, Alastair J.; PARKER, Robert J.; WIGGINS, John; **Malignant mesothelioma.** Orphanet Journal of Rare Diseases20083:34, dez. 2008. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/1750-1172-3-34>. Acesso em: 26 de junho de 2017.

MOTTA, Alexandre B.; PINHEIRO, Germânia; ANTONÂNGELO, Leila; PARRA, Edwin R.; MONTEIRO, Maria M.; PEREIRA, Jose C. Das N.; TAKAGAKI, Tereza; FILHO, Mario T.; MARTINS, Sandro; CAPELOZZI, Vera L. **Marcadores morfológicos de prognóstico no mesotelioma maligno: um estudo de 58 casos**. Jornal Brasileiro de Pneumologia. Vol.32, n.4, São Paulo Jul/Ago 2006. Disponivel em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-37132006000400011 Acesso em: 13 de junho de 2017.

MUKHERJEE, Siddhartha. O imperador de todos os males: **Uma biografia do câncer.** Editora Companhia das Letras. Fev 2012.

NASIT, Jitendra G.; DHRUVA, Gauravi. **Well-Differentiated Papillary Mesothelioma of the Peritoneum A Diagnostic Dilemma on Fine-Needle Aspiration Cytology.** Am J Clin Pathol. Vol.142, pg. 233-242, 2014.Disponível em: < https://academic.oup.com/ajcp/article-lookup/doi/10.1309/AJCPOTO9LBB4UKWC> Acesso em: 13 de junho de 2017.

NEVES, S.M.N.; GUEDES, R.M.C.; **hibridização *in situ* fluorescente: princípios básicos e perspectivas para o diagnóstico de doenças infecciosas em medicina veterinária.** Arquivo do Instituto Biológico. Vol.79, n.4, pg. 627-632, 2012.

Disponível em:< http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1808-16572012000400023&script=sci_abstract> Acesso em: 16 de agosto de 2017.

PISTOLESI, M.; RUSTHOVEN, J.; **Malignant pleural mesothelioma: update, current management, and newer therapeutic strategies.** Chest, 126 (4): 1318-29, 2004. Disponivel em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000079&pid=S1806-37132008000100004000002&lng=en>. Acesso em: 5 de julho de 2017.

PRINS, J.B.; WILLIAMSON, K.A; KAMP, M.M.; VAN HEZIK, E.J.; VAN der KWAST, T.H.; HAGEMEIJER, A.; VERSNEL, M.A. **The gene for the cyclin-dependent-kinase-4 inhibitor, CDKN2A, is preferentially deleted in malignant mesothelioma.** Int. Jour Cancer. Vol.75, n.4, pg. 649-653. Fev 1998. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9466670> Acesso em: 6 de julho de 2017.

QUINTERO, Viviana; Múnera, Ana G.; ARROYAVE, Jorge A.; DUQUE, Mauricio; **Mesotelioma pericárdico primario manifestado como derrame pericárdico severo.** Revista Colombiana de Cardiologia. Vol.22, n. 1. Bogotá. Jan/Fev 2015. Disponível em: < http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-56332015000100008&lang=pt> Acesso em: 2 de julho de 2017.

REIS, Manoela I. **Investigação do fenótipo das células presentes nos líquidos cavitários para o diagnóstico diferencial entre as efusões malignas e as benignas.** 2015. 84f Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

SAFIOLEAS, Michael C.; CONSTANTINOS, Kontzoglou; MICHAEL, Stamatakos; KONSTANTINOS, Giaslakiotis; CONSTANTINO, Safioleas; ALKIVIADIS, Kostakis**. Benign multicystic peritoneal mesothelioma: A case report and review of the literature.** World Journal of Gastroenterology. Vol.12, Sep 21, 2006. Disponivel em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4088182/> Acesso em: 30 de junho de 2017.

SCHERPEREEL, A.; ASTOUL, P.; BAAS, P.; BERGHMANS, T.; CLAYSON, H.; De VUYST, P.; DIENEMANN, H.; GALATEAU-SALLE, F.; HENNEQUIN, C.; HILLERDAL, G.; Le PÉCHOUX, C.; MUTTI, l.; PAIRON, J.C; STAHEL, R.; Van HOUTTE, P.; Van MEERBEECK, J.; WALLER, D.; WEDER, W.; **Guidelines of the European Respiratory Society and the European Society of Thoracic Surgeons for the management of malignant pleural mesothelioma.** European Respiratory Journal. Vol.35, pg.479-495, 2010. Disponível em: http://erj.ersjournals.com/content/35/3/479#ref-list-1 . Acesso em: 2 de agosto de 2017.

SHAMBAYATI, Behdad; **Cytopathology (Fundamentals of Biomedical Science).** New York: Oxford University Pass, 2011.

SHIDHAM, V.B.; FALZON, M. Serous effusios IN:GRAY, W. & KOCJAN, G. **Diagnostic Cytopathology. 3.ed.** Londres, Inglaterra: Ed.Elsevier, 2010.

