



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**



Curso de Pós-Graduação em Patologia

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**LINFOMA DIFUSO DE GRANDES CÉLULAS B COM DIFERENCIAÇÃO
PLASMOBLÁSTICA: CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA, MORFOLÓGICA E
IMUNOFENOTÍPICA**

CARLOS ALBERTO DOS SANTOS SILVA

**Salvador - Bahia
2008**



004095

Curso de Pós-Graduação em Patologia Humana

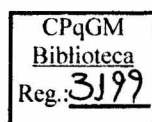
**LINFOMA DIFUSO DE GRANDES CÉLULAS B COM
DIFERENCIAÇÃO PLASMOBLÁSTICA: CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA,
MORFOLÓGICA E IMUNOFENOTÍPICA**

CARLOS ALBERTO DOS SANTOS SILVA

Orientadora: Iguaracyra Barreto de Oliveira Araújo

Dissertação apresentada como pré-requisito obrigatório para obtenção do grau de Mestre em Patologia, área de concentração em Patologia Humana.

**Salvador – Bahia
2008**



Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do
Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz / FIOCRUZ - Salvador - Bahia.

S5861 Silva, Carlos Alberto dos Santos
Linfoma difuso de grandes células B com diferenciação plasmoblástica:
caracterização clínica, morfológica e imunofenotípica. [manuscrito] / Carlos
Alberto dos Santos Silva.
86 f. : il. ; 30 cm.

Datilografado (fotocópia).

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal da Bahia. Fundação Oswaldo
Cruz. Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, 2007.
Orientador: Prof. Dr. Iguaracyra Barreto de Oliveira Araujo

1. Linfoma Difuso de Grandes Células . 2. Plasmocitoma. 3. HHV-8. I.Título.

CDU 616-006.44

PHL
MEN 5-199
0041095

616-006,44
55861

LILDBI

**“DÁ INSTRUÇÃO AO SÁBIO, E ELE SE
FARÁ MAIS SÁBIO; ENSINA AO JUSTO,
E ELE CRESCERÁ EM ENTENDIMENTO.
O TEMOR DO SENHOR É O PRINCÍPIO
DA SABEDORIA, E A CIÊNCIA DO
SANTO, A PRUDÊNCIA.”**

(PROVÉRBIOS 9: 9-10)

À MINHA AMADA ESPOSA,
PELO AMOR, CARINHO, APOIO
E DEDICAÇÃO ILIMITADA EM
TODOS OS MOMENTOS DESTA
CAMINHADA.

Ao final de uma caminhada destas, torna-se importante parar um instante e contemplar o caminho percorrido. Aí então posso olhar e ver quantas pessoas participaram desta caminhada.

Em primeiro lugar, quero expressar que sou muito grato ao Senhor meu DEUS por tudo que Ele tem feito e fará em minha vida.

Aos meus pais, pelo estímulo, cuidado e amor.

A minha orientadora, Dra. Iguaracyra Barreto de Oliveira Araújo, pelo apoio incondicional, amizade e estímulo.

Ao professor Aristides Chetto de Queiroz, o qual acompanha a minha carreira acadêmica e profissional desde os tempos de iniciação científica e cursos de verão.

A Professora Helenemarie Schaer pelo incentivo profissional nos primeiros anos de formação.

Ao Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Aristides Maltez, pela preciosa colaboração neste trabalho, em especial a Tatiane e Graça pelo apoio na bancada de imunoistoquímica, considero nosso trabalho.

Aos colegas de mestrado Marinho Marques e Clarissa Gurgel, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE GRÁFICOS.....	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 ASPECTOS GERAIS DAS NEOPLASIAS LINFOÍDES DE CÉLULAS B.....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	2
2.1 EPIDEMIOLOGIA	2
2.2 CONSIDERAÇÕES GERAIS	5
2.3 CLASSIFICAÇÃO DOS LINFOMAS NÃO HODGKIN.....	8
2.4 LINFOMA DIFUSO DE GRANDES CÉLULAS B	10
2.4.1 ASPECTOS IMUNOFENOTÍPICOS DOS LBDGC.....	13
2.4.2 LINFOMAS DIFUSOS DE GRANDES CÉLULAS B COM DIFERENCIAÇÃO PLASMOBLÁSTICA	14
2.5 PLASMOCITOMAS	16
2.5.1 ETIOLOGIA	16
2.5.2 PATOGÊNESE	17
2.5.3 ASPECTOS CLÍNICOS.....	20
2.5.4 ASPECTOS IMUNOISTOQUÍMICOS DOS PLASMOCITOMAS.....	22
3. OBJETIVOS	23
3.1 OBJETIVO GERAL	23
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
4. METODOLOGIA	25
4.1 PACIENTES	25
4.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO	26
4.3 ESTUDO HISTOPATOLÓGICO	26
4.4 ESTUDO IMUNOISTOQUÍMICO (IQ).....	26

4.4.1 PROCEDIMENTO DE IMUNOISTOQUÍMICA	27
4.5 CRITÉRIOS DE CLASSIFICAÇÃO DOS PACIENTES ESTUDADOS.....	28
4.5.1 MORFOLOGIA EM HEMATOXILINA E EOSINA (H&E)	28
4.6 LEVANTAMENTO DE PACIENTES PARA ESTUDO MORFOLÓGICO E IMUNOISTOQUÍMICO	30
4.7 DESENHO DO ESTUDO	32
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	33
5. RESULTADOS.....	34
5.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DAS DIFERENTES GRUPOS	34
5.2 CARACTERÍSTICAS IMUNOFENOTÍPICAS DOS DIFERENTES GRUPOS	40
5.2.1 EXPRESSÃO DE CD20	40
5.2.2 EXPRESSÃO DE CD56	41
5.2.3 EXPRESSÃO DE VS38c	42
5.2.4 EXPRESSÃO DE CADEIA LEVE DE IMUNOGLOBULINA (KAPPA E LAMBDA) ...	43
5.2.5 EXPRESSÃO DE LNA-1 (HHV-8)	44
5.2.6 ÍNDICE DE PROLIFERAÇÃO CELULAR PELO MIB-1	44
6. DISCUSSÃO	46
6.1 ASPECTOS GERAIS	47
6.2 APRESENTAÇÃO CLÍNICA	50
6.3 ASPECTOS MORFOLÓGICOS	52
6.4 ASPECTOS IMUNOFENOTÍPICOS	53
6.4.1 EXPRESSÃO DE CD20	53
6.4.2 EXPRESSÃO DE VS38c	55
6.4.3 CADEIAS DE IMUNOGLOBULINAS.....	56
6.4.4 EXPRESSÃO DE CD56	57
6.4.5 MARCADOR DE PROLIFERAÇÃO CELULAR (MIB1).....	60
6.5 ASSOCIAÇÃO VIRAL	61
6.6 PROGNÓSTICO	63
7. CONCLUSÕES.....	66
8. BIBLIOGRAFIA.....	76

