

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE – UFCSPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA**

Péttala Rigon

**Diagnóstico diferencial das
neoplasias mesenquimais do trato
gastrointestinal pelo cell block e
imunoistoquímica em amostras de
PAAF endoscópica ecoguiada**

UFCSPA

**Universidade Federal de Ciências da Saúde
de Porto Alegre**
Porto Alegre
2017

Péttala Rigon

**Diagnóstico diferencial das
neoplasias mesenquimais do trato
gastrointestinal pelo cell block e
imunoistoquímica em amostras de
PAAF endoscópica ecoguiada**

Dissertação submetida ao Programa
de Pós-Graduação em Patologia da
Fundação Universidade Federal de
Ciências da Saúde de Porto Alegre
como requisito para a obtenção do
grau de Mestre

Orientador: Dr. Claudio Galleano Zettler
Co-orientador: Dr. Cesar Vivian Lopes

**Porto Alegre
2017**

Catálogo na Publicação

Rigon, Péttala

Diagnóstico diferencial das neoplasias mesenquimais do trato gastrointestinal pelo cell block e imunistoquímica em amostras de PAAF endoscópica ecoguiada / Péttala Rigon. -- 2017.

64 f. : il., tab. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Patologia, 2017.

Orientador(a): Prof. Dr. Cláudio Galleano Zettler ;
coorientador(a): Dr. Cesar Vivian Lopes.

1. cell block. 2. tumores do estroma gastrointestinal.
3. imunistoquímica. 4. punção aspirativa por agulha fina. 5. endossonografia. I. Título.

Agradecimentos

À família que sempre apoiou minhas decisões e aos mestres que aceitaram conduzi-las.

Agradeço ainda aos colegas que me incentivaram a estudar e pesquisar sempre em busca do conhecimento. Obrigada Dra. Giovana Tavares, que não permitiu que eu desistisse de nenhuma idéia e me ajudou a construir este trabalho; Greyce Belini Rodrigues que me auxiliou com a pesquisa; Fernanda Correa Pinto que dividiu comigo os momentos de aflição e de conquistas.

Sumário

Agradecimentos	II
Lista de abreviaturas	IV
Lista de quadros e tabelas	V
Lista de imagens	VI
Resumo	VII
1. Introdução	11
1.1 Revisão da literatura	12
1.1.1 Aspectos histopatológicos e epidemiológicas das lesões subepiteliais do trato gastrointestinal	12
1.1.2 Diagnóstico histopatológico das lesões subepiteliais do trato gastrointestinal	17
1.1.3 Comportamento clínico e tratamento das principais lesões subepiteliais do trato gastrointestinal	21
1.1.4 Métodos de obtenção das amostras das lesões subepiteliais do trato gastrointestinal para avaliação histopatológica	25
1.1.5 Métodos de diagnóstico cito/histopatológico das lesões subepiteliais do trato gastrointestinal	28
2. Objetivos	37
3. Artigo científico	38
4. Considerações finais	56
5. Anexos	57

Lista de abreviaturas utilizadas

C-KIT: proteína receptora de tirosina-quinase

EUS: endoscopic ultrasonography

FNA: fine needle biopsy

GIST: gastrointestinal stromal tumor/tumor do estroma gastrointestinal

HE: Hematoxilina-eosina

IHC: immunohistochemistry

IHQ: imunoistoquímica

MALT: Mucosa-associated lymphoid tissue/tecido linfoide associado à mucosa

NEC: neuroendocrine carcinoma/carcinoma neuroendócrino

NET: neuroendocrine tumor/tumor neuroendócrino

PAAF: punção aspirativa por agulha fina

PDGFR: receptor de fator de crescimento derivado de plaquetas SMA: smooth muscle actin/actina de músculo liso

Lista de quadros e tabelas

Quadro 1 - Risco de progressão de doença dos GISTs	22
Tabela 1 - Variáveis e categorias usadas para o estudo	
<i>Table 1 - Variables and categories used for the study</i>	53
Tabela 2 - Variáveis e categorias usadas para o estudo	
<i>Table 2 - Subepithelial lesions and involved organ</i>	54
Tabela 3 - Painel imunoistoquímico das neoplasias mesenquimais	
<i>Table 3 - Immunohistochemical panel of mesenchymal neoplasms</i>	54
Tabela 4 - Avaliação dos materiais considerados inconclusivos	
<i>Table 4 - Evaluation of materials considered inconclusive</i>	55

Lista de figuras

Figura 1 - Camadas anatômicas do trato gastrointestinal	13
Figura 2 - GIST fusocelular	17
Figura 3 - GIST epitelióide	19
Figura 4 - Procedimento para realização do cell block	29
Figura 5 - GIST metastático no fígado	30

Resumo

Introdução

As lesões subepiteliais do trato gastrointestinal são detectadas em 0,36% a 3,5% das endoscopias gastrointestinais, sendo constituídas, em sua grande maioria, por afecções benignas ou com potencial maligno. O diagnóstico definitivo destas lesões será alcançado pelo exame histopatológico de biópsias obtidas por diversas técnicas, sendo a punção aspirativa (PAAF) guiada por ultrassonografia endoscópica um método minimamente invasivo, seguro e de grande acurácia. O processamento do material aspirado, especialmente quando da obtenção de material em pequena quantidade, será feito pela técnica de emblocamento em parafina ou *cell block*.

Objetivos

Avaliar o papel da técnica de emblocamento celular na obtenção do diagnóstico diferencial de neoplasias subepiteliais do trato gastrointestinal, especialmente tumores estromais gastrointestinais (GISTs) e leiomiomas. Indicar o perfil das lesões subepiteliais submetidas à biópsia endoscópica com agulha fina guiada por ultra-sonografia. Avaliar a utilidade da PAAF ecoguiada na obtenção de material adequado para análise histopatológica.

Materiais e métodos:

O estudo possui um carácter descritivo, pois avalia os resultados do método de diagnóstico. Os blocos celulares foram avaliados quanto à presença ou ausência de tecido neoplásico, e quanto aos resultados da imunoistoquímica com os marcadores SMA, CD117, DOG1 e S100.

Resultados:

Os resultados mostraram uma eficácia de 85,4% de positividade para neoplasia, sendo diagnosticados 44 (27,8%) GISTs, todos os positivos para CD117, 42 positivos para DOG1 e 18 positivos para SMA. Foram ainda evidenciados 66 leiomiomas, 1 leiomiossarcoma e 2 schwannomas.

Conclusão:

Acreditamos que a eficácia da PAAF endoscópica ecoguiada, que é um método de diagnóstico pouco invasivo, combinada com o cell block e a imunohistoquímica, demonstra benefícios para pacientes que precisam de tratamento definitivo para neoplasias mesenquimais malignas e com comportamento incerto/potencial maligno (GIST).

Palavras-chave: cell block, ecoendoscopia, PAAF, GIST, imunohistoquímica

Abstract

Introduction

Subepithelial lesions of the gastrointestinal tract are detected in 0.36% to 3.5% of gastrointestinal endoscopies, and are mostly composed of benign conditions or conditions of malignant potential. The definitive diagnosis of these lesions will be achieved by histopathological examination of biopsies obtained by several techniques, being the fine needle aspiration (FNA), guided by endoscopic ultrasonography (EUS), a minimally invasive, safe and highly accurate method. The processing of the aspirated material, especially when obtaining material in small quantity, will be done by the paraffin embedding technique or cell block.

Aims

To evaluate the role of the cell block technique in obtaining the differential diagnosis of subepithelial neoplasias of gastrointestinal tract, especially gastrointestinal stromal tumors (GISTs) and leiomyomas. Indicate the profile of the subepithelial lesions submitted to endoscopic ultrasound-guided fine needle biopsy. To evaluate the usefulness of the FNA in obtaining adequate material for histopathological analysis.

Methods and results:

The study has a descriptive character, as it evaluate the results of e diagnostic method. Cell blocks were evaluated for presence or absence of lesion tissue, submitted to immunohistochemistry with the markers SMA, CD117, DOG1 and S100. The results showed an efficacy of 85.4% positivity for neoplasia, being diagnosed 44 (27.8%) GISTs, all CD117 positives, 42 DOG1 positives and 18 SMA positives. In addition there was one leiomyosarcoma.

Conclusions:

We believe the efficacy of FNA, which is a low-invasive diagnostic method, combined with cell block and immunohistochemistry, demonstrates benefits for patients who need definitive treatment for malignant mesenchymal neoplasms and those with uncertain behavior (GIST).

Key-Words: cell block, EUS-FNA, GIST, immunohistochemistry,

1. Introdução

As lesões subepiteliais do trato gastrointestinal são detectadas em 0,36% a 3,5% das endoscopias gastrointestinais, sendo constituídas, em sua grande maioria, por afecções benignas ou com potencial maligno. As principais lesões subepiteliais do trato gastrointestinal são os GISTs, leiomiomas, schwannomas e pâncreas ectópico. O diagnóstico destas lesões somente será definido pelo exame histopatológico de biópsias obtidas por diversas técnicas, sendo a punção aspirativa guiada por ultrassonografia endoscópica um método minimamente invasivo, seguro e de grande acurácia. As técnicas aplicadas ao material aspirado, podem ser tanto o esfregaço citológico, o cell block ou ambas as técnicas combinadas. O emblocamento em parafina, ou cell block, é uma técnica de execução simples, portanto de extensa disponibilidade, e que, diferentemente do esfregaço citológico, mantém a integridade tecidual, facilitando a análise histológica e permitindo a realização de técnicas complementares, especialmente a imunoistoquímica.

No presente estudo, pretendemos avaliar a acurácia da técnica de cell block em material obtido de lesões subepiteliais do trato gastrointestinal por meio da punção aspirativa por agulha fina ecoguiada na endoscopia.

1.1. Revisão da literatura

1.1.1. Aspectos histopatológicos e epidemiológicos das lesões subepiteliais do trato gastrointestinal

As lesões subepiteliais do trato gastrointestinal são assintomáticas em sua grande maioria, sendo detectadas como achado incidental em 0,36% a 3,5% dos exames de endoscopia (Handebro e cols., 1991; Lim e cols., 2010; Song e cols., 2015).

A parede dos órgãos tubulares do sistema digestório (esôfago, estômago, intestinos delgado e grosso) é constituída por cinco camadas de fácil distinção histológica: mucosa (com sua lâmina própria), muscular da mucosa, submucosa, muscular própria e serosa (ou adventícia no esôfago e reto)(figura 1). As lesões subepiteliais provém de qualquer camada sob a camada mucosa (epitelial), sendo os sítios mais comuns as camadas submucosa e muscular própria, devido à presença em maior número das células de Cajal e das células musculares lisas, que dão origem às principais neoplasias subepiteliais do trato gastrointestinal (Imaoka, 2005).

