

IV SEMANA DO CONHECIMENTO

COMPARTILHANDO E FORTALECENDO
REDES DE SABERES

6 A 10 DE NOVEMBRO DE 2017



Marque a opção do tipo de trabalho que está inscrevendo:

☒ (X) Resumo

☐ () Relato de Caso

GIEMSA COMO ALTERNATIVA DE CONTRACOLORAÇÃO PARA AVALIAÇÃO IMUNO- HISTOQUÍMICA DO MECA-79 E DO PDL-1 EM MELANOMAS CUTÂNEOS PRIMÁRIOS PIGMENTADOS

AUTOR PRINCIPAL: Rafael Rodriguez Dache

CO-AUTORES: Josiane Borges Stolfo, Rubens Rodriguez e Adriana Costa da Motta.

ORIENTADOR: Adriana Costa da Motta

UNIVERSIDADE: Universidade de Passo Fundo

INTRODUÇÃO:

Melanomas fortemente pigmentados, nos quais muitos melanófagos e melanócitos com abundante pigmento estão presentes são um achado frequente e mais difíceis de avaliar em secções coradas com hematoxilina-eosina (HE) de rotina. Técnicas complementares de diagnóstico, como o estudo imunohistoquímico (IHQ), usando o cromógeno diaminobenzidina (DAB) e a contracoloração com Hematoxilina de Harris (HH) gera um produto final de coloração marrom, difícil de distinguir da melanina. Neste sentido, a modificação na técnica de contracoloração, utilizando Giemsa, com a qual os grânulos de melanina de melanófagos e/ou melanócitos coram em verde, é uma alternativa para a detecção IHQ de anticorpos como o MECA-79 e o PDL-1. O excelente contraste da coloração marrom observada nas áreas positivas para estes anticorpos com o verde produzido nos grânulos de melanina torna mais fácil a interpretação dos resultados.

DESENVOLVIMENTO:

Foi realizado um estudo retrospectivo de 60 melanomas cutâneos primários humanos no período de abril de 2014 a abril de 2016 em um Laboratório de Patologia do Norte do Rio Grande do Sul. Foram incluídos casos de ressecção completa de melanoma cutâneo primário dos tipos melanoma extensivo superficial (MES), melanoma nodular (MN), lentigo maligno melanoma (LMM) e melanoma acral lentiginoso (MAL). Foram excluídos os casos de biópsia incisional, melanoma “in situ”, lentigo maligno, lesões metastáticas, melanomas inclassificáveis ou casos com pouco material embocado em parafina que inviabilizasse a realização do estudo IHQ. Melanomas altamente pigmentados foram incluídos na análise.

IV SEMANA DO CONHECIMENTO

COMPARTILHANDO E FORTALECENDO
REDES DE SABERES

6 A 10 DE NOVEMBRO DE 2017



O estudo IHQ foi realizado no material fixado em formalina e embebido em parafina, utilizando os anticorpos monoclonais Peripheral Node Adressin (clone MECA-79®; 0,5 mg; Novus Biological) e o anticorpo PDL-1 (clone E1L3N® Cell Signaling) em cortes de 3µm. Os respectivos controles positivos foram tonsila palatina e placenta. O cromógeno utilizado foi o DAB e todas as lâminas foram contracoloradas com a técnica de Giemsa.

A contracoloração com Giemsa produziu um fundo azul-claro ou róseo-claro, pigmento melânico fortemente corado em verde, contrastando com o marrom produzido pelo DAB. Esta técnica foi utilizada em todos os casos, para a avaliação da densidade de vasos de endotélio alto (VEA), através do MECA-79, e a expressão membranar do PDL-1 nos melanócitos malignos.

O estudo IHQ com MECA-79 E PDL-1 usando o cromógeno DAB e a contracoloração com o Giemsa é uma simples modificação técnica muito útil para distinguir melanócitos e melanófagos altamente pigmentados da marcação produzida pela positividade deste anticorpos. O uso do cromógeno aminoethylcarbazole (AEC) poder ser uma alternativa para manter a contracoloração com HH, produzindo uma marcação vermelha que nem sempre pode ser distinguida da melanina. Além disso, o AEC é solúvel em álcool e xilol, não permitindo uma lâmina permanente, podendo ser montada somente em meio aquoso. Por outro lado, o uso da contracoloração com Giemsa utilizando o cromógeno DAB permite uma lâmina permanente, mais estável e insolúvel em álcool e xilol. Destaca-se que com o uso da contracoloração com Giemsa obtém-se excelente contraste, permitindo distinguir melanócitos e melanófagos das áreas imunomarcadas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS:

Enfatizamos aqui, a utilidade de uma simples modificação da técnica para MECA-79 E PDL-1 com DAB como cromógeno e Giemsa como contracoloração. O excelente contraste produzido facilita a leitura e interpretação da lâmina, permitindo a distinção entre melanófagos somente, melanócitos malignos pigmentados e a positividade do anticorpo estudado.

REFERÊNCIAS:

1. Ravishankar, S.. et al. Giemsa is the optimal counterstain for immunohistochemical detection of BRAF V600E mutation status in pigmented melanomas. Journal of Cutaneous Pathology. 1-3, 2016.
2. Kamino H, Tam ST. Immunoperoxidase technique modified by counterstain with azure B as a diagnostic aid in evaluating heavily pigmented melanocytic neoplasms. Journal of Cutaneous Pathology. 18: 436, 1991.

IV SEMANA DO CONHECIMENTO

COMPARTILHANDO E FORTALECENDO
REDES DE SABERES

6 A 10 DE NOVEMBRO DE 2017



3. Thomson, W., et al. Comparison of five antimelanoma antibodies for identification of melanocytic cells on tissue sections in routine dermatopathology. Am Acad Dermatol. 21:1280-4, 1989

NÚMERO DA APROVAÇÃO CEP OU CEUA (para trabalhos de pesquisa): Número da aprovação.

ANEXOS:

Poderá ser apresentada somente uma página com anexos (figuras e/ou tabelas), se necessário.