LISTA DE TABELAS

Tabela	Título	Página
A	Anticorpos a serem utilizados para imunoistoquímica	27
B	Exames laboratoriais alterados, estadiamento e desfecho clínico em 15 pacientes com morfologia de plasmocitoma bem diferenciado e apresentação clínica.	36
C	Achados clínicos em pacientes com Linfomas Plasmoblásticos	39
D	Aspectos imunoistoquímicos (expressão de CD20, CD56, VS38c, Kappa, Lambda, MIB e Lana) em todos os grupos morfológicos.	45
E	Resumo geral dos dados relativos aos 34 pacientes estudados	75

LISTA DE FIGURAS

Figura	Título	Página
1A	Plasmocitoma bem diferenciado, infiltrado celular monótono com presença de material amiloíde.	68
1B	Reação granulomatosa tipo “corpo estranho” secundário a material amiloíde	68
1C	Plasmocitoma bem diferenciado, células isoladas com núcleos excêntricos e halo perinuclear, presença de células gigantes multinucleadas, notar presença de mitose (seta).	68

1D	Marcação membranar de VS38c, notar presença de halo perinuclear.	69
1E	Marcação positiva para CD56	69
1F	Expressão citoplasmática de imunoglobulina de cadeia leve kappa.	69
1G	Plasmocitoma bem diferenciado com expressão de CD20 em raros linfócitos reacionais, notar corpúsculo de Dutcher em células neoplásicas (seta).	69
2 A	Plasmocitoma pouco diferenciado, presença células multinucleadas, com cromatina grosseira e alterações do contorno da membrana nuclear.	70
2B	Plasmocitoma pouco diferenciado, células mostram citoplasma basofílico com núcleos excêntricos, vendo-se ainda infiltração por células neoplásicas menores de aspecto plasmocítico.	70
2C	Expressão membranar de CD56	70
2D	Expressão citoplasmática de CD56	70
3 A	Linfoma linfoplasmocitoíde nasal, notar infiltrado celular neoplásico monótono.	71
3B	Expressão membranar de CD 20, exibindo aspecto geográfico.	71
3C	Expressão de CD20 bem demarcada.	71
3D	Expressão de VS38c, exibindo células de permeio negativas	71
4 A	Linfoma Plasmoblástico com infiltração difusa em tecido muscular esquelético.	72
4B	Linfoma Plasmoblástico: células neoplásicas com aspecto plasmoblástico com núcleo excêntrico, nucléolo proeminente e citoplasma basofílico.	72
4C	Expressão de CD20 em linfócitos reacionais dentro da neoplasia.	72
4D	Expressão membranar de CD79a por células neoplásicas.	72

4E	Expressão citoplasmática e membranar de VS38c.	73
4F	Expressão citoplasmática de imunoglobulina de cadeia leve kappa.	73
4G	Hibridização <i>in situ</i> para EBV (EBER).	73
4H	Controle positivo de Lana (Sarcoma de Kaposi).	73

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico	Título	Página
1 A	Sobrevida dos Plasmocitomas/Mielomas (Kaplan-Meier)	74
1B	Sobrevida dos Linfomas Plasmoblásticos (Kaplan-Meier)	74

RESUMO

LINFOMA B DIFUSO DE GRANDES CÉLULAS COM DIFERENCIAÇÃO PLASMOBLÁSTICA, ASPECTOS CLÍNICOS CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA, MORFOLÓGICA E IMUNO-HISTOQUÍMICA. CARLOS ALBERTO DOS SANTOS SILVA.

INTRODUÇÃO/OBJETIVOS: Os linfomas B difusos de grandes células plasmoblastos (LBDGC-LP) constituem um grupo heterogêneo de doenças com curso clínico agressivo, descritos inicialmente em pacientes HIV+. O LP tem sido associado à infecção pelo Herpes vírus tipo 8 em pacientes HIV+ e esses linfomas têm sido observados em pacientes HIV(-). Várias entidades tais como plasmocitoma anaplásico (PA) e pouco diferenciado (PPD) exibem uma superposição morfológica e imuno-histoquímica com os LP, principalmente quando estão em localização extra-ossea. O objetivo deste trabalho é contribuir para o diagnóstico diferencial das neoplasias linfóides com diferenciação plasmocitoide. **METODOLOGIA:** Foram revisados 154 casos diagnosticados como Plasmocitomas, LBDGC, LBDGC-PL e Linfomas de pequenas células com diferenciação plasmocitoide (LPC-P) dos arquivos de um centro de referência em oncologia. Foram selecionados 34 casos com padrão plasmocitoide/plasmoblástico, confirmados por imunoistoquímica. Foram utilizados os seguintes marcadores: CD20, VS38c, CD56, CD79a, Mib, Lana-1 (HHV-8), Kappa e Lambda. Os casos foram analisados e classificados em quatro grupos morfológicos: Plasmocitomas bem diferenciados (PBD), PPD, PA/LP, LPC-P. **RESULTADOS:** Os PBD tinham localização óssea predominante e em 2/3 destes havia Mieloma associado, enquanto os LP tiveram apresentação nodal e visceral em 82% dos casos. A positividade para CD56 ocorreu predominantemente nos PBD ($p=0,04$). Em um caso de LP/PA houve positividade para CD56 forte. A sobrevida foi significativamente menor nos casos de LP/PA. Nenhum dos casos mostrou positividade para LNA-1 (HHV-8). A associação com HIV foi observada em um caso de LP. **CONCLUSÃO:** A forte expressão de CD56 nos plasmocitomas sugere que este seja útil no diagnóstico diferencial. A sobrevida foi significativamente menor nos LP. A expressão de Lana-1 (HHV-8) foi negativa em todos os casos de Linfomas e Plasmocitomas, refutando a hipótese de que alguns Linfomas Plasmoblásticos representem a variante sólida do Linfoma de Efusão Primário na nossa série.

Palavras chaves: 1.Linfoma Difuso de Grandes Células 2.Plasmocitoma 3.HHV8

ABSTRACT

PLASMABLASTIC DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA :CLINICAL, MORFOLOGIC AND IMMUNOHISTOCHEMISTRY FEATURES. CARLOS ALBERTO DOS SANTOS SILVA

INTRODUCTION: Plasmablastic lymphoma (PL) is a heterogeneous group of diseases with a aggressive course, first descript in HIV patients. These lymphomas have been associated with Herpes Virus 8 (HHV-8) in patients HIV positive and cases of PL was descript in HIV negative patients. Several entities, such a Anaplastic Plasmacytomas (AP) show morphologic features like it, mainly when located in extramedullary sites. **MATERIALS AND METHODS:** Our objective is added contribution to clarify the differential diagnostic between these entities. We reviewed 154 cases named as Plasmacytoma, Diffuse Large B-cell Lymphoma, Plasmablastic Lymphoma and Linfoplasmacytic Lymphoma of an cancer reference center. We selected 34 cases with plasmablastic or plasmacytic features with monoclonality for lambda or kappa and VS38c positive. Then we repeated CD20 and performed VS38c, CD56, MIB and Lana. The cases was analyzed and classified in: well differentiated plasmacytoma (PBD), poorly differentiated plasmacytoma (PPD), LP/AP an small cells lymphomas with plasmacytic features (LPP-C). **RESULTS:** The PBD has bone location and was associated with Mieloma in 2/3 of patients, while PL has nodal or visceral location in 82% of patients. The positively for CD56 was accepted in Plasmacytomas ($p = 0,04$). One patient with PL/PA showed reactivity for CD56. No patient reacts with Lana (HHV-8) **CONCLUSIONS:** CD56 was a good marker for well differentiated plasmacytoma (PBD) and can be useful in differential diagnostic. The PL survival was shorter than other diseases studied. All patients tested by Lana was negative, oppose the conjecture that some Plasmablastic Lymphomas in our series maybe represents Solid variant of Primary Effusion Lymphoma.