Figura 1 - Camadas anatômicas do trato gastrointestinal

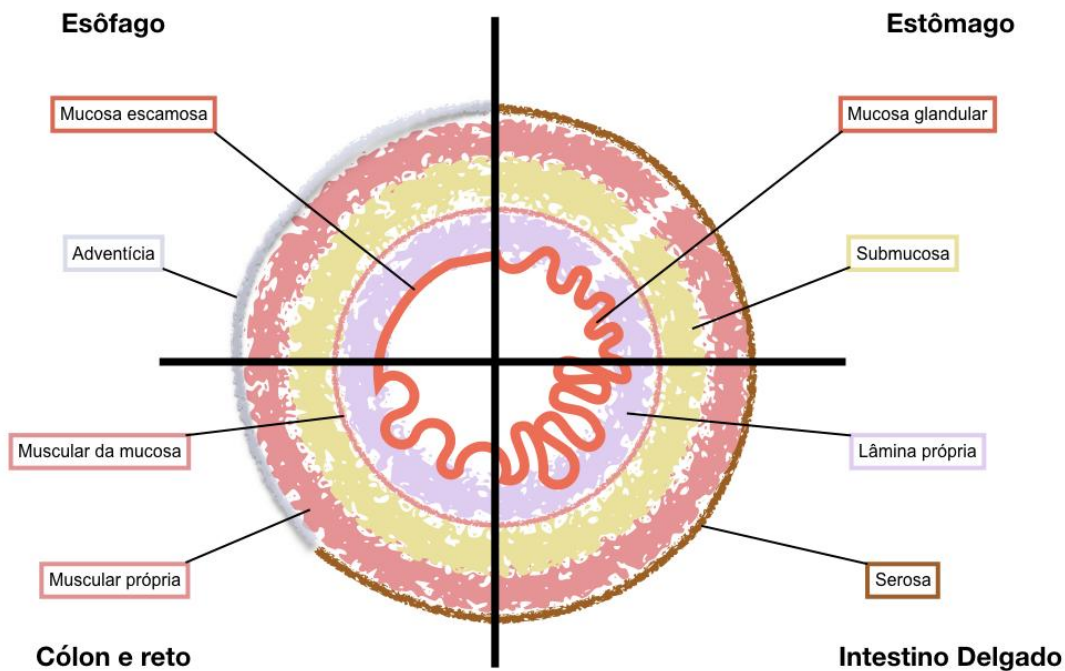


Figura 1 - Ilustração esquemáticas das camadas anatômicas do trato gastrointestinal. As camadas muscular própria e submucosa são as mais afetadas pelas lesões subepiteliais do trato gastrointestinal.

Fonte: a autora.

Os tumores subepiteliais mais encontrados e para os quais o diagnóstico diferencial apresenta maior relevância clínica são os tumores do estroma gastrointestinal (os GISTs) e os leiomiomas. O primeiro apresenta reconhecido potencial maligno e o segundo, evolução benigna costumeiramente indolente (Fletcher e cols., 2002; Eckardt e cols., 2005; Lim e cols., 2010).

Os GISTs podem afetar qualquer parte do trato gastrointestinal, mas apresentam maior incidência no estômago, cerca de 60% a 70% (Fletcher e cols., 2002; Eckardt e cols., 2005; Demetri e cols., 2010). Os tumores estromais gastrointestinais tem sua origem nas células de Cajal, (amplamente distribuídas nas camadas submucosa, intramuscular e intermuscular associadas às redes terminais

de nervos simpáticos) as quais são responsáveis pela motilidade intestinal, e portadoras do receptor tirosina-quinase c-KIT (CD117). As células de Cajal imaturas, quando em estado normal, se proliferam e diferenciam através do estímulo do fator ligante de célula-tronco nas proteínas transmembrana C-KIT e PDGFR. Os receptores de tirosina-quinase (C-KIT) e do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGFRa) são oriundos de um mesmo ancestral genético, no cromossomo 4. Quando há mutação dos nos genes *KIT* e/ou *PDGFR* (majoritariamente nos exon 11 do *KIT* e no exon 18 do *PDGFR*) ativa-se a cadeia de proliferação mesmo sem o fator ligante, e promove-se a proliferação das células de Cajal imaturas sem a diferenciação adequada (Fletcher e cols., 2002; Eckardt e cols., 2005; Demetri e cols., 2010; Chetty e Serra, 2016). As mutações *KIT* e *PDGFR* correspondem a cerca de 80 a 90% dos GISTs. Dentre os 10% a 20% dos tumores sem alteração de *KIT* e *PDGFR*, as mutações da succinato-desidrogenase (SDH), correspondem a 40% destes casos (10% a 15% do total) e também são chamados de tipo selvagem duplo. Resumidamente, essa mutação induz uma superexpressão de receptores de fatores de crescimento celular, acarretando a replicação celular desenfreada (Chetty e Serra, 2016). Há um terceiro grupo de GISTs, chamados de tipo selagem triplo, que não exhibe nenhuma das mutações acima citadas, e pode carregar mutação *BRAF* ou *RAS*, correspondendo a aproximadamente 3% de todos os GISTs. A quarta parte dos GISTs, que correspondem a cerca de 5% de todos esses tumores, são chamados de tipo selvagem quádruplo, pois não exibem nenhum tipo de mutação conhecida até os dias de hoje (Chetty e Serra, 2016).

Os leiomiomas são tumores provenientes das células musculares lisas das camadas musculares da parede do sistema digestório. Representam o tumor

mesenquimal mais comum do esôfago, responsáveis por 60 a 70% das neoplasias esofágicas, e cerca de 25% dos tumores benignos de músculo liso do trato gastrointestinal (Hatch e cols., 2000; Lee e cols., 2004). Eles levam a sintomas compressivos ou ulceração e eventual sangramento apenas quando apresentam grandes dimensões. São mais comuns em homens, e a sua frequência aumenta ao longo do esôfago (quanto mais distal, maior a incidência). Ocorrem também no estômago, sendo um dos principais diagnósticos diferenciais com GISTs (Fletcher e cols., 2013). A sua contraparte maligna, o leiomiossarcoma, é uma neoplasia raríssima, representando 0,5% a 1,5% de todas as malignidades esofágicas (Hatch e cols., 2000).

Os schwannomas gastrointestinais são tumores benignos e de crescimento lento considerados tumores distintos dos schwannomas convencionais. Eles têm origem da bainha neural na parede intestinal, em vez do sistema nervoso central e dos tecidos moles. O estômago é o local mais freqüente de desenvolvimento destes tumores, sendo o corpo o local mais usual. Schwannomas ocorrem predominantemente em adultos com idade média de 58 anos, e predominantemente no sexo feminino, sendo lesões usualmente assintomáticas ou associadas a desconforto abdominal inespecífico (Zhong e cols., 2012).

Além dos tumores mesenquimais, outras lesões podem ser encontradas nas camadas subepiteliais do trato gastrointestinal. O pâncreas ectópico, ou heterotópico é uma lesão benigna, constituída por tecido pancreático sadio sem ligação anatômica com o pâncreas. Essa lesão é encontrada no estômago e duodeno e resulta, muito provavelmente, da migração longitudinal dos órgãos gastrointestinais (Kim e cols., 2009). Dentre as demais neoplasias ainda encontram-se os tumores neuroendócrinos (NETs), normalmente de evolução favorável, e os

carcinomas neuroendócrinos (NECs), com comportamento mais agressivo, originados nas células neuroendócrinas (como as enterocromafins), mais comumente encontrados no intestino delgado, apêndice, e intestino grosso (Fletcher e cols., 2013).

Os linfomas primários do trato gastrointestinal são mais comumente vistos junto ao revestimento epitelial da mucosa, porém, podem também estar presentes nas camadas submucosas apresentando-se como uma massa à endoscopia. Afora os tumores primários do trato digestivo, ainda é possível encontrar metástase de neoplasias primárias de outros sítios, como, carcinomas, adenocarcinomas, e melanomas (Polkowski, 2009; Fletcher e cols., 2013).

1.1.2 Diagnóstico histopatológico das lesões subepiteliais do trato gastrointestinal

As lesões subepiteliais podem ter seu diagnóstico preciso obtido somente com o emprego da análise histopatológica. A coloração pela hematoxilina e eosina (HE) é o método inicial de avaliação. Entretanto, tumores de origem mesenquimal (GIST, leiomioma e schwannoma) podem apresentar características sobreponíveis. Para realizar o diagnóstico diferencial destas lesões é fundamental a realização de estudo imunoistoquímico.

Os GISTs podem ser fusiformes, epitelioides ou mistos. Os tumores fusiformes apresentam células com núcleo alongado, citoplasma eosinofílico com um único vacúolo paranuclear. O estroma apresenta-se hialinizado, podendo ser calcificado e apresentar um componente mixoide. (Figura 2).

Figura 2 - GIST fusocelular

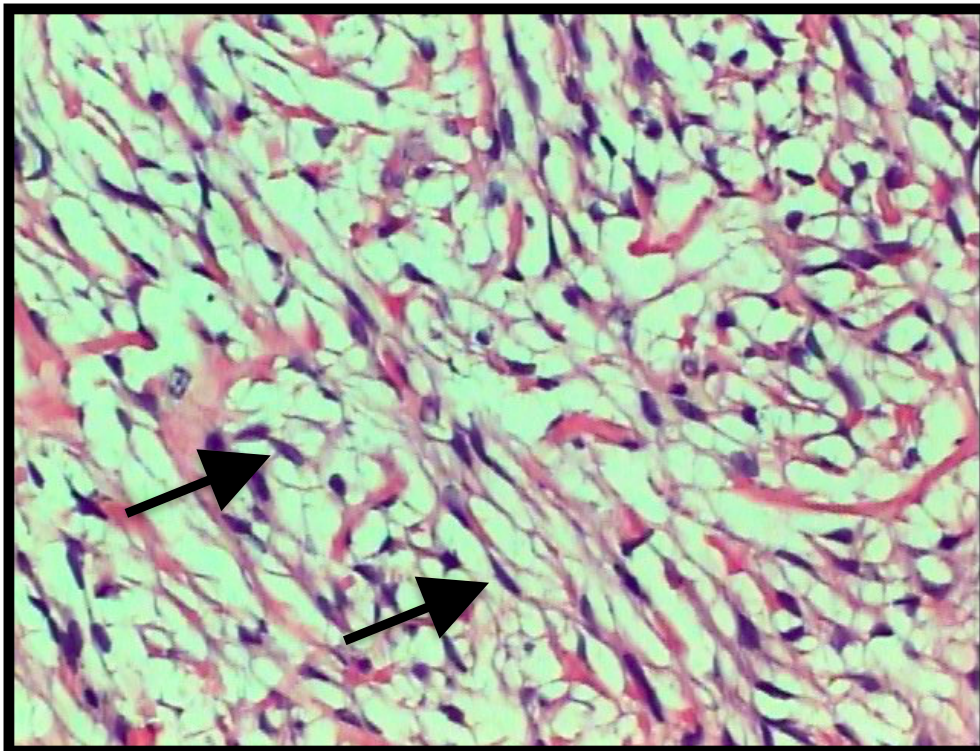


Figura 2 - GIST fusocelular, com núcleos alongados (setas) e citoplasma eosinofílico (200x).
Fonte: a autora.