SIMERLY, Calvin; MORENO, Ricardo; RAMALHO-SANTOS, João; HEWITSON, Laura; SCHATTEN, Gerald. **Confocalimaging of structural molecules in mammalian gametes. In A Laboratory Guide of the Mammalian Embryo.** Oxford University Press, 2003.

SUI, Weiguo; OU, Minglin; CHEN, Jiejing; WAN, Youhua; PENG, Hongbo; QI, Minfang; HUANG, He; DAI, Young. **Comparison of immunohistochemistry (IHC) and fluorescence in situ hybridization (FISH) assessment for Her-2 status in breast câncer**. World J Surg Oncol. Vol. 7 Nov 2009. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2776594/> Acesso em 16 de agosto de 2017.

SUNDE, Pia T.; OLSEN, Ingar; GÖBEL, Ulf B.; THEEGARTEN, Dirk; WINTER, Sascha; DEBELIAN, Gilberto J.; TRONSTAD, Leif; MOTER, Annette. **Fluorescence in situ hybridization (FISH) for direct visualization of bacteria in periapical lesions of asymptomatic root-filled teeth**. Journal of Microbiological Methods, Vol.41, p.85-112, 2000. Disponível em: < http://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/micro/149/5/1095.pdf?expires=1502996764&id=id&accname=guest&checksum=2673E25191A1D42D3449A78E1E396369> Acesso em: 17 de agosto de 2017.

TIBILETTI, M.G. **Specificity of interphase fluorescence in situ hybridization for detection of chromosome aberrations in tumor pathology**. Cancer Genetics. Vol.155, ed.5, pg. 143-148. Dez 2004. Disponível em: < http://www.cancergeneticsjournal.org/article/S0165-4608(04)00118-9/fulltext> Acesso em: 18 de agosto de 2017.

VILARDI, Bruna M. R.; VILARDI, Taisa M. R. **Azul de Toluidina contra o câncer: bom e barato.** Faculdade de odontologia de Lins/ UNIMEP. Vol. 26, n 2, pg. 99-100, Jul/ Dez 2016. Disponível em: https://www.metodista.br/revistas/revistasunimep/index.php/Fol/article/viewFile/3168/1847. Acesso em: 2 de agosto de 2017.

VIRGO, Paul F.; GIBBS, Graham J. **Flow cytometry in clinical pathology**. Annals of Clinical Biochemistry. Vol. 49, pg.17-28, Jan 2012. Disponível em:< http://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1258/acb.2011.011128> Acesso em: 15 de agosto de 2017.

World Health Organization. Disponível em: https://www.iarc.fr/ Acesso em: 15 de fevereiro de 2017.

YANG, Haining; TESTA, Joseph R.; CARBONE, Michele; **Mesothelioma Epidemiology, Carcinogenesis and Pathogenesis.** Curr Treat Options Oncol. 9(2-3): 147–157. Jun 2008. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2717086/>. Acesso em: 5 de julho de 2017.

XIO, S.; LI, D.; VIJQ, J.; SUGARBAKER, D.J.; CORSON, J.M.; FLETCHER, J.A. **Codeletion of p15 and p16 in primary malignant mesothelioma**. Oncogene. Vol.11, n.3, pg.511-515. Ago 1995. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7630635> Acesso em: 6 de julho de 2017.

ANEXO

DECLARAÇÃO

Eu, Rosana Beatriz Pinheiro da Silva, portadora do documento de identidade RG 7102271058, CPF n° 02523223040, aluna regularmente matriculada no curso de Pós- Graduação Citologia Clínica, do programa de *Lato Sensu* do INESP– Instituto Nacional de Ensino Superior e Pesquisa, sob o n° CC16010916 declaro a quem possa interessar e para todos os fins de direito, que:

1. Sou a legítima autora da monografia cujo título é: **"O Diagnóstico do Mesotelioma",** da qual esta declaração faz parte, em seus ANEXOS;
2. Respeitei a legislação vigente sobre direitos autorais, em especial, citado sempre as fontes as quais recorri para transcrever ou adaptar textos produzidos por terceiros, conforme as normas técnicas em vigor.

Declaro-me, ainda, ciente de que se for apurado a qualquer tempo qualquer falsidade quanto ás declarações 1 e 2, acima, este meu trabalho monográfico poderá ser considerado NULO e, consequentemente, o certificado de conclusão de curso/diploma correspondente ao curso para o qual entreguei esta monografia será cancelado, podendo toda e qualquer informação a respeito desse fato vir a tornar-se de conhecimento público.

Por ser expressão da verdade, dato e assino a presente DECLARAÇÃO,

Em Recife, 25 / Setembro de 2017.

Assinatura do (a) aluno (a)

Autenticação dessa assinatura, pelo funcionário da Secretaria da Pós-Graduação *Lato Sensu*