Key words: 1. Diffuse large B-cell lymphoma 2. Plasmacytoma 3. HHV8

1. INTRODUÇÃO

1.1 ASPECTOS GERAIS DAS NEOPLASIAS LINFOÍDES DE CÉLULAS B

A busca da origem ontogênica das células que constituem os diferentes tipos de linfomas levou ao aparecimento da nova classificação de Linfomas, aceita mundialmente e adotada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) desde 2001 (JAFFE, et al., 2001). Usando esta nova classificação, trabalhos têm demonstrado uma nítida diferença geográfica quanto à frequência dos diferentes tipos de linfoma (SUKPANICHNAT S., 2004) Adicionalmente, têm sido descritas peculiaridades regionais, a exemplos: linfomas associados ao HTLV-1 no Japão, Caribe e Nordeste do Brasil e linfomas pediátricos associados ao EBV em áreas subdesenvolvidas (JAFFE et al, 2001). Entretanto, para o uso desta classificação se faz necessário à aplicação de técnicas de imunistoquímica. A partir do uso desta classificação temos verificado em pacientes imunocompetentes a existência de linfomas com aspectos morfológicos e imunistoquímicos semelhantes aos plasmocitomas anaplásicos ou linfomas plasmoblásticos (PORTUGAL, 2004).

Recentemente, duas publicações chamam atenção para a existência de subtipos de linfomas B difusos de grandes células, CD20 negativos, com diferenciação plasmocítica/plasmoblástica (COLOMO et al. 2004; FELDSTEIN-TERUYA et al 2004).

Estes subtipos especiais acometem pacientes jovens e estão relacionadas na sua maioria as infecções pelo HIV e EBV, e têm um curso clínico mais agressivo a despeito da terapêutica adequada. Do ponto de vista morfológico estes linfomas podem se sobrepor aos plasmocitomas, principalmente em se tratando de plasmocitomas pouco diferenciados ou anaplásicos de localização extramedular. Porém, o diagnóstico diferencial entre estas entidades é fundamental para a terapia adequada.

Desde que a caracterização imunoistoquímica dos plasmocitomas não é rotina diagnóstica, decidimos investigar o papel do estudo imunoistoquímico, morfológico e clínico no diagnóstico diferencial entre os plasmocitomas e LBDGC com diferenciação plasmoblástica, usando critérios da classificação OMS (2001) e referências morfológicas citadas no Atlas do American Armed Force Institute of Pathology (AFIP) no fascículo "Tumors of Lymph Nodes and Spleen".

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 EPIDEMIOLOGIA

Segundo dados da OMS (2001) as neoplasias de células B somam cerca de 90% de todas as neoplasias do sistema linfóide, compreendendo aproximadamente 4% de todos os novos pacientes com câncer diagnosticados todo ano. Essas neoplasias são mais comuns em países desenvolvidos, particularmente em países como Estados Unidos, Austrália, Nova Zelândia e países da Europa (JAFFE et al., 2001).

A incidência anual dos linfomas não Hodgkin está estimada em 300.371 pacientes ao ano, com uma taxa de 5,6/100.000 homens e 4,1/100.000 mulheres (CURADO et al.,

2007). Há uma ampla variação quando são analisados a incidência deste grupo de neoplasias em países com diferentes níveis de desenvolvimento sócio-econômico. Na Austrália e Nova Zelândia a incidência em homens é de 19,1/100.000, enquanto em mulheres é de 15,5/100.000, nos Estados Unidos a incidência ajustada para a idade é de 17,1/100.000 entre homens e 11,1 entre mulheres, com uma mortalidade ajustada para a idade de 6,5/100.000 entre homens e 4,5/100.000 entre mulheres (CURADO et al., 2002). Nesse país a prevalência em cinco anos da doença é 186.121 pacientes. Enquanto em países da África Central a incidência ajustada para a idade em homens é de 4,5/100.000 habitantes, com uma mortalidade de 3,5/100.000 e uma prevalência em cinco anos de 7229 pacientes (CURADO et al., 2002).

Em locais com níveis de desenvolvimento sócio-econômico intermediário, como por exemplo, na América do Sul, temos uma incidência ajustada para idade entre homens de 6,6/100.000 e entre mulheres de 4,1/100.000 ao ano (CURADO et al., 2002).

No Brasil ainda não dispomos de um sistema de coleta de dados que possa fornecer uma cobertura de vigilância epidemiológica em todo o território nacional, desta forma trabalhamos com uma estimativa aproximada (BRASIL, 2006).

A implementação das ações nacionais voltadas para a prevenção e controle do câncer depende diretamente das atividades relacionadas à vigilância, que são realizadas com base nas informações obtidas dos Registros de Câncer de Base Populacional (RCBP), supervisionados pelo Instituto Nacional do Câncer (INCA/MS), e do Sistema de Informação sobre Mortalidade (SIM), do Ministério da Saúde, centralizado nacionalmente pela Secretaria de Vigilância à Saúde (SVS/MS). A partir destas informações, desde 1995, o Instituto Nacional de Câncer (INCA) estima e

publica anualmente a incidência de câncer que tem sido um recurso indispensável para o planejamento destas ações (BRASIL, 2006).

Desta forma, a qualidade destes dados é totalmente dependente da informação gerada pelo SIM e pelo RCBP. Por isto, extrapolações a partir das informações atuais devem ser feitas com cautela, particularmente quando se examinam séries temporais (BRASIL, 2006).

No Brasil, de acordo com o RCBP de 2003, a incidência dos Linfomas não Hodgkin, (compreendidos entre os CID C82-85 e C96) apresentou os maiores valores das taxas médias anuais de incidência, ajustadas por idade por 100 mil homens no Distrito Federal (1996-1998: 14,1); São Paulo (1997-1998: 13,0) e Porto Alegre (1993-1997: 11,0). Na população feminina as maiores taxas foram observadas em São Paulo (1997-1998: 8,6); Distrito Federal (1996-1998: 8,6) e Recife (1995-1998: 7,6). As menores taxas foram observadas na cidade de Belém (1996-1998) em homens (2,0) e mulheres (1,6). Em Salvador, no período de 1997-2001, foi de 4,6 para os homens e 3,8 para as mulheres (BRASIL, 2003).

Quanto aos Plasmocitomas (CID C-90) a incidência também varia de acordo com as regiões do Brasil analisadas. Em Salvador a taxa de incidência por 100.000 habitantes ajustada para idade, em homens é de 1,42 (no período de 1997-2001) e para mulheres é de 1,31 no mesmo período com uma incidência maior na 8ª década de vida. Enquanto em São Paulo, a incidência em homens é de 4,02/100.000 habitantes ao ano e para mulheres é de 2,5/100.000 habitantes ao ano. Sendo que a maior parte dos pacientes estão localizados entre a 7ª e 8ª décadas de vida. (BRASIL, 2003).