Os GISTs epitelioides consistem em células vacuoladas, dispostas em ninhos, com vacúolos citoplasmáticos envolvendo total ou parcialmente o núcleo, podendo acarretar o surgimento de formas em anel de sinete. As características nucleares variam de arredondadas ou ovóides, com cromatina aberta e nucléolos pequenos, até grandes formas pleomórficas com grandes nucléolos eosinofílicos, os quais podem apresentar células gigantes multinucleadas, e estroma mixoide (Fletcher e cols., 2002; Fletcher e cols., 2013). (Figura 3). Há evidências que a morfologia fusiforme e mista esteja relacionada com a mutação *KIT*, enquanto a morfologia epitelióide esteja relacionada com a mutação *PDGFR* (Chetty e Serra, 2016). Além disso, a localização gástrica também é atribuída à mutação *KIT*, enquanto a localização em peritônio e retroperitônio tem mais relação com a mutação *PDGFR* (Chetty e Serra, 2016).

A atividade mitótica é variável, sendo um importante adjunto na determinação do comportamento maligno da lesão. O exame imunoistoquímico, além de ser indispensável para o diagnóstico diferencial lesões mesenquimais, orientam o tratamento quimioterápico quando necessário. Os GISTs são positivos para c-KIT (CD117)(cerca de 80% a 90%) e DOG-1 (mais de 90%), entretanto, estas lesões podem ser positivas para S100 e actina de músculo liso (SMA) (Fletcher e cols., 2002; Eckardt e cols., 2005; Demetri e cols., 2010; Hwang e cols., 2011). Essa heterogeneidade da positividade para SMA pode ser justificável pois as células de Cajal e as células musculares lisas tem origem na mesma célula tronco pluripotente (Miettinen e cols., 2000).

Figura 3 - GIST epitelióide

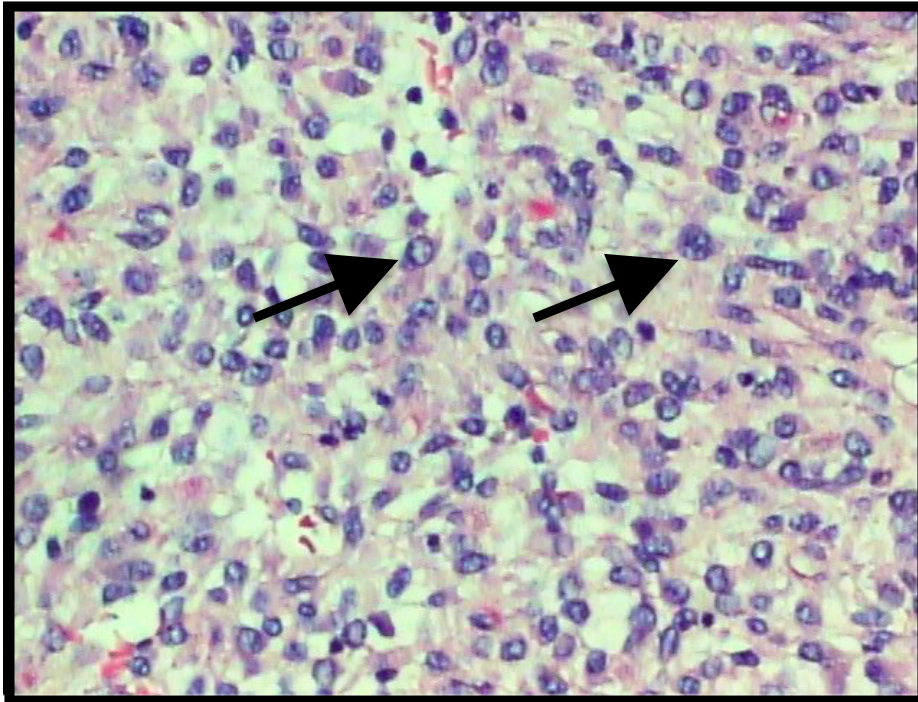


Figura 3 - GIST epitelióide, com núcleos arredondados e cromatina aberta (setas) (200x).
Fonte: a autora.

Os leiomiomas são compostos por feixes de células musculares lisas entremeadas com quantidades variáveis de colágeno. As células têm núcleos fusiformes, com citoplasma eosinofílico, e expressam actina de músculo liso (SMA), e desmina, sendo negativas para c-KIT e DOG-1 (Fletcher e cols., 2013).

Schwannomas são lesões raras, compostas por células fusiformes com citoplasma eosinofílico e núcleos ondulados ("wavy"), com frequente infiltrado linfocítico. O estudo imunoistoquímico é característico, exibindo expressão da proteína S100, e ausência dos marcadores c-KIT e DOG-1 (Voltaggio e cols., 2012; Fletcher e cols., 2013; Zhong e cols., 2012).

O pâncreas ectópico pode ser um diagnóstico difícil visto que é um tecido pancreático histologicamente normal. Portanto depende também da informação clínica e de imagem da localização exata da lesão, para excluir a possibilidade de uma punção pancreática equivocada (Kim e cols., 2009).

Os tumores neuroendócrinos (NETs) apresentam-se em ninhos organoides, com cromatina em sal e pimenta e são graduados em grau 1 ou 2 (G1 ou G2) de acordo com a contagem de mitoses. A expressão “carcinoma neuroendócrino” (NEC) é reservada para neoplasias neuroendócrinas pouco diferenciadas com alto índice mitótico, marcadas atipias e pleomorfismo celular. Tanto NETs como NECs são fortemente positivos, no estudo imunoistoquímico, para sinaptofisina e/ou cromatina, e podem expressar PAX-8 e CDX-2 (Fletcher e cols., 2013; Ilett e cols., 2015).

1.1.3 Comportamento clínico e tratamento das principais lesões subepiteliais do trato gastrointestinal

As lesões subepiteliais do trato gastrointestinal mais comuns podem ser tanto completamente benignas, como por exemplo o pâncreas ectópico, de potencial maligno, como GISTs; ou até mesmo malignas como leiomiossarcomas (Fletcher e cols., 2013). Por se tratarem de neoplasias com potencial maligno, os GISTs devem ser conduzidos de acordo com o seu tamanho à ecoendoscopia associado à avaliação histológica: acompanhamento (lesões incidentais assintomáticas, menores de 2,0cm com baixo índice mitótico); ou remoção cirúrgica para as demais lesões (Demetri e cols.,2010). O risco de progressão de doença dos GISTs (risco de metástase ou morte pela neoplasia) é avaliado de acordo com o tamanho, a atividade mitótica e a localização do tumor, conforme o quadro 1 (Miettinen e cols. 2006). Infelizmente, muitas vezes a quantidade de material lesional aspirado não contempla a extensão suficiente para avaliação do índice mitótico em 50 campos de grande aumento.

Quadro 1 - Risco de progressão de doença dos GISTs

Parâmetros do tumor		Risco de progressão de doença (%) conforme a localização do tumor			
	Tamanho do tumor	Estômago	Duodeno	Jejuno/Íleo	Reto
Contagem de mitoses ≤ 5 por 50 CGA	≤ 2 cm	Sem risco (0%)	Sem risco (0%)	Sem risco (0%)	Sem risco (0%)
	> 2 ≤ 5 cm	Muito baixo (1,9%)	Baixo (8,3%)	Baixo (4,3%)	Baixo (8,5%)
	> 5 ≤ 10 cm	Baixo (3,6%)	Sem dados suficientes	Moderado (24%)	Sem dados suficientes
	> 10 cm	Moderado (10%)	Alto (34%)	Alto (52%)	Alto (57%)
≤ 5 por 50 CGA	≤ 2 cm	Sem risco *	Sem dados suficientes	Alto *	Alto (52%)
	> 2 ≤ 5 cm	Moderado (16%)	Alto (50%)	Alto (73%)	Alto (52%)
	> 5 ≤ 10 cm	Alto (55%)	Sem dados suficientes	Alto (85%)	Sem dados suficientes
	> 10 cm	Alto (86%)	Alto (86%)	Alto (90%)	Alto (71%)

*Poucos casos relatados.

CGA: campos de grande aumento

Dados baseados em um longo acompanhamento de GISTs do estômago (1055), do duodeno (144); do jejuno/Íleo (629), e do reto (111).

Adaptado de Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors: pathology and prognosis at different sites. *Semin. Diagn. Pathol.* 2006;23:70-83

Os GISTs podem ainda ser tratados com o inibidor da tirosina-quinase, imatinibe, o qual tem sucesso para o tratamento de GISTs com mutação *KIT* ou *PDGFR*. Estudos dizem que antes do imatinibe a sobrevida em 5 anos, ficava entre 35% e 65% dos pacientes que obtivessem a ressecção cirúrgica total do tumor (Demetri e cols., 2010; Wang and Park, 2016).

Após a introdução da terapia alvo com o inibidor da tirosina-quinase, aproximadamente 90% dos pacientes com GIST apresentam resposta quimioterápica. Relata-se ainda uma redução dramática no volume tumoral de

pacientes com GIST metastático que receberam esta terapia (Wang and Park, 2016).

Atualmente, são candidatos ao imatinibe pacientes com GISTs de alto risco (quadro 1) que tiveram o tumor totalmente ressecado cirurgicamente, pacientes com tumor irresssecável, ou aqueles com tumor metastático. Os pacientes elegíveis à terapia alvo que obtiveram ressecção completa recebem 3 anos de terapia, e os demais recebem dosagem adicional. A resistência a este inibidor da tirosina-quinase existe, devido ao desenvolvimento de clones mutados, contudo, pode ser vencida com aumento da dose do imatinibe, ou ainda pela substituição por outro inibidor de tirosina-quinase, o sunitinibe. Infelizmente, resistência ao sunitinibe também pode ocorrer (Wang and Park, 2016)

Os schwannomas e pâncreas ectópicos são benignos e não necessitam ressecção cirúrgica (Kim e cols., 2009; Zhong e cols., 2012). Os leiomiomas também são lesões benignas, entretanto o tratamento deve levar em consideração diversos pontos: tamanho, localização e morfologia do tumor; e os sintomas e condição geral do paciente.

O consenso atual é de que só precisam ser removidas cirurgicamente as lesões em caso de sintomas como compressão e sangramento (Lee e cols., 2004; Hatch e cols., 2000). O tratamento de pacientes assintomáticos continua discutível. Alguns especialistas defendem o tratamento cirúrgico de tumores assintomáticos com base no seguinte: 1) a possibilidade de transformação maligna; 2) a possibilidade de iniciarem-se sintomas em momento desfavorável para a remoção cirúrgica; 3) a necessidade obter um diagnóstico histológico definitivo com análise ampla da lesão, excluindo-se malignidade. Aqueles que defendem o tratamento conservador (expectante) justificam-se baseados em: 1) a transformação

maligna em um leiomiossarcoma é extremamente rara (citam apenas 4 casos na literatura); 2) o crescimento é muito lento, podendo manter o mesmo tamanho por muitos anos; 3) o curso clínico é indolente, e muitos pacientes mantêm-se assintomáticos até a morte; 4) o trauma cirúrgico pode ser mais prejudicial para o paciente do que não receber tratamento algum. Em resumo, quando o leiomioma não causa sintomas, o médico e o paciente juntos devem julgar os riscos e benefícios ao escolher o tratamento, seja ele cirúrgico ou conservador (Lee e cols., 2004).

Linfomas são tratados com quimioterapia, de acordo com seu perfil imunohistoquímico, ou até mesmo podem receber tratamento antimicrobiano anti-*Helicobacter Pylori*, majoritariamente em alguns casos de neoplasias de baixo grau, como linfomas do tecido nodal associado à mucosa (MALT) (Ghimire e cols., 2011). As neoplasias neuroendócrinas, tanto NETs como NEC devem receber tratamento cirúrgico com margem cirúrgica livre, e alguns pacientes com NEC são candidatos à quimioterapia (Ilett e cols., 2015).