2.2 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Linfoma é um termo genérico que denomina tumores do sistema linfóide, originados em linfócitos e suas células precursoras, podendo exibir fenótipo de células B, T ou “null cell” (JAFFE et al., 2001). Embora outras células do sistema linfóide, como histiócitos e células acessórias participem do quadro histopatológico, esses tipos de tumores são caracterizados principalmente pelo aspecto morfológico das células linfóides malignas. O termo linfoma é reservado, geralmente, para aqueles tumores que formam massas ou nódulos localizados. No entanto, com a evolução da doença alguns linfomas podem assumir uma distribuição sistêmica e difusa, semelhante a leucemia (ROSAI; ACKERMAN, 2004).

De acordo com critérios clínicos e morfológicos os linfomas se subdividem em dois grandes grupos: os linfomas de Hodgkin (LH) e linfomas não Hodgkin (LNH). A doença de Hodgkin foi originalmente descrita por Thomas Hodgkin em 1832 e batizada como tal por Samuel Wilks. Histologicamente a doença de Hodgkin é caracterizada pela presença de células de Reed-Sternberg, ou suas variantes em meio a um infiltrado inflamatório não neoplásico e proliferação de fibroblastos (JAFFE et al., 2001). Os Linfomas não Hodgkin (LNH), por outro lado, constituem um grupo mais heterogêneo de doenças linfoproliferativas e perfazem cerca de 70% de todos os linfomas (JAFFE et al, 2001). Devido a grande diversidade de aspectos morfológicos e clínicos foi necessário estabelecer critérios para classificação destes linfomas.

Recentemente, freqüentes publicações relatam entidades clinico-patológicas, algumas reconhecidas pela OMS, com características morfológicas e imunofenóticas muito semelhantes aos plasmocitomas pouco diferenciados, mas de apresentação e comportamento clinico bem diferente destes. Estas entidades patológicas foram inicialmente definidas como Linfoma B difuso de grandes células com diferenciação plasmoblástica (LBDGC-P) (DELECLUSE et al., 1997). Na sua descrição original o LBDGC-P foi considerado como linfoma exclusivamente associado à infecção pelo HIV, conseqüentemente ocorrendo em pacientes com Síndrome de Imundeficiencia Adquirida (AIDS) já estabelecida, em uso de terapia anti-retroviral. O curso clinico era agressivo, com resposta ruim a terapia e sobrevida curta, com óbito logo após o diagnóstico.

Esses linfomas foram assim denominados devido a grande quantidade de blastos que exibiam morfologia e imunofenotipo semelhante aos plasmocitos (DELECLUSE et al., 1997; VEGA et al., 2005). Morfologicamente a neoplasia era constituída por células grandes, com citoplasma denso, limites precisos e núcleos volumosos, excêntricos, irregulares com nucléolo único e proeminente de localização central ou periférica (LENNERT et al., 1992; ENGELHARD et al., 1997). De permeio, também podiam ser vistos macrófagos fagocitando restos celulares, corpos apoptóticos e variável quantidade de imunoblastos, linfócitos pequenos reacionais e plasmócitos. As células eram negativas ou fracamente positivas para LCA e CD20, enquanto havia forte expressão de CD79a, VS38c e monoclonalidade para as cadeias leves de imunoglobulinas Kappa ou Lambda. O índice proliferativo era elevado, geralmente acima de 90% quando avaliado pelo Ki-67 (DELECLUSE et al., 1997). Entretanto,

estas características imunofenotípicas eram semelhantes às observadas nos plasmocitomas, exceto pelo índice de proliferação.

Segundo a classificação de Kiel e a do Grupo Britânico de Investigação de Linfomas, um plasmocitoma solitário já deve ser considerado como um linfoma (WARNKE; WEISS, 1994). Porém, a esta categoria refere-se apenas as lesões que ocorrem em linfonodos e tonsilas, compostas apenas por plasmocitos bem diferenciados e classificados como Linfomas com diferenciação plasmocitária. A classificação britânica reconhece três subtipos de plasmocitomas: o plasmocitoma bem diferenciado, o plasmoblástico e o pleomorfo. (WARNKE; WEISS, 1994).

Estes plasmocitomas podem ser ósseos ou extra-ósseos, apresentando-se de forma solitária e constituindo-se em uma única lesão neoplásica, ou múltipla, correspondendo a síndrome clínica de Mieloma Múltiplo (MM). Os pacientes que apresentam lesão única extramedular podem ter uma evolução melhor do que os pacientes com lesão óssea, a qual muitos autores acreditam ser uma forma precoce de um Mieloma Múltiplo (WARNKE; WEISS, 1994).

Porém, do ponto de vista anatomo-patológico estas entidades são semelhantes, assim, podem surgir dificuldades diagnósticas quando algumas das características clínicas e morfológicas dessas entidades se superpõem.

2.3 CLASSIFICAÇÃO DOS LINFOMAS NÃO HODGKIN

A primeira classificação de LNH de amplo uso na prática médica foi a Rappaport em 1966. Nesta, os LNH foram classificados de acordo com o tipo celular em células pequenas, células grandes e um padrão misto, sendo que cada um desses grupos poderia ser ainda subdividido em nodular ou difuso de acordo com o padrão arquitetural. (WARNKE, et al 1995) A esta classificação seguiram-se as de Lukes-Collins e Kiel com suas várias atualizações. Nas últimas atualizações das classificações de Lukes & Collins e Kiel os conceitos de imunofenotipagem dos LNH classificando-os como de células B e células T foram introduzidos (LUKES R.F.; COLLINS R.D., 1974; LENNERT K., 1978).

Devido a necessidade de reconhecer entidades clínicas distintas, não apenas morfológicas, que direcionassem o tratamento dos LNH, foi estabelecida a classificação conhecida como "Working Formulation". Esta classificação foi estabelecida no início da década de 80, sob supervisão do Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos e definiu três grupos principais de LNH de acordo com o comportamento clínico: baixo, alto e grau intermediário de malignidade (LENNERT K., 1978; STANSFELD A et al., 1988; NATIONAL, 1982;).

Em 1994, um grupo de hematopatologistas definiu entidades baseadas em critérios clínicos, morfológicos, imunoistoquímicos e moleculares. Esta classificação foi chamada de REAL ("Revised European-American Classification of Lymphoid

Neoplasmas”) (HARRIS et al., 1994). Nesta classificação a lista de subtipos histológicos de LNH foi ampliada e os LNH foram divididos em dois grupos a depender da origem celular: um grupo de linfomas com origem em linfócitos B e um grupo com origem em linfócitos T e/ou células NK. Em 2001 a OMS adotou a classificação REAL com menores modificações como diretriz básica para classificação de linfomas.

Atualmente a classificação da OMS 2001, lista 20 categorias diferentes dos Linfomas não Hodgkin, tendo como base o fenótipo celular e o estágio de maturação das células malignas. Os linfomas de células B compreendem linfoma/leucemia de células primordiais e linfomas de células B maduras. Neste último estão incluídos a leucemia linfocítica crônica/ linfoma linfocítico de pequenas células, nos quais temos linfócitos com alterações morfológicas mínimas e doença de curso clínico prolongado com poucas chances de cura, aos linfomas difusos de grandes células e linfoma de Burkitt que podem ter curso clínico agressivo, porém boa resposta a quimioterapia e radioterapia, além de chances de cura a depender do estágio clínico. Incluído-se ainda os distúrbios dos plasmócitos que são células de imunofenótipo B em estágio final de maturação, representando os plasmocitomas em suas mais diversas apresentações clínicas.

Os tipos mais comuns de linfomas não Hodgkin são os linfomas foliculares e os difusos de grandes células, junto com os plasmocitomas, somam quase 50% de todas as neoplasias de células B (JAFPE et al., 2001).

2.4 LINFOMA DIFUSO DE GRANDES CÉLULAS B

Dentre os LNH, os linfomas B difusos de grandes células (LBDGC) são os mais freqüentes, correspondendo à cerca de 30-40% dos linfomas. Estes linfomas acometem preferencialmente pacientes entre a sexta e sétima décadas de vida, porém podem surgir em qualquer faixa etária, inclusive em crianças. Os pacientes mostram geralmente uma doença clínica de evolução rápida e sintomas relacionados ao crescimento expansivo da neoplasia. A infecção por HIV tem sido descrita como um fator de risco independente. Os LBDGC podem envolver sítios nodais e extras nodais, sendo o trato gastrintestinal o sitio extranodal mais comum (JAFFE, 2001). Esses linfomas podem surgir *de novo* ou a partir da transformação de um linfoma menos agressivo, tal como um linfoma linfocítico de pequenas células ou um linfoma da zona marginal. A morfologia é caracterizada por uma proliferação difusa de células linfóides grandes com imunofenótipo B (JAFFE, 2001).

Baseado na observação de padrões morfológicos e/ou imunoistoquímicos distintos os LBDGC foram subdivididos em 6 variantes morfológicas: 1) Centrolástico, 2)Imunoblástico, 3) Rico em células T, 4) Anaplásticos, 5) ALK-1 positivos, 6)Plasmoblásticos (JAFFE, 2001). Embora em alguns trabalhos esta subclassificação tenha valor prognóstico, a baixa reprodutibilidade intra e extra-observador tem dificultado o seu emprego. Com exceção dos Linfomas Plasmoblásticos, que inicialmente, foram considerados ocorrendo apenas em pacientes imunodeficientes,

todas estas variantes foram descritas em pacientes imunocompetentes (JAFFE, 2001).

O Linfoma B Difuso de Grandes Células (LBDGC) contém numerosos centroblastos misturados com um componente variável de imunoblastos. Quando o número de imunoblastos é maior que 90%, geralmente com características plasmocitóides, classifica-se como variante imunoblástica (LBDGC-I) para diferenciar dos demais LBDGC ditos centroblásticos (LBDGC-C) (ENGELHARD et al., 1997). As células neoplásicas no LDGCB-C são arredondadas ou ovaladas, o núcleo é em geral vacuolado, e contém um ou mais nucléolos distintos, adjacentes à membrana nuclear. Células neoplásicas grandes com núcleo clivado ou multilobado podem estar presentes em quantidade variável (RAPHAEL, et al., 1991). O LDGCB-I geralmente exibe um padrão tipo “céu estrelado”, no entanto, menos proeminente que no Linfoma de Burkitt (LB), as figuras de mitose são abundantes e estes linfomas têm tendência à necrose. As células neoplásicas são maiores que no LB e no LDGCB-C. Em geral o citoplasma é basofílico e o núcleo redondo ou oval com nucléolo único proeminente. Podem ser vistas células binucleadas ou multinucleadas e pleomorfismo celular em alguns LDGCB-I (KNOWLES & PIROG, 2001).

O Linfoma Anaplásico de Grandes Células (LAGC) B é caracterizado morfológicamente por possuir células grandes pleomórficas com citoplasma abundante e núcleo de formato irregular contendo um ou mais nucléolos proeminentes. Células bizarras e células gigantes multinucleadas lembrando células de Reed-Sternberg estão presentes, além de plasmócitos e macrófagos. A expressão de CD30 é necessária para o diagnóstico, se não em todas, mas na maioria das células neoplásicas (CARBONE, 2002). De acordo com a classificação REAL, o

LAGCB (anaplásico) é um subtipo dos linfomas difusos de grandes células B, distinto dos linfomas anaplásicos com fenótipo T/0 (HARRIS, et al., 1994; HARALAMBIEVA et al., 2000).

O Linfoma Difuso de Grandes Células B rico em células T caracteriza-se pela grande quantidade de células T não neoplásicas de permeio a uma população neoplásica de células B grandes, minoritária, de no máximo 20% do total de células. Estes linfomas parecem cursar com pior prognóstico (RAMSAY et al., 1988).

O Linfoma Difuso de Grandes Células B ALK-1 positivo não exhibe características morfológicas específicas, porém as células neoplásicas expressam a proteína ALK-1. O número destes linfomas ainda é pequeno para avaliação do curso clínico.

Os Linfomas Plasmoblásticos (LP) foram descritos por Delecluse e colaboradores como entidade agressiva, ocorrendo exclusivamente em pacientes HIV positivos. Estes pacientes apresentavam tumores localizados na cavidade oral que freqüentemente envolviam a gengiva ou até osso. Morfológicamente, estes tumores foram caracterizados por um padrão de crescimento difuso com células grandes, contendo núcleos ovais, excêntricos, nucléolo único, proeminente e central, ou ainda vários nucléolos pequenos de localização periférica. As células tinham citoplasma abundante e alto índice de proliferação. Esses tumores não expressavam marcadores de diferenciação epitelial, melanocítica, muscular ou marcadores linfóides B ou T comuns (CD20, CD3). No entanto, a demonstração de imunoglobulinas citoplasmáticas mostrou uma relação entre as células tumorais e a linhagem plasmocitária (STEIN et al., 1984, BROWN et al., 1988; DELECLUSE et al., 1997; DUPIN et al., 2000).

Atualmente a OMS reconhece os Linfomas Plasmoblásticos como uma categoria de linfomas associados mais especificamente aos pacientes HIV positivos.

2.4.1 ASPECTOS IMUNOFENOTÍPICOS DOS LBDGC

Os LBDGC se caracterizam pela expressão de marcadores comuns a todos os tipos de linfomas (CD45RB ou LCA) e marcadores de diferenciação de células B como o CD19, CD20, CD79, podendo faltar um ou mais destes. Menos freqüentemente, o anticorpo UCHL1 (CD45RO), considerado marcador de células T, também pode ser expresso em células B de linfomas de alto grau (JAFFE et al., 2001). Imunoglobulina de superfície pode ser demonstrada em 50-75% dos pacientes, enquanto imunoglobulina citoplasmática, apenas nos pacientes com diferenciação plasmocítica (STEIN et al., 1984). Os LBDGC anaplásicos expressam CD30 e alguns pacientes podem expressar CD5 (10%) e CD10 (25-50%). Os pacientes de LBDGC positivos para CD 5, geralmente são negativos para Ciclina D1, diferenciando-os da variante blastoíde do Linfoma de Células do Manto (JAFFE et al., 2001). O índice de proliferação celular detectado através do Ki-67 é geralmente alto (acima de 40%) podendo ser até 90% (MILLER et al., 1994).