1.1.4 Métodos de obtenção das amostras das lesões subepiteliais do trato gastrointestinal para avaliação histopatológica

A histopatologia constitui o padrão-ouro para o diagnóstico definitivo das lesões subepiteliais, embora existam diversos métodos de imagem capazes de realizar o diagnóstico presuntivo destas lesões. Os métodos não invasivos como a tomografia computadorizada e a ressonância nuclear magnética não definem com exatidão de qual camada da parede a lesão é proveniente, nem permitem a coleta de material para avaliação histológica. A endoscopia é capaz de visualizar o abaulamento luminal causado pelo tumor subepitelial, mas também não distingue de qual camada provém a lesão. Além disso, biópsias endoscópicas raramente atingem as camadas mais profundas da parede. Outras técnicas endoscópicas invasivas, como videolaparoscopia, permitem a obtenção de material adequado ou mesmo a ressecção completa da lesão, porém às custas de maior risco de sangramento e perfuração (Loureiro e cols., 2016; Zhang, 2016). A melhor técnica, que combina diagnóstico e tratamento é a laparoscopia aberta, entretanto, como somente exames de imagem não são capazes de diagnosticar a etiologia histológica da lesão, faz-se necessário uma amostra de tecido (biópsia) para definir a conduta: cirúrgica ou expectante (Demetri e cols., 2010).

A ecoendoscopia, por sua vez, é pouco invasiva, avalia com grande acurácia de qual camada da parede provém a lesão, e permite a coleta de amostra tecidual por meio da punção aspirativa ecoguiada, especialmente para lesões provenientes da camada muscular própria, as quais podem apresentar achados semelhantes para lesões diversas (Polkowski, 2009; Lopes, 2013; Zhang, 2016). A imagem ecoendoscópica típica de um GIST é de uma massa sólida hipocogênica oriunda da camada muscular própria da parede gastrointestinal, (também identificada como

a quarta camada ultrassonográfica). Entretanto, essa aparência sonográfica é compartilhada por outros tumores como leiomiomas (principalmente no esôfago) e schwannomas. Estudos tentaram apontar características específicas para o diagnóstico presuntivo de GIST (tamanho maior que 40mm, ulceração, calcificação central), contudo, apenas a sensibilidade foi alta (cerca de 92% a 95%), enquanto a especificidade máxima beirou os 72% (Zhang, 2016).

A presença do citopatologista em sala no momento da punção ecoguiada é uma prática importante, visto que este profissional é capaz de avaliar a satisfatoriedade da punção, apesar de elevar o custo do exame. Esta prática é chamada de avaliação rápida in loco. Durante o procedimento, o endoscopista punciona a lesão, e o citopatologista faz o esfregaço e cora a lâmina (já fixada em álcool) com Giemsa pelo método Diff-Quik e analisa a presença de grupamentos celulares. Grupamentos celulares, epitelioides ou fusiformes são um resultado positivo, enquanto apenas hemácias e/ou elementos figurados do sangue são considerados um resultado negativo e deve ser realizada uma nova punção (Tamura e cols., 2017).

Conforme um estudo de 167 PAAFs hepáticas, após a realização da avaliação rápida in loco, o material restante deve ser fixado em formol ou álcool 95% para a realização do cell block, ou ainda manter apenas o esfregaço citológico. Comparativamente, esse estudo demonstrou que a avaliação in loco com somente o esfregaço citológico teve uma maior taxa diagnóstica do que somente o cell block. Ademais, as duas técnicas combinadas mostraram maior acurácia do que somente o cell block, sem diferença estatística significativa entre somente o esfregaço e as técnicas combinadas. Vale ressaltar que, neste estudo, o material destinado ao cell block era sempre o restante do material da seringa de onde já havia sido feito o

esfregaço (Ceyhan, 2006). Outros estudos mostram que idealmente, as técnicas devem ser complementares, visto que a presença do citopatologista em sala realizando a avaliação rápida da punção ecoguiada aumenta, conforme os autores, em cerca de 10% a 15% a conclusão do diagnóstico, com ou sem a realização do cell block (Klapman e cols., 2003; Tamura e cols., 2017). Entretanto, uma meta-análise, que avaliou 17 estudos de PAAF de lesões subepiteliais do trato gastrointestinal alto, demonstrou que não houve diferença significativa da acurácia diagnóstica entre o uso ou não da avaliação rápida in loco (Zhang e cols., 2016). Todos os estudos, cujo método diagnóstico incluiu o cell block, são unânimes quanto a maior sensibilidade do cell block em relação ao uso unicamente do esfregaço citológico, e mostram ainda mais uma vantagem que é a possibilidade de classificação da etiologia da lesão em vez de somente o diagnóstico positivo ou negativo para malignidade (Ardengh e cols., 2008; Zhang e cols., 2016; Tamura e cols., 2017).

1.1.5 Métodos de processamento da amostra para diagnóstico cito/histopatológico das lesões subepiteliais do trato gastrointestinal

A técnica de cell block é realizada quando obtém-se material de punções aspirativas e busca-se manter parte da estrutura histológica tecidual para avaliação de uma lesão. Durante o procedimento de ecoendoscopia digestiva alta, identifica-se a lesão subepitelial e é realizada a punção por agulha fina ecoguiada obtendo-se material da lesão. Existe mais de uma técnica para o processamento do material aspirado, sendo que nesta instituição, a técnica consiste em centrifugar a amostra a 1300 rotações por minuto (RPM) por 10 minutos; desprezar o sobrenadante; adicionar fixador (que também funciona como aglutinador); aguardar o tempo necessário conforme a amostra (1 hora para pequenos sedimentos e 3h para sedimentos maiores); desprezar o fixador; mover o sedimento para a cápsula histológica, e, a partir deste momento, seguir a rotina das técnicas histológicas usuais como ilustrado esquematicamente na figura 3 e descrito nos Procedimentos Operacionais Padrão da instituição (anexos 1 e 2)(Nathan e cols.,2000). Como resultado final obtém-se sedimento suficiente para a avaliação histológica e estudo imunoistoquímico. Existe ainda o método de preparação com agarose (um agar bacteriano que embebe o material centrifugado), que caracteriza-se por ser um gel que solidifica, e é colocado no cassete histológico, sem a necessidade da transferência manual do material para o papel filtro, seguido do processamento usual (Ardengh e cols., 2008; Choi e cols., 2014).

Figura 4 - Preparação do cell block

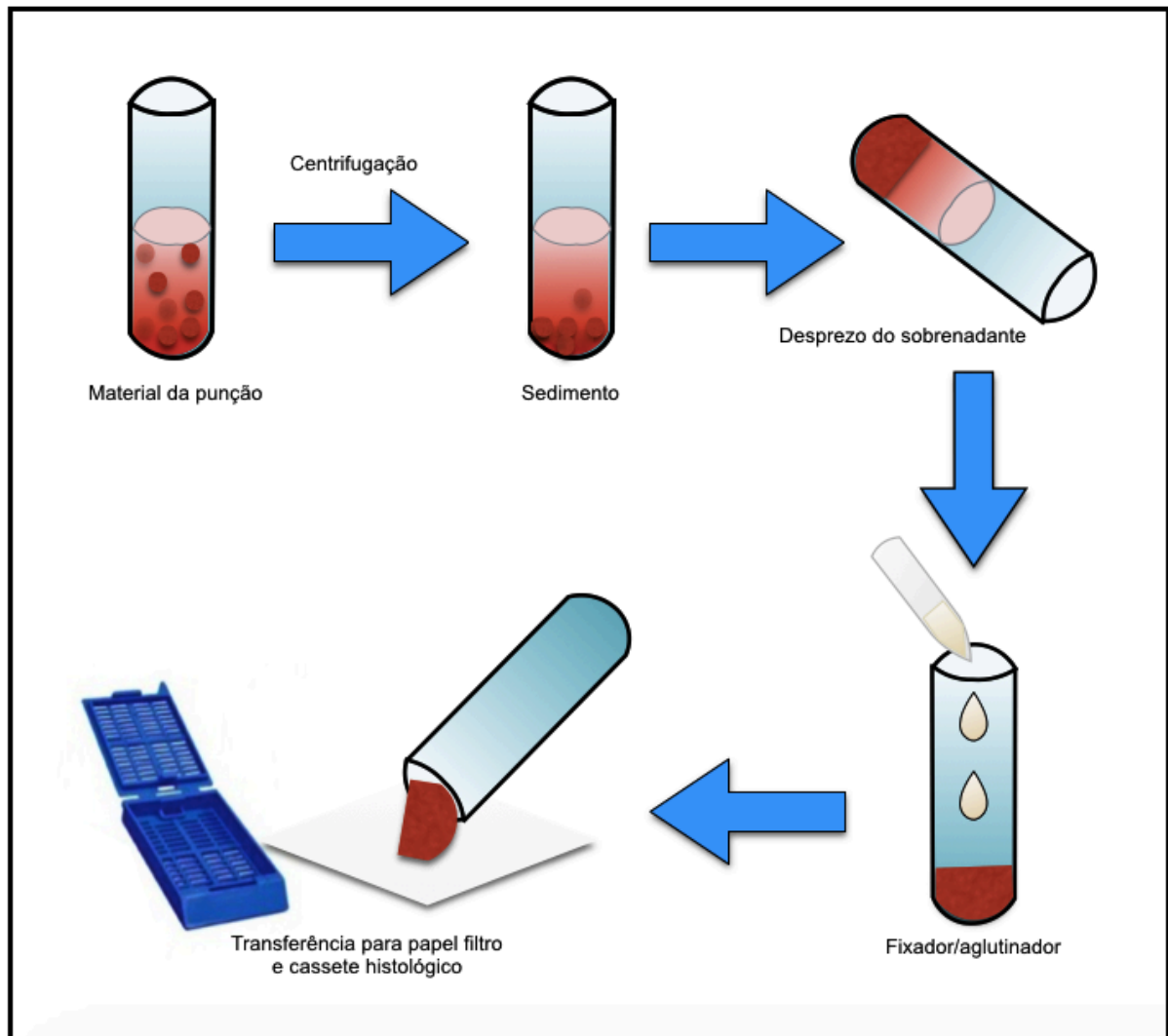


Figura 4 - Ilustração esquemática dos passos do procedimento para realização do cell block
Fonte: a autora

Durante a coleta (punção) a agulha atravessa as camadas superficiais dos órgãos até penetrar a lesão e trazer pequenos fragmentos do tumor (Nathan e cols., 2000; Khan e cols., 2003; Ieni e cols., 2015). Muitas vezes traz também, com o material lesional, fragmentos do epitélio de revestimento normal do órgão puncionado. Além do epitélio, é possível também que outras estruturas normais também apareçam: músculo liso, estruturas vasculares, estruturas neurais. O resultado deste preparo é um bloco de parafina, contendo um aglomerado de

células (cell block), ou, muitas vezes microfragmentos de tecido, equivalentes a uma microbiópsia, o que difere da citologia, conforme exemplificado na figura 5 (Nathan e cols., 2000). Este bloco de parafina permite mais de um nível de corte histológico, realização de um painel de marcadores imunoistoquímicos mais extenso, e pode ser arquivado por muitos anos sem perder a qualidade do material, assim, se surgirem novos marcadores imunoistoquímicos, eles podem ser realizados no material embocado (Nathan e cols.,2000; Ieni e cols., 2015).