Ao contrário da maioria dos LDGCB, os subtipos imunoblásticos e plasmoblásticos (LP) podem ser apenas fracamente ou focalmente positivos para o CD45RB, e CD 79 e mostrar negatividade para o CD20, consistente com a perda destes antígenos nos estágios mais tardios da diferenciação da célula B (DELECLUSE, et al., 1997).

2.4.2 LINFOMAS DIFUSOS DE GRANDES CÉLULAS B COM DIFERENCIAÇÃO PLASMOBLÁSTICA

Estes linfomas, originalmente foram descritos por Delecluse et al. em 16 pacientes, predominantemente do sexo masculino e HIV positivo. Clinicamente, os pacientes apresentavam-se com tumoração localizada em região de cabeça e pescoço, com rápida disseminação para linfonodos, abdômen e retroperitônio. A evolução clínica desses pacientes foi desfavorável e a sobrevida global média em torno de 12 meses. O perfil imunoistoquímico mostrou-se negativo para CD20 e CD45, ao lado de forte marcação para VS38c e positividade para CD79. Houve detecção de imunoglobulina citoplasmática e associação com EBV, verificada na maioria dos pacientes através da hibridização *in situ*. (DELECLUSE et al., 1997).

Em 2004, Teruya-Feldstein et al., descreveram uma série de 12 pacientes, do sexo masculino, com neoplasia linfóide de padrões morfológico e fenotípico semelhantes aos descritos por Delecluse et al. Entretanto, ocorrendo também em pacientes imunocompetentes e HIV positivos. Esses pacientes tinham apresentação clínica distinta; a maioria mostrou doença avançada com sítio predominante em trato gastrointestinal e a sobrevida média de 22 meses. Também havia acometimento ósseo associado. Este autor classificou estes linfomas como Linfomas B CD20 negativos.

Paralelamente, Colomo et al (2004) descreveram a existência de LBDGC com diferenciação plasmoblástica também em pacientes imunocompetentes. Embora estes linfomas apresentassem aspectos morfológicos e imunoistoquímicos semelhantes aos linfomas plasmoblásticos, foram reconhecidos padrões morfológicos e clínicos distintos resultando em vários subgrupos: Linfomas Plasmoblásticos do tipo

da mucosa oral associados a infecção pelo HIV, Linfomas Plasmoblásticos com diferenciação plasmocítica associados menos frequentemente a infecção pelo HIV, e ainda, neoplasias de padrão plasmoblástico relacionadas a origem em plasmocitomas ou mielomas. Todos estes tipos, inclusive os plasmocitomas ou mielomas estavam em maior ou menor grau associados a infecção pelo vírus Epstein Barr (EBV).

Outras publicações demonstraram que Linfomas Plasmoblásticos com características clinicas semelhantes, em pacientes HIV positivos estão associados também ao vírus HHV-8, através de *reação em cadeia da polimerase* (PCR) e imunistoquímica, sendo o segundo método mais específico (CIOC et al., 2004).

Dong et al., (2005) selecionou uma serie de 14 pacientes com diagnósticos de linfomas com características plasmocíticas, plasmocitomas anaplásicos e linfomas imunoblasticos, na qual foram detectados através de "nested pcr" a presença de ácido dextrribonucleico (DNA) viral em cinco pacientes com padrão plasmoblástico, porém a confirmação através de imunistoquímica para o antígeno de latência nuclear viral do HHV-8 (Lana-1) foi negativa em quatro pacientes, mostrando a baixa sensibilidade da técnica para estes linfomas. Entretanto, a literatura ainda permanece controversa com relação a associação viral destes linfomas com o HHV-8, principalmente devido a metodologia utilizada para a detecção do vírus.

Vega et al, em 2005, ao descrever uma serie com 16 pacientes com linfomas de características plasmoblásticas considera que Plasmocitomas Anaplásicos e Linfomas Plasmoblásticos deveriam ser considerados como entidades anatomopatológicas muito próximas com características morfológicas e imunofenotípicas superponíveis. Segundo este, a expressão de CD56 nos

Plasmocitomas e associação viral nos linfomas, associados ao quadro clínico são as formas possíveis de diferenciar estas entidades, também não foi identificada associação com o vírus HHV-8, pesquisado por imunistoquímica e *pcr* (“polimerase chain reaction”) nos pacientes com linfomas e plasmocitomas anaplásicos por eles estudados (VEGA et al., 2005).

2.5 PLASMOCITOMAS

2.5.1 ETIOLOGIA

A exata etiologia dos plasmocitomas em seres humanos ainda é desconhecida. Não há causas ambientais específicas, embora haja um risco maior entre fazendeiros, trabalhadores da indústria petroquímica e asbesto. (Knowles, 2001). Altas doses de irradiação como as que ocorreram nos sobreviventes de Hiroshima e Nagasaki, resultaram no risco elevado de mieloma de 4,7 vezes maior que os controles (ICHIMARU et al., 1979).

Historicamente, a estimulação crônica do sistema imunológico através de infecções ou ativação antigênica do sistema reticulo-endotelial têm sido considerada um fator predisponente para o desenvolvimento dos mielomas. (PENNY; HUGHES, 1970).

Um possível papel para agentes virais também foi postulado, principalmente a partir do encontro do Herpes vírus tipo 8, associado ao Sarcoma de Kaposi, em amostras de medula óssea (SAID et al., 1997). Posteriormente, outros autores mostraram que o

HHV-8 foi localizado em células dendríticas apresentadoras de antígeno na medula óssea. Baseando a hipótese de que a secreção de interleucina 6 viral poderia estimular o crescimento de plasmócitos na medula. Este fato permanece controverso, pois outros autores não confirmaram este resultado (COBERLLINO et al., 1999).

Também contribui para a polêmica o método utilizado para detecção do HHV-8, nos distintos trabalhos, seja por imunistoquímica ou técnicas de biologia molecular (*pcr*, *rt-pcr*, ou hibridização "*in situ*"). As técnicas *pcr* e *rt-pcr* apresentam grande sensibilidade, porém não são específicas para confirmar qual a célula que está infectada com partícula viral. Enquanto a hibridização "*in situ*" e imunistoquímica podem mostrar qual a célula realmente infectada com partícula viral e se esta é a célula neoplásica em questão.

A ocorrência de Mieloma em pacientes com HIV também sugeriu possibilidade de associação etiológica com outros vírus. Como nos Linfomas, a imunossupressão pelo HIV pode levar ao surgimento de clones de células B infectadas pelo vírus Epstein-Barr. (VOELKERDING et al., 1989). Sendo também descrito a produção de um componente M contra o antígeno p24 do vírus HIV em pacientes HIV positivos com mieloma (KONRAD et al., 1993).

2.5.2 PATOGÊNESE

Acredita-se que o desenvolvimento do Mieloma possa ocorrer a partir de vários estímulos antigênicos iniciais. Produzindo múltiplos clones benignos; seguindo-se por eventos mutagênicos que proporcionam o surgimento de um clone neoplásico

(SALMON, 1974). A importância do estímulo antigênico está descrita nos camundongos Balb/c que desenvolvem mieloma após injeções com óleo mineral. Porém em muitos pacientes o estímulo antigênico inicial é desconhecido (POTTER M., BOYCE C.R., 1962).