Figura 5 - GIST metastático no fígado

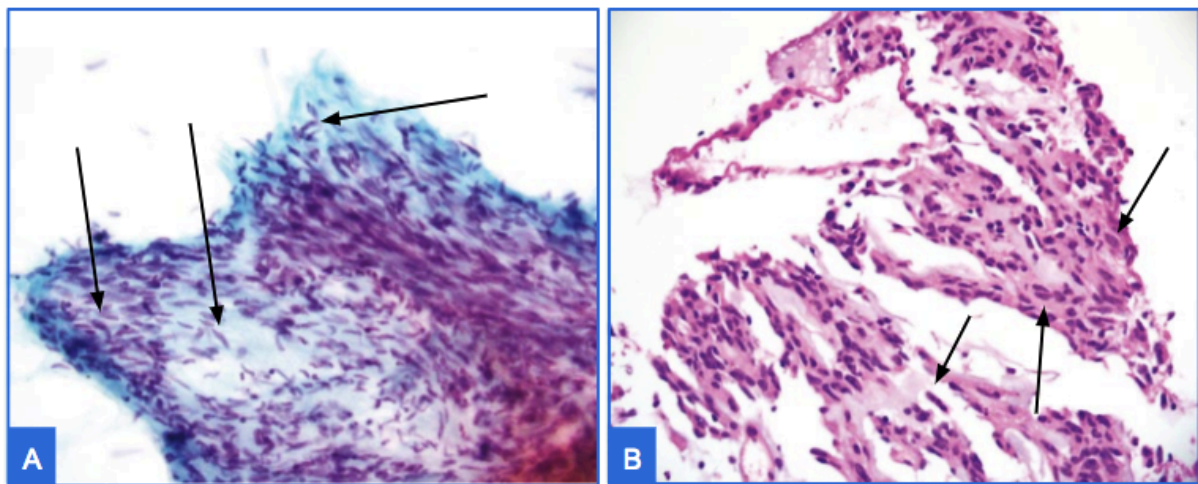


Figura 5 - PAAF de GIST metastático. A) Esfregaço citológico, corado pelo Papanicolau, mostrando células fusiformes com atipias (setas). B) Corte histológico do cell block, corado pelo HE, mostrando a arquitetura da lesão e as atipias das células fusiformes (setas).

Adaptado de : Cibas, Edmund S, and Barbara S. Ducatman. Cytology: Diagnostic Principles and Clinical Correlates. 3rd ed. Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier, 2009:380.

O material coletado por punção pode ainda ser submetido a esfregaço citológico, que se dá pela sua distensão em lâminas e a imediata fixação em álcool 95%, para evitar o dessecamento (secar devido ao contato com o ar) do esfregaço (Naib, 1990). Após a fixação, a coloração escolhida pode ser realizada (usualmente papanicolau ou HE). O resultado obtido é um lençol de células agrupadas ou descosadas que devem ser analisadas pelo citopatologista. Este vai considerar

características como tamanho nuclear, amoldamento celular, sobreposição celular para julgar como positivo ou negativo para lesão. Existe a possibilidade de realizar estudo imunoistoquímico em material de esfregaço citológico. Alguns estudos defendem esta metodologia enquanto outros julgam que ela pode não ser válida, pois a fixação em álcool 95% pode acarretar em eventuais resultados falso-negativos para CD117, DOG1 e S100 (Hwang e cols., 2011; Fowler and Lachar, 2008).

Ainda, para alguns autores o cell block mostra-se superior ao esfregaço citológico quanto à sensibilidade e acurácia diagnóstica, com uma diferença significativa de 85,2% para 61% , e 86,5% para 68%, respectivamente, em favor do cell block, enquanto a especificidade não demonstrou diferença significativa em um estudo de 178 casos (Ardengh e cols., 2008). Outro estudo, uma meta-análise, sugeriu que o cell block detém um melhor poder diagnóstico entretanto, o intervalo de confiança incluiu a unidade e, portanto o valor p foi maior que 0,05 nos testes estatísticos (valor p encontrado de 0,061) (Zhang e cols., 2016). Os estudos, cujo método diagnóstico incluiu o cell block, são unânimes quanto a possibilidade de classificação da etiologia da lesão em vez de somente o diagnóstico positivo ou negativo para malignidade, mostrando mais esta vantagem do cell block isoladamente ou combinado com o esfregaço citológico (Ardengh e cols., 2008; Zhang e cols., 2016; Tamura e cols., 2017).

A biópsia simples da lesão pode ser realizada para lesões mais superficiais, e analisada em cortes histológicos usuais, porém não é indicada para lesões profundas, como os GISTs e outras afecções mesenquimais que usualmente são originados na camada muscular própria ou na submucosa. Entretanto, tumores grandes, principalmente GISTs, podem ocupar a muscular da mucosa e até mesmo

a lâmina própria, sendo identificados nas biópsias comuns do trato gastrointestinal (Ardengh e cols., 2008; Lopes, 2013). As neoplasias neuroendócrinas e linfomas, apesar do efeito de massa subepitelial, são facilmente alcançados nas biópsias usuais desses órgãos (Ghimire e cols., 2011; Ilett e cols., 2015).

Referências:

Ardengh JC, Lopes CV, Lima LFP, Venco F, Santo GC, Begnami M, Modena JLP. Cell block technique and cytological smears for the differential diagnosis of pancreatic neoplasms after endosonography-guided fine-needle aspiration. *Acta Gastroenterológica Latinoamericana* 2008;38:246-51.

Ceyhan K, Kupana SA, Bektas M, Coban S, Tuzun A, Cinar K, et al. The diagnostic value of on-site cytopathological evaluation and cell block preparation in fine-needle aspiration cytology of liver masses. *Cytopathology*. 2006;17:267–74.

Chetty R, Serra S. Molecular and morphological correlation in gastrointestinal stromal tumours (GISTs): an update and primer *Journal of Clinical Pathology* 2016;69:754-760.

Choi SJ, Choi YI, Kim L, et al. Preparation of Compact Agarose Cell Blocks from the Residues of Liquid-Based Cytology Samples. *Korean Journal of Pathology*. 2014;48(5):351-360.

Cibas ES, and Barbara SD. *Cytology: Diagnostic Principles and Clinical Correlates*. 3rd ed. Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier, 2009:380.

Demetri GD, von Mehren M, Antonescu CR, et al. NCCN Task Force Report: Update on the Management of Patients with Gastrointestinal Stromal Tumors. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network* 2010;8(02):S1-S44.

Eckardt AJ, Wassef W. Diagnosis of subepithelial tumors in the GI tract. Endoscopy, EUS, and histology: bronze, silver, and gold standard - *Gastrointestinal Endoscopy* 2005;62:209–12.

Fletcher CDM, Berman JJ, Corless C, Gorstein F, Lasota J, Longley BJ. et al. Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: a consensus approach. *Hum Pathol* 2002;33:459–65.

Fletcher CDM; Campbell F; Lauwers GY, Tumors of the esophagus and stomach. In Diagnostic histopathology of tumors 4th ed. Philadelphia, PA; 2013;383-423.

Fowler LJ, Lachar WA. Application of immunohistochemistry to cytology. Arch Pathol Lab Med 2008;132(3):373-383.

Ghimire P, Wu GY, Zhu L. Primary gastrointestinal lymphoma. World J Gastroenterol. 2011;17(6):697–707.

Hatch, III, GF, Wertheimer-Hatch L, Hatch KF, Davis GB, Blanchard DK, Foster RS, Jr, Skandalakis JE. Tumors of the esophagus. World J Surg. 2000;24:401–411.

Hedenbro JL, Ekelund M, Wetterberg P. Endoscopic diagnosis of submucosal gastric lesions. The results after routine endoscopy. Surg Endosc. 1991;5:20–23.

Hwang DG, Qian X, Hornick JL DOG1 Antibody is a highly sensitive and specific marker for gastrointestinal stromal tumors in cytology cell blocks. Am J Clin Pathol 2011;135(3):448-453.

Ieni A, Barresi V, Todaro P, Caruso RA, Tuccari G. Cell-block procedure in endoscopic ultrasound-guided-fine-needle-aspiration of gastrointestinal solid neoplastic lesions. World Journal of Gastrointestinal Endoscopy. 2015;7(11)1014-1022.

Ilett EE, Langer SW, Olsen IH, Federspiel B, Kjær A, Knigge U. Neuroendocrine carcinomas of the gastroenteropancreatic system: a comprehensive review. Jackson G, ed. Diagnostics. 2015;5(2):119-176.

Imaoka H, et al. Incidence and clinical course of submucosal lesions of the stomach. Gastrointest Endosc. 2005;61:AB16.

Khan S, Omar T, Michelow P. Effectiveness of the cell block technique in diagnostic cytopathology. Journal of Cytology / Indian Academy of Cytologists 2012;29:177-82.

Klapman JB, Logrono R, Dye CE, Waxman I. Clinical impact of on-site cytopathology interpretation on endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration. *Am. J. Gastroenterol.* 2003;98:1289–94.

Kim, Ji Young, et al. Ectopic pancreas: CT findings with emphasis on differentiation from small gastrointestinal stromal tumor and leiomyoma. *Radiology.* 2009;252(1):92-100.

Lee LS, Singhal S, Brinster CJ, Marshall B, Kochman ML, Kaiser LR, Kucharczuk JC. Current management of esophageal leiomyoma. *J Am Coll Surg.* 2004;198:136–146.

Lim YJ, Son HJ, Lee JS, et al. Clinical course of subepithelial lesions detected on upper gastrointestinal endoscopy. *World J Gastroenterol.* 2010;16:439–444.

Lopes, CV. Acurácia da ultrassonografia endoscópica no diagnóstico diferencial dos abaulamentos subepiteliais do trato gastrointestinal. *Rev. AMRIGS* 2013;57:185-191.

Loureiro MP, Almeida RAA, Claus CMP, et al. Laparoscopic resection of gastrointestinal stromal tumors (GIST). *Arq. Bras. Cir. Dig. : ABCD.* 2016;29(1):1-4.

Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors: pathology and prognosis at different sites. *Semin. Diagn. Pathol.* 2006;23:70-83.

Miettinen M, Sobin LH, Sarlomo-Rikala M. Immunohistochemical spectrum of GISTs at different sites and their differential diagnosis with a reference to CD117 (KIT) *Mod Pathol.* 2000;13:1134–1142.

Naib ZM. Pap Test. In: Walker HK, Hall WD, Hurst JW, editors. *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations.* 3rd edition. Boston: Butterworths; 1990. Chapter 178.

Nathan NA, Narayan E, Smith MM, Horn MJ. Cell block cytology. Improved preparation and its efficacy in diagnostic cytology. *Am J Clin Pathol* 2000;114:599–606.

Polkowski M. Endoscopic ultrasound and endoscopic ultrasound-guided fine-needle biopsy for the diagnosis of malignant submucosal tumors. *Endoscopy* 2005; 37:635-45.