A hipótese de auto-reatividade também foi considerada, devido ao fato de que as proteínas do Mieloma podem apresentar reatividade a antígenos próprios. Esta teoria sugere que as proteínas do Mieloma podem ser auto-anticorpos direcionados contra auto-anticorpos imunoregulatórios (ZOUIL et al., 1984; DURIE et al., 1988). Sugerindo que o Mieloma pode surgir a partir de células B idiotípicas da cadeia de Jerne. Sendo que na Teoria regulatória de Jerne os anticorpos anti-idiotípico podem não ter a especificidade para o antígeno estimulante primário, funcionando então de forma regulatória. Esta hipótese sugere que o Mieloma é uma neoplasia que se originaria a partir de células B maduras com função auto-imunoregulatória (DURIE et al., 1988).

Seguindo a expansão clonal, seria necessário ainda um evento mutagênico para levar ao desenvolvimento do Mieloma. Isso é evidenciado pela presença de relevantes defeitos genéticos e moleculares observados nos plasmocitos neoplásicos. Uma variedade de alterações genéticas são descritas para os plasmocitomas, incluindo: translocações cromossômicas, deleções, rearranjo de genes e mutações, que freqüentemente envolvem oncogenes, genes supressores tumorais ou ambos (DEWALD et al., 1985; LINET et al., 1987; GOULD et al., 1988).

O estudo das alterações citogenéticas dos plasmocitomas/mielomas é dificultado pelo baixo índice de proliferação destes tumores em muitos pacientes. Estudos com culturas de células estimuladas por citocinas têm aumentado as informações a este respeito (LAI et al., 1995; SAWYER et al., 1995; KONIGSBERG et al., 2000).

Alterações estruturais e numéricas dos cromossomos são descritas em 20-60% dos novos pacientes diagnosticados e em 60-70% dos pacientes com doença em progressão, indicando uma escala ascendente de alterações cromossômicas na patogênese (LAI et al., 1995; BARLOGIE et al., 1989). Cariótipos complexos com ganhos e perdas cromossômicas são as alterações mais freqüentes, porém, deleções, translocações e mutações também são descritas (DEWALD et al., 1985). Ganhos nos cromossomos 3,5,7,11,15 e 19 e perdas nos cromossomos 8,13,14 e X são as mais comuns. Entre as perdas, monossomia ou deleção parcial do 13 (13q14) são os achados mais comuns ocorrendo em 15-40% dos novos pacientes diagnosticados (LAI et al., 1995; SAWYER et al., 1995; KONIGSBERG et al., 2000).

As alterações mais comuns estão descritas nos cromossomos 1 (15%), 11 (10%) e 14(10%). A translocação t(11;14)(q13;q32) envolvendo o rearranjo no locus de BCL1 é a mais comum (LAI et al., 1995; KONIGSBERG et al., 2000). Esta translocação transpõem o gene CICLINA D1 para a região codificadora da cadeia pesada de imunoglobulina, resultando na hiper expressão de CICLINA D1 (ZUKERBERG et al., 1995; CHESI et al., 1996; VASEF et al., 1997).

A expressão alterada do gene PAX-5, no cromossomo 9 pode ser responsável pela perda de expressão dos marcadores de célula B (CD19) (MAHMOUD et al., 1996). Deleção ao nível de 17p13 associada com a perda alélica de p53 é relatada em 25% dos pacientes e tem prognóstico ruim. Deleção do braço longo do cromossoma 7 tem sido relacionada ao gene de resistência a droga, produzindo um fenótipo clínico resistente a quimioterapia (DALTON et al., 1989).

2.5.3 ASPECTOS CLÍNICOS

Os Plasmocitomas caracterizam-se por expansão monoclonal de células B em estágio final de maturação, podendo estar localizado na medula óssea ou sítios extramedulares, os quais promovem a secreção anormal de imunoglobulina monoclonal (componente M), lesões ósseas osteolíticas, hipercalcemia e anemia. O componente M pode ser detectado na urina ou no soro, através de eletroforese. A doença apresenta um amplo espectro clínico, podendo ser localizada ou multicêntrica, indolente ou mesmo com forma bastante agressiva, exibindo infiltração de diversos órgãos e assumindo um aspecto leucêmico.(GROGAN & SPIER, 2001).

O diagnóstico é baseado na combinação de características clínicas, laboratorial, radiológica, somados aos aspectos histopatológicos e imunoistoquímicos (JAFFE, 2001). Do ponto de vista clínico, uma vez firmado o diagnóstico de plasmocitoma ósseo ou extra-ósseo torna-se importante a investigação para excluir a possibilidade de Mieloma Múltiplo.

São critérios para o diagnóstico de mieloma múltiplo, segundo a OMS (JAFFE et al, 2001):

A- Presença de no mínimo um critério maior e um critério menor, ou três critérios menores que devem incluir os itens 1 e 2. Estes critérios devem estar presentes em um paciente sintomático, com doença progressiva.

B- Critérios maiores:

1. Plasmocitose na medula óssea (>30%).
2. Biopsia com achado de plasmocitoma.

3. Presença do componente M:

Sérico: IgG>3,5g/dl, IgA>2g/dl.

Excreção urinária >1g/24h da proteína de Bence Jones.

C - Critérios menores:

1. Plasmocitose da medula óssea (10-30%).
2. Presença do componente M em quantidade menor que a descrita acima.
3. Lesões osteolíticas.
4. Redução do nível normal de imunoglobulinas (< 50% do normal):
IgG < 600mg/dl, IgA < 100mg/dl e IgM < 50mg/dl.

Morfologicamente os plasmocitoma são neoplasias compostas por células linfóides com imunofenotipo B em estágio final de maturação.

São reconhecidas algumas variantes clínicas, a saber:

- Mielomas não secretórios: são raros, perfazendo menos de 1% dos mielomas, no qual há síntese, porém não há secreção de imunoglobulinas, levando a ausência do componente M. As características clínicas são semelhantes ao Mieloma Múltiplo comum, porém existe uma menor incidência de insuficiência renal (BOSMAN et al., 1996; BOURANTAS K., 1996).

Existem duas variantes clínicas em que os pacientes permanecem estáveis por longos períodos, são o Mieloma Indolente e o "Smoldering" Mieloma. No Mieloma Indolente o paciente tem plasmocitose na medula óssea entre 10-30%, o nível de imunoglobulinas está pouco reduzido, não há lesões osteolíticas, nem insuficiência renal ou hipercalcemia. Enquanto no "Smoldering" Mieloma o paciente apresenta até três lesões osteolíticas, não há sintomas relacionados a infecções e há plasmocitose

na medula óssea maior ou igual a 30%. Semelhante ao tipo anterior estes pacientes não apresentam alterações nas dosagens de hemoglobina, cálcio sérico e creatinina (ALEXANIAN R., 1980; KYLE et al., 1980).