Song JH, Kim SG, Chung SJ, Kang HY, Yang SY, Kim YS. Risk of progression for incidental small subepithelial tumors in the upper gastrointestinal tract. *Endoscopy*. 2015;47:675–679.

Tamura, T, Yamashita, Y, Ueda, K, et al. Rapid on-site evaluation by endosonographers during endoscopic ultrasonography-guided fine-needle aspiration for diagnosis of gastrointestinal stromal tumors. *Clinical Endoscopy*. 2017;50(4): 372-378.

Voltaggio L, Murray R, Lasota J, Miettinen M. Gastric schwannoma – a clinicopathologic study of 51 cases and critical review of the literature. *Human Pathology*. 2012;43(5):650-659.

Wang DH, Park JY. Precision medicine in gastrointestinal pathology. *Arch Pathol Lab Med* 2016;140(5):449-460.

Zhang, XC., Li, QL., Yu, YF. et al. Diagnostic efficacy of endoscopic ultrasound-guided needle sampling for upper gastrointestinal subepithelial lesions: a meta-analysis - *Surg Endosc*. 2016;30:2431.

Zhong, D-D., Wang, C-H., Xu J-H., Chen M-Y., Cai J-T. Endoscopic ultrasound features of gastric schwannomas with radiological correlation: A case series report. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2012;18(48):7397-7401.

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral:

Avaliar o papel da técnica de cell block na obtenção do diagnóstico diferencial das neoplasias subepiteliais, principalmente entre os tumores do estroma gastrointestinal (GISTs) e leiomiomas.

2.2 Objetivos secundários:

Avaliar o perfil das lesões subepiteliais em um centro de referência submetidas a punção aspirativa ecoguiada.

Avaliar a utilidade da punção aspirativa ecoguiada e do cell block em obter material adequado para análise histopatológica.

3. Artigo redigido em inglês conforme as normas da Histopathology Journal

Differential diagnosis of mesenchymal neoplasms of the digestive tract by cellblock and immunohistochemistry

Endoscopic ultrasound-guided FNA for diagnosis

Péttala Rigon¹, Cláudio Galleano Zettler², Cesar Vivian Lopes³

1 Medical Resident of Pathology, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil; Master's degree student in Pathology, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil; Member of the Brazilian Society of Pathology.

Adress: Rua Professor Annes Dias, 295 - Centro Histórico, Porto Alegre - RS, 90020-090 Departamento de Patologia.

Email: pettalarigon@yahoo.com.br

Phone: +5554999453141

2 Department of Pathology, Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre; Professor at Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil. Member of the Brazilian Society of Pathology.

Adress: Rua Professor Annes Dias, 295 - Centro Histórico, Porto Alegre - RS, 90020-090 Departamento de Patologia.

Email: poafm3b@terra.com.br

Phone: +555132148080

3 Department of Gastroenterology and Digestive Endoscopy, Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil

Adress: Rua Professor Annes Dias, 295 - Centro Histórico, Porto Alegre - RS, 90020-090 Departamento de Endoscopia.

Email: drcvlopes@gmail.com

Phone: +555132148080

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

Word count: 2483 words

Abstract

Aims

To evaluate the role of the cell block technique in obtaining the differential diagnosis of subepithelial neoplasias of gastrointestinal tract, especially gastrointestinal stromal tumors (GISTs) and leiomyomas. Indicate the profile of the subepithelial lesions submitted to endoscopic ultrasound-guided fine needle biopsy. To evaluate the usefulness of the FNA in obtaining adequate material for histopathological analysis.

Methods and results:

The study has a descriptive character, as it evaluates the results of a diagnostic method. Cell blocks were evaluated for presence or absence of lesion tissue, submitted to immunohistochemistry with the markers SMA, CD117, DOG1 and S100. The results showed an efficacy of 85.4% positivity for neoplasia, being diagnosed 44 (27.8%) GISTs, all CD117 positives, 42 DOG1 positives and 18 SMA positives. In addition there was one leiomyosarcoma.

Conclusions:

We believe the efficacy of FNA, which is a low-invasive diagnostic method, combined with cell block and immunohistochemistry, demonstrates benefits for patients who need definitive treatment for malignant mesenchymal neoplasms and those with uncertain behavior (GIST).

Key-Words: cell block, GIST, leiomyoma, FNA

Introduction

Subepithelial lesions of the gastrointestinal tract are detected in 0.36% to 3.5% of gastrointestinal endoscopies, being mostly composed of benign or malignant potential^{1,2,3,4}. The wall of the tubular organs of the digestive system (esophagus, stomach, small and large intestines) consists of five layers of easy histological distinction: mucosa (with its own lamina), muscular mucosa, submucosa, muscular and serous esophagus and rectum) (Figure 1). The subepithelial lesions come from any layer under the mucous layer (epithelial), the most common sites being the submucosa and muscular layers themselves⁴.

Figure 1 - Anatomical layers of the gastrointestinal tract.

Histopathology is the gold standard for the definitive diagnosis of subepithelial lesions, although there are several imaging methods capable of performing the presumptive diagnosis of these lesions. Invasive methods are excellent for sampling, but they greater morbidity. Endoscopic ultrasound-guided FNA, on the other hand, is minimally invasive, evaluates with great accuracy which layer of the wall the lesion originates, and allows the tissue sample to be collected, especially for lesions from the muscular propria, which may present similar findings for different lesions^{5,6}.

The cell block technique is performed when material is obtained from FNA and it is needed to maintain part of the tissue histological structure for evaluation of an injury, even when the sample is too small. The material follows processing and as a final result enough pellet is obtained for paraffin embedding, histological evaluation and immunohistochemical study⁷.

The most frequent subepithelial tumors for which the differential diagnosis is most clinically relevant are gastrointestinal stromal tumors (GISTs) and leiomyomas, since

the first one presents a recognized malignant potential and the second, benign, usually indolent^{2,8,9}.

GISTs can affect any part of the gastrointestinal tract but have a higher incidence in the stomach (60-70%). Gastrointestinal stromal tumors originate in the Cajal cells (widely distributed in the submucosal, intramuscular and intermuscular layers associated with sympathetic nerve terminals) responsible for intestinal motility, with the c-KIT receptor tyrosine kinase (CD117). Immature Cajal cells, when in normal state, proliferate and differentiate through stimulation of the stem-cell-binding factor in the transmembrane proteins *C-KIT* and *PDGFR*. When these proteins are mutated (mostly exon 11 from *C-KIT* and exon 18 from *PDGFR*) they promote the proliferation of immature Cajal cells without adequate differentiation^{8,9,10,11}.

GISTs may be spindle-shaped, epithelioid or mixed. Spindle tumors present cells with an elongated nucleus, eosinophilic cytoplasm with a single paranuclear vacuole. The stroma is hyalinized and can be calcified and with a myxoid component. (Figure 2). Epithelioid GISTs consist of vacuolated cells, arranged in nests, with cytoplasmic vacuoles totally or partially involving the nucleus, which may lead to the appearance of ring-shaped forms. Nuclear characteristics range from rounded or ovoid, with open chromatin and small nucleoli, to large pleomorphic forms with large eosinophilic nucleoli, which may have multinucleated giant cells. (Figure 3). The mitotic activity is variable, important adjunct in determining the malignant behavior of the lesion. Due to the large histological spectrum of gastrointestinal stromal tumors, and their often superimposable characteristics, the diagnosis will often only be possible with the aid of the immunohistochemical study^{8,9,10,12}. Figure 2 - GIST fusocellular, with elongated nuclei and eosinophilic cytoplasm (200x).

Figure 3 - Epithelioid GIST, with rounded nuclei and open chromatin (200x).

Leiomyomas are tumors from the smooth muscle cells of the muscular layers of the wall of the digestive system. They represent the most common mesenchymal tumor of the esophagus, causing compressive symptoms or ulceration and eventual bleeding only when they present large dimensions¹³.

In this manuscript we aim To evaluate the role of the cell block technique in obtaining the differential diagnosis of subepithelial neoplasias of gastrointestinal tract, especially gastrointestinal stromal tumors (GISTs) and leiomyomas. Indicate the profile of the subepithelial lesions submitted to endoscopic ultrasound-guided fine needle biopsy. To evaluate the usefulness of the FNA in obtaining adequate material for histopathological analysis.

Materials and Methods

The study has a descriptive character, as it is the analysis of information contained in medical records. It were selected cell block exams, whose patients were submitted to endoscopic ultrasound-guided FNA, where subepithelial lesions were identified and punctured during the examination, performed by gastroenterologist with endoscopy PhD. The exams included were those reported between September 2012 and December 2016. We excluded those FNA which materials were not submitted to the cell block technique.

In this institution, this technique consists in centrifuging the sample at 1300 revolutions per minute (RPM) for 10 minutes; despise the supernatant; add fixative; wait the required time according to the sample (1 hour for small sediments and 3 hours for larger sediments); despise the fixative; to move the sediment to the histological capsule, and, after this point, follow the routine of the usual histological techniques (annexes 1 and 2). As a final result, sufficient sediment is obtained for histological evaluation and immunohistochemical study.

After the analysis of the hematoxylin-eosin colored sample, the pathologist requests for complementary immunohistochemistry. The spindle cell mesenchymal neoplasms were routinely evaluated by immunohistochemistry in the search for the differential diagnosis between GISTs, leiomyomas and schwannomas. The markers used were smooth muscle actin - SMA (clone 1A4 - Dako); CD117 (Polyclonal-Dako), DOG-1 (clone K9-Dako); and S100 (polyclonal - Dako), the latter only when the other markers are negative. The paraffin blocks were cut into 3µm (3 micrometer) seals and fixed on silanized slides. The seals were subjected to antigen retrieval, endogenous enzyme blockade, background block, and automated immunohistochemical reaction. The immunohistochemical reactions also had a positive control. We analyzed five variables in this study: location, presence of neoplastic tissue, result of immunohistochemical markers used, diagnosis and conclusion according to table 1. In the absence of tumor subepithelial tissue or viable material for histological analysis in the aspirated material, the result was considered inconclusive.

Table 1 - Variables and categories used for the study

The databases have been installed on two computers. The data was typed in Numbers program table - Apple Inc - version 3.5.3, 2008-2015; and the Google Spreadsheets online application. At the end of the typing phase, all bank data was printed and checked with the originals. After the quality control was done the analysis of consistency and coherence of the data was performed, those considered with problems were checked again. The statistical analysis of the collected data was performed by PSPP software.

The evaluation of the results of the histopathological and immunohistochemical examinations was carried out in a confidential manner, without exposing the patient

or material identification data during the study or at its conclusion. The financial expenses were entirely borne by the authors. This project was properly presented and approved by the ethics and research committee of the Irmandade Santa Casa de Misericórdia of Porto Alegre, under the number 2,324,344, and respects the ethical and legal aspects guided by Resolution 466 of the National Health Council (annexe3).

Results

Between September / 2012 and December / 2016, 158 endoscopic ultrasound-guided FNA were performed with subepithelial lesions of the gastrointestinal tract, of which 109 (69%) gastric, 36 (22.8%) esophageal, 11 (7%) duodenal, and 2 (1.2%) rectosigmoid. The aspirated material was submitted to the cell block technique and evaluated histologically. Mesenchymal neoplasms (GIST, leiomyoma and schwannoma) were the most frequent lesions, being detected in 112 (70.8%) patients. These were still submitted to immunohistochemical examination for differentiation between GISTs, leiomyomas or schwannomas. Another 25 (15.8%) exams were inconclusive. The lesions in relation to their topographies are described in table 2.

Table 2 - Subepithelial lesions and involved organ

The immunohistochemical panel detected 66 leiomyomas that were positive for smooth muscle actin, negative for DOG1 and CD117; one (1) leiomyosarcoma which was also positive for smooth muscle actin (SMA), negative for DOG1 and CD117 and presented a histomorphological aspect of sarcoma (cell pleomorphism, atypical mitosis figures), and Ki67 (30-9) of 20 %. There were also 44 gastrointestinal stromal tumors (GISTs), which revealed positivity for CD117, DOG1 (except for two neoplasms), and most negatives for smooth muscle actin. In this study, 18 gastric

GISTs were positive for smooth muscle actin. Two schwannomas positive for S100, negative for SMA, DOG1 and CD117 (Table 3).

Table 3 - Immunohistochemical panel of spindle cell mesenchymal neoplasms

Among the lesions considered to be inconclusive, two (2) presented histomorphology of spindle cell neoplasia, but there was no immunohistochemical marking from the antibodies performed on the panel. The other exams were considered inconclusive because they presented only normal tissue of biopsied organs (13.2%); or because they did not have enough material for evaluation (3.1%) (Table 4).

Table 4 - Evaluation of materials considered inconclusive

Discussion

Ultrasound-guided, endoscopic FNA is minimally invasive and performed both for lesions in the subepithelial layers of the gastrointestinal tract (evaluated in this study) and for lesions in other organs such as pancreas, lymph nodes and liver, as used by Bissonnette et al., Ardengh et al., and Menon and Buscaglia^{7,14,15}. This procedure can result in two methods for definitive diagnosis: cytology or cell block, at the decision of the endoscopist. The cell block technique has proved to be very useful for the lesional diagnosis since it preserves the biopsied tissue and allows the histopathological evaluation of both the cytological and structural parts, while the cytology allows only the evaluation of the cells. In addition, since the material is permanently paraffin-embedded, it is possible to perform new histological sections, new stains, as well as immunohistochemical study and compare with preserving the HE stain to evaluate the marking of the requested antibodies, as described by Nathan et al. Kahn et al., and Choi et al.^{16,17,18}.

Currently, two embedding techniques are used: centrifugation of the material with subsequent transfer of the cell pellet to the filter paper, and then placed in a

histological cassette followed by the usual histological processing; and the embedding of cells in agarose (a bacterial agar that impregnates the centrifuged material), which is characterized by being a gel that solidifies, and is placed in the histological cassette, without the necessity of the manual transfer of the material to the filter paper, followed of the usual processing, as performed by Choi et al and Ardengh et al.^{14,18}. This study, as well as Nathan et al, uses the first method (Annex 1), which shows advantages and disadvantages with respect to the agarose method¹⁶. The advantage is to be a simplified method, which does not require special equipment because it can be manipulated at any temperature, unlike the agarose that must be maintained between 50°C and 60°C so that it can penetrate the cellular sediment. Lower temperatures cause the gel to solidify before it permeates the sediment, and causes some of the material to be lost. The disadvantage may be the minimal amount of material that can be lost during the transfer of the sediment to the filter paper. However, the accuracy of both methods are similar, since Ardengh et al. found an accuracy of 86.5% in the diagnosis of neoplasias, and the aspirated material was insufficient in only 2.6% of the patients, and Nathan et al. found an accuracy of 78.2%, and the material was insufficient in 10.8% of the cases^{14,16}. This study, in which sampling was 158 punctures that were submitted to the cell block technique, resulted in 133 (85.4%) positive anatomopathological reports for lesions, and of these, in only two, the differential diagnosis between the lesions was not possible. When non-neoplastic conditions were considered conclusive, normal tissues demonstrated a 96.8% efficacy similar to that of Ardengh et al., having only 5 cases with insufficient material for evaluation¹⁴. Ieni et al., Nathan et al., Khan et al. have already demonstrated in their studies the advantages of performing cell block over cytological smear, primarily because the

cell block can retain small tissue fragments equivalent to a micro biopsy, providing architectural information and cytomorphological details^{16,19}. In addition, when the endoscopist collects material by puncture and aims paraffin embedding, the sample is fixed in 10% formalin (preferably buffered). Formaldehyde fixes tissues, prevents cellular autolysis, and preserves immunocytochemical properties, which allows subsequent immunohistochemical studies when necessary. Cytological smears, apart from not preserving the tissue architecture, should be fixed in 95% ethyl alcohol within a maximum of three (3) seconds after the material distends in the slide under the risk of desiccation of the cells. Hwang et al. and Larry et al. found that fixation in ethyl alcohol may also lead to possible false negative results for CD117, DOG1 and S100, used for differential diagnosis among mesenchymal lesions of the gastrointestinal tract^{12,20}.

According to the National Comprehensive Cancer Network (NCCN) among the mesenchymal lesions, GISTs are tumors that show potential for malignancy, and should receive adequate follow-up treatment (in cases of asymptomatic incidental lesions of less than 2.0 cm with low mitotic index), as well as surgical treatment in other cases¹⁰. Therefore, in addition to clinical, imaging and histomorphological criteria to define the diagnosis, it is necessary to use immunohistochemical exams as suggested by Fletcher et al.^{8,13}. According these authors, about 90-95% of the GISTs present tyrosine kinase mutation, *KIT*. The CD117 immunohistochemical marker is expressed in GISTs that possess this mutation and is used both for the diagnosis of this tumor and to guide the chemotherapeutic treatment, as said by NCCN and Fletcher et al., with a tyrosine kinase inhibitor (imatinib). Still, about 30% of the CD117 negative tumors are positive for DOG1, regardless of the mutation they hold (*KIT* or *PDGFR*)^{8,10,13}.

According to Hwang et al., the immunohistochemical marker DOG1 is more sensitive in detecting GISTs when performed by cell block. However, in this study, all cases of gastrointestinal stromal tumor (44) were positive for CD117, and 42 of them were positive for DOG1 (94.5%). This marker becomes useful for detection of negative CD117 GISTs. Nevertheless, there are known wild-type stromal tumors of the gastrointestinal tract defined by NCCN as those lacking the *KIT* or *PDGFR* mutation. In this series, we found two spindle-cell neoplasm, for which there was no labeling for the tested antibodies, both gastric subepithelial lesions. It is possible that they are wild-type GIST, therefore, patients maintain clinical follow-up¹².

One of the antibodies used for the differential diagnosis between GISTs and leiomyomas, besides CD117 and DOG1, is SMA, which is positive in leiomyomas and leiomyosarcomas. According to Hwang et al., leiomyomas are positive for SMA and negative for CD117, having in their results only one case in which a leiomyosarcoma was positive for DOG1. In our experience, both leiomyomas and leiomyosarcoma were negative for CD117 and DOG1, and were positive for SMA¹². However, according to NCCN, about 30 to 40% of GISTs may be SMA positive, so this marker should not be interpreted in isolation¹⁰. According to Miettinen et al., this heterogeneous positivity for SMA may be due to the same pluripotent stem cell that originates both Cajal cells and smooth muscle cells²¹. Our results agree with this rate, since they showed eighteen (18) cases of gastrointestinal stromal tumors positive for SMA, totaling 40.9% of the GISTs diagnosed. We believe the efficacy of FNA, combined with cell block and immunohistochemistry, demonstrates benefits for patients who need definitive treatment for malignant mesenchymal neoplasms and those with uncertain behavior (GIST).

Acknowledgements

We would like to thank the Pathology Lab from Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, for authorizing the research in its facilities. Greyce Bellini Rodrigues for conferring quality immunohistochemical tests. Dr. Giovanna Tavares for assisting in the writing of this manuscript.

References:

- 1 Hedenbro JL, Ekelund M, Wetterberg P. Endoscopic diagnosis of submucosal gastric lesions. The results after routine endoscopy. *Surg Endosc.* 1991;5:20–23
- 2 Lim YJ, Son HJ, Lee JS, et al. Clinical course of subepithelial lesions detected on upper gastrointestinal endoscopy. *World J Gastroenterol.* 2010;16:439–444.
- 3 Song JH, Kim SG, Chung SJ, Kang HY, Yang SY, Kim YS. Risk of progression for incidental small subepithelial tumors in the upper gastrointestinal tract. *Endoscopy.* 2015;47:675–679
- 4 Imaoka H, et al. Incidence and clinical course of submucosal lesions of the stomach. *Gastrointesc Endosc.* 2005;61:AB16.
- 5 Polkowski M. Endoscopic ultrasound and endoscopic ultrasound-guided fine-needle biopsy for the diagnosis of malignant submucosal tumors. *Endoscopy* 2005; 37:635-45.
- 6 Zhang, XC., Li, QL., Yu, YF. et al. Diagnostic efficacy of endoscopic ultrasound-guided needle sampling for upper gastrointestinal subepithelial lesions: a meta-analysis - *Surg Endosc* 2016;30:2431
- 7 Ardengh JC, Lopes CV, Lima LFP, Venco F, Santo GC, Begnami M, Modena JLP. Cell block technique and cytological smears for the differential diagnosis of pancreatic neoplasms after endosonography-guided fine-needle aspiration. *Acta Gastroenterológica Latinoamericana* 2008;38:246-51.

- 8 Fletcher CDM, Berman JJ, Corless C, Gorstein F, Lasota J, Longley BJ. et al. Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: a consensus approach. *Hum Pathol* 2002;33:459–65.
- 9 Eckardt AJ, Wassef W. Diagnosis of subepithelial tumors in the GI tract. Endoscopy, EUS, and histology: bronze, silver, and gold standard - *Gastrointestinal Endoscopy* 2005;62:209–12
- 10 Demetri GD, von Mehren M, Antonescu CR, et al. NCCN Task Force Report: Update on the Management of Patients with Gastrointestinal Stromal Tumors. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network* 2010;8(02):S1-S44.
- 11 Chetty, Runjan, and Stefano Serra Molecular and morphological correlation in gastrointestinal stromal tumours (GISTs): an update and primer. *Journal of clinical pathology* 69.9 (2016): 754-760.
- 12 Hwang DG, Qian X, Hornick JL DOG1 Antibody Is a Highly Sensitive and Specific Marker for Gastrointestinal Stromal Tumors in Cytology Cell Blocks. *Am J Clin Pathol* 2011; 135 (3): 448-453
- 13 Fletcher CDM; Campbell F; Lauwers GY, Tumors of the esophagus and stomach. In *Diagnostic histopathology of tumors* 4th edn. Philadelphia, PA; 2013;383-423.
- 14 Bissonnette J, Paquin S, Sahai AV, Pomier-Layrargues G. Usefulness of endoscopic ultrasonography in hepatology. *Canadian Journal of Gastroenterology*. 2011;25(11):621-625
- 15 Menon L, Buscaglia JM. Endoscopic approach to subepithelial lesions. *Therapeutic Advances in Gastroenterology* 2014;7:123-30.

- 16 Nathan NA, Narayan E, Smith MM, Horn MJ. Cell block cytology. Improved preparation and its efficacy in diagnostic cytology. *Am J Clin Pathol* 2000;114:599–606.
- 17 Khan S, Omar T, Michelow P. Effectiveness of the cell block technique in diagnostic cytopathology. *Journal of Cytology / Indian Academy of Cytologists* 2012;29:177-82.
- 18 Choi SJ, Choi YI, Kim L, et al. Preparation of Compact Agarose Cell Blocks from the Residues of Liquid-Based Cytology Samples. *Korean Journal of Pathology*. 2014;48(5):351-360.
- 19 Ieni A, Barresi V, Todaro P, Caruso RA, Tuccari G. Cell-block procedure in endoscopic ultrasound-guided-fine-needle-aspiration of gastrointestinal solid neoplastic lesions. *World Journal of Gastrointestinal Endoscopy*. 2015;7(11):1014-1022.
- 20 Larry J. Fowler and Whitney A. Lachar Application of Immunohistochemistry to Cytology. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*: March 2008;132(3):373-383.
- 21 Miettinen M, Sobin LH, Sarlomo-Rikala M. Immunohistochemical spectrum of GISTs at different sites and their differential diagnosis with a reference to CD117 (KIT). *Mod Pathol*. 2000;13:1134–1142

Tables

Table 1 - Variables and categories used for the study

VARIABLES	CATEGORIES
Organ	Qualitative: esophagus, stomach, small intestine, colon
Presence of neoplastic tissue	Qualitative: yes, no
Result of immunohistochemical markers used	Qualitative: positive, negative
Diagnosis	Qualitative: GIST, schwannoma, leiomyoma, ectopic pancreas, others.
Conclusion	Qualitative: conclusive, inconclusive

Table 2 - Subepithelial lesions and involved organ

Diagnosis	Involved organ	Frequency
GIST	Stomach	39 (24.6%)
	Duodenum	3 (1.9%)
	Rectosigmoid	2 (1.3%)
Ectopic pancreas	Stomach	7 (4.4%)
	Duodenum	3 (1.9%)
Schwannoma	Stomach	2 (1.3%)
Others *	Esophagus	5 (3.2%)
	Stomach	4 (2.5%)
	Duodenum	2 (1.3%)
Inconclusive	Esophagus	2 (1.3%)
	Stomach	20 (12.6%)
	Duodenum	3 (1.9%)

* Among the other exams, were identified in the esophagus: melanoma metastases (1); adenocarcinoma (1); necrotic undifferentiated neoplasia (1); normal lymph node tissue (1) and granular cell tumor (1). In the stomach: leiomyosarcoma (1); normal lymph node tissue (1); adenocarcinoma (1); and neuroendocrine tumor (1). In the duodenum: lymphoma (1); and tubulo-villous adenoma (1).

Table 3 - Immunohistochemical panel of mesenchymal neoplasms

Diagnosis	SMA	DOG 1	CD117	S100
GIST	18 (40.9%)	42 (95.4%)	44 (100%)	0 (0%)
Leiomyoma	66 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Leiomyosarcoma	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Schwannoma	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (100%)

Table 4 - Evaluation of materials considered inconclusive

Organ	Spindle cell neoplasia without differential diagnosis after IHC	Sample with only normal tissues	Insufficient material for evaluation
Esophagus (2)	0	1	1
Stomach (20)	2	14	4
Duodenum (3)	0	3	0

4. Considerações finais

Em conclusão, acreditamos que a eficácia da punção aspirativa endoscópica ecoguiada, que é um método de diagnóstico pouco invasivo, combinado com a técnica de cell block e imunohistoquímica, demonstra grande acurácia no diagnóstico diferencial das lesões subepiteliais do trato gastrointestinal, sobretudo os tumores mesenquimais da camada muscular própria. Portanto, traz benefícios para pacientes que precisam de tratamento definitivo para neoplasias mesenquimais malignas e com comportamento incerto (GIST).

5. Anexos

Anexo 1 - Procedimento operacional padrão (POP) para realização da técnica de cell block neste hospital

Complexo Hospitalar Santa Casa de Porto Alegre

Hospital Santa Rita

Laboratório de Patologia e Micologia

Tarefa: Cell Block

Data: 02/08/2007

Condições/material necessário: centrífuga; tubo de ensaio; pipeta de pasteur; papel filtro; corante eosina; fixador de fan; alça citológica; cápsula histológica.

Descrição das atividades:

Material: indicado para líquidos corporais e pequenos fragmentos de tecido.

Procedimento:

1. Centrifugar 10 ml da amostra (no caso de líquidos) ou o volume total no caso de fragmentos de tecido a 1300 rpm durante 10 minutos.
2. Desprezar totalmente o sobrenadante.
3. Adicionar o fixador (ver POP de fixadores) na proporção de 20 (vinte) vezes o volume do sedimento
4. Aguardar 1 (uma) hora para fixação de pequeno sedimento. Deve ser aumentado o tempo para 3 (três) horas para sedimentos maiores.
5. Desprezar o fixador

6. Descolar o sedimento endurecido no fundo do tubo (usar alça citológica).
Depositar em cima do papel filtro . Pintar com eosina e embrulhar (fazer envelope de pontas dobradas).
7. Colocar na cápsula histológica
8. A partir desta etapa proceder conforme a rotina histológica para biópsias

Resultado esperado: obtenção de um sedimento celular suficiente para análise histológica ao final do processamento técnico.

Observações: para amostras enviadas previamente fixadas em formol. dispensar as etapas 3, 4 e 5.

Anexo 2 - Procedimento operacional padrão (POP) para fixadores deste laboratório

Complexo Hospitalar Santa Casa de Porto Alegre

Hospital Santa Rita

Laboratório de Patologia e Micologia

Tarefa: Fixação e fixadores

Data: 31/07/2007

Condições/material necessário: balança analítica; provetas; bastão de vidro; gral e pistilo; frasco conta-gotas; glicerina; álcool etílico 95% e 99%; éter; ácido acético; polietileno-glicol; clara de ovo; timol; formaldeído; estufa; becker; papel filtro; refrigerador.

Descrição das atividades:

Fixação:

1. Álcool etílico 95% para esfregaços em lâminas destinados a coloração de papanicolaou.
2. Pelo ar para esfregaços em lâminas do tipo hematológico (ex.. MGG e Leischmann)

Fixadores:

1. Albumina de mayer- para materiais hipocelulares

clara de ovo batido	1 volume
glicerina	1/4 do volume
timol	1 cristal

Preparo: misturar, filtrar e separar em pequenas alíquotas (+/- 5 ml).

Validade: 30 dias, armazenado sob refrigeração (4 - 8°C)

2. Fixador para "cell block"

álcool etílico 99%	85 ml
formaldeído	10 ml
ácido acético	5 ml

Validade: 1 (um) ano armazenado a temperatura ambiente.

3. Carbowax - para fixação de esfregaços.

álcool etílico 95%	50ml
éter	50ml
polietileno-glicol	5g

Preparo: derreter o polietileno-glicol em uma estufa a 56°C e adicionar o álcool etílico ou a mistura éter-álcool. Deixar descansar por algumas horas em temperatura ambiente ou agitar até dissolver todo o polietileno-glicol. A solução pode ser distribuída em pequenos recipientes com conta-gotas.

A lâmina deve ser coberta imediatamente após preparada com cinco ou seis gotas de fixador.

Uma camada de cera será formada sobre o esfregaço assim que o álcool evaporar (5-7min), preservando o esfregaço.

Validade: 3 (três) meses, armazenado sob refrigeração (4 - 8°C)

IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Cell block - uma técnica eficaz no diagnóstico histopatológico das lesões subepiteliais do trato gastrointestinal

Pesquisador: Claudio Galleano Zettler

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 71340717.0.0000.5335

Instituição Proponente: Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.324.344

Apresentação do Projeto:

Estudo a ser realizado com 170 amostras obtidas das lesões subepiteliais do trato gastrointestinal de pacientes atendidos na Santa Casa de Porto Alegre, de setembro de 2012 a setembro de 2016. Estas amostras serão processadas utilizando a técnica de cell block e serão revisados os exames anatomopatológicos e imunohistoquímicos realizados e emitidos pelo Laboratório de Patologia da Santa Casa de Porto Alegre. Os exames serão avaliados quanto à conclusão diagnóstica e o perfil epidemiológico das lesões.

Objetivo da Pesquisa:

Já referido em parecer anteriormente emitido.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Já referido em parecer anteriormente emitido.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Já referido em parecer anteriormente emitido.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Já referido em parecer anteriormente emitido.

Endereço: R. Profº Annes Dias, 295 Hosp. Dom Vicente Scherer

Bairro: 6º andar - Centro

CEP: 90.020-090

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3214-8571

Fax: (51)3214-8571

E-mail: cep@santacasa.tche.br

IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



62

Continuação do Parecer: 2.324.344

Recomendações:

Não aplicável.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Pendências atendidas.

Considerações Finais a critério do CEP:

Após reavaliação do protocolo acima descrito, o presente comitê não encontrou óbices quanto ao desenvolvimento do estudo em nossa Instituição e poderá ser iniciado a partir da data deste parecer.

Obs.: 1 - O pesquisador responsável deve encaminhar à este CEP, Relatórios de Andamento dos Projetos desenvolvidos na ISCMPA. Relatórios Parciais (pesquisas com duração superior à 6 meses), Relatórios Finais (ao término da pesquisa) e os Resultados Obtidos (cópia da publicação).

2 – Para o início do projeto de pesquisa, o investigador deverá apresentar a chefia do serviço (onde será realizada a pesquisa), o Parecer Consubstanciado de aprovação do protocolo pelo Comitê de Ética.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJECTO_845865.pdf	18/09/2017 13:50:42		Aceito
Outros	carta.pdf	18/09/2017 13:50:01	Claudio Galleano Zettler	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.pdf	18/09/2017 13:45:44	Claudio Galleano Zettler	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ppgprojetoword_versao12.pdf	18/09/2017 13:44:41	Claudio Galleano Zettler	Aceito

IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



Outros Cópia do Parecer: 2.324.4	Formulario_de_inscricao.pdf	14/07/20 17 17:41:18	Claudio Galleano Zettler	Aceito
Outros	DECLARACAODEUSODEPRONTUA RI O.pdf	13/02/20 17 21:01:26	Claudio Galleano Zettler	Aceito
Outros	DECLARACAODECONFIDENCIALID AD E.pdf	13/02/20 17 21:00:40	Claudio Galleano Zettler	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO.pdf	03/01/201 7	Claudio Galleano	Aceito

IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



Continuação do Parecer: 2.324.344

Orçamento	ORCAMENTO.pdf	19:32:48	Zettler	Aceito
Outros	DECLARACAODEISENCAODEONUS AI NSTITUICAO.pdf	03/01/20 17 19:32:23	Claudio Galleano Zettler	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutu ra	DECLARACAODEAUTORIZACADAC H EFIA.pdf	03/01/20 17 19:29:55	Claudio Galleano Zettler	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	DECLARACAODECOMPROMISSOPA R AUTILIZACAODEDADOSEMATERIAL BI OLOGICO.pdf	03/01/20 17 19:28:44	Claudio Galleano Zettler	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	03/01/20 17 19:13:33	Claudio Galleano Zettler	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PORTO ALEGRE, 10 de Outubro de 2017

**Assinado por:
ELIZETE KEITEL
(Coordenador)**