Outra apresentação rara é a Leucemia de Plasmocitos que ocorre em até 2% dos Mielomas Múltiplos e é definida pela circulação no sangue periférico de plasmocitos neoplásicos em até 20% do total de leucócitos. Pode ocorrer como forma inicial da doença ou como uma fase tardia, tendo curso clínico agressivo com sobrevida curta (GARCIA-SANZ et al., 1999).

2.5.4 ASPECTOS IMUNOISTOQUÍMICOS DOS PLASMOCITOMAS

Os Plasmocitomas têm aspectos imunoistoquímicas bem definidos e de ampla reprodutibilidade. Há expressão monoclonal de imunoglobulinas citoplasmáticas e ausência de expressão membranosa. A imunoglobulina mais comum é IgG e ocasionalmente IgA, sendo as outras mais raras. A maioria dos pacientes não expressa os marcadores de célula B CD19 e CD20, enquanto CD79a é expresso na maioria dos pacientes juntamente com o marcador CD38. Em contraste aos plasmócitos normais que expressam CD19 e não expressam CD56, as células neoplásicas perdem a expressão de CD19 e passam a apresentar CD56. A avaliação do índice de proliferação celular através do Ki-67 também deve ser feita, pois há estreita correlação entre um índice de proliferação elevado e evolução clínica desfavorável (JAFFE, 2001).

3. OBJETIVOS

Desde que plasmocitomas/mielomas são neoplasias em estagio final de diferenciação bem conhecidas e caracterizadas, resolvemos utilizá-los como comparativo com os linfomas com diferenciação plasmoblástica, ainda pouco conhecidos no nosso meio.

3.1 OBJETIVO GERAL

Estudar as características clínicas, morfológicas e imunofenotípicas dos linfomas B com diferenciação plasmocitoide (expressão de VS38c e/ou cadeias kappa e lambda), classificando-os segundo a OMS e Colomo et al, correlacionando-os com os plasmocitomas/mieloma múltiplo.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1- Correlacionar os diferentes tipos morfológicos dos plasmocitomas/mielomas múltiplos com parâmetros clínicos/laboratoriais como: idade, sexo, estadiamento clinico, LDH e dosagem de creatinina.
- 2- Estudar o imunofenótipo através de imunoistoquímica para os seguintes antígenos: CD 79a, CD20, VS38c, CD56, Ki-67, Lambda e Kappa.
- 3- Investigar associação viral com o HHV-8 pela imunoistoquímica (Lana-1).
- 4- Relacionar os diferentes subtipos de plasmocitomas clássicos, plasmocitomas anaplásicos, plasmocitomas extramedulares, linfomas linfoplasmocitoídes e linfomas

plasmablásticos com critérios clínicos tais como: idade, sexo, apresentação clínica e resposta ao tratamento.

5- Observar possíveis diferenças entre os plasmocitomas e linfomas plasmoblásticos/plasmocíticos quanto ao imunofenótipo e sobrevida global.

4. METODOLOGIA

Trata-se de estudo descritivo retrospectivo com pacientes diagnosticados no serviço de anatomia patológica do Hospital Aristides Maltez (HAM- Liga Baiana Contra o Câncer) a partir de 1º de janeiro de 2000 a 31 de dezembro de 2004.

As lâminas dos pacientes foram revisadas quanto ao diagnóstico inicial e classificados de acordo com a classificação da OMS (2001) através de métodos imunohistoquímicos.

Este estudo foi submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital Aristides Maltez, sob o registro 117/06, sendo analisado e aprovado em reunião no dia 27 de março de 2006.

4.1 PACIENTES

Foram levantados os laudos e as lâminas dos pacientes com diagnósticos de Linfoma B Difuso de Grandes Células, Plasmocitoma, Mieloma Múltiplo e Linfomas com diferenciação plasmocitoíde, diagnosticados no Hospital Aristides Maltez (HAM) entre 1º de janeiro de 2000 a 31 de dezembro de 2004. Os quais apresentavam expressão negativa ou fraca para CD20, positividade para VS38c, Kappa ou Lambda, associados a morfologia plasmoblástica ao H&E.

4.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Foram incluídos no estudo apenas os pacientes em que o bloco de parafina continha material suficiente para novos recortes. Pacientes que apresentavam prontuários incompletos quanto a história clínica, exames complementares, evolução da doença ou tratamento utilizado foram excluídos do estudo pela impossibilidade de correlação clínica.

4.3 ESTUDO HISTOPATOLÓGICO

Foram obtidas lâminas do arquivo coradas em hematoxilina-eosina (H&E) para revisão histológica. Quando a lâmina não foi encontrada ou não se prestou a este estudo devido ao precário estado de conservação, novos cortes com espessura de 3µm, foram realizados a partir dos blocos de parafina e corados pela hematoxilina-eosina.

4.4 ESTUDO IMUNOISTOQUÍMICO (IQ)

As lâminas originais de IQ foram revisadas e quando não disponíveis, novos cortes histológicos de 4 µm dos blocos em parafina de tecido tumoral dos pacientes selecionados. Os cortes foram montados em lâminas previamente tratadas com solução sulfocrômica e passadas em solução adesiva de cola Cascorez a 5%, e submetidos ao procedimento de imunistoquímica para revisão. Foi empregada a técnica da streptavidina-biotina-peroxidase (BOENISH, T., 1989)

Foram utilizados anticorpos monoclonais ou policlonais (marcadores) disponíveis comercialmente. Todos os anticorpos utilizados foram da marca DAKO.

A especificidade, origem e diluição dos anticorpos estão listados na **Tabela A**:

Tabela A: Anticorpos a serem usados para imunistoquímica

Anticorpo	Clone	Especificidade	Diluição
Lana-1		Lan HSV-8	1:50
Lambda	N10/2	Cadeia leve Lambda	1:100
Kappa	R10-21-S3	Cadeia leve Kappa	1:100
CD56	(1B6)	Plasmocitos neoplasicos	1:50
CD20	L 26	Linfócito B	1:100
CD 38	VS38c	Plasmócito	1:25
CD 79 ^a	JCB 117	Célula B	1:50
K1 67	Ki- S5	Proliferação Celular	1:25

4.4.1 PROCEDIMENTO DE IMUNOISTOQUÍMICA

As secções histológicas foram desparafinizadas em dois banhos de xilol durante 5 minutos cada, desidratadas em dois banhos de álcool absoluto por 3 minutos e então hidratadas em água corrente e destilada, sendo posteriormente colocadas em tampão PBS. A recuperação antigênica foi feita em calor úmido, colocando as lâminas

submersas em tampão citrato pH 6.0 a 90° C por 30 minutos. Após isto as lâminas foram incubadas com o anticorpo primário diluído no reagente da DAKO (diluidor de anticorpo) conforme diluições previamente padronizadas (**Tabela A**), por 40 minutos a 37°C em câmara úmida. Em seguida, após lavagens com PBS, as lâminas foram incubadas com anticorpo secundário, Ig de coelho anti-IgG de camundongo biotinilado, na diluição 1:300 (DAKO,US) para anticorpos monoclonais e Ig de suíno anti-IgG coelho biotinilado, na diluição 1:600 (DAKO,US) para anticorpos policlonais, por 30 minutos a 37°C. Após lavagens com PBS, as lâminas foram incubadas com a streptoavidina peroxidase na diluição 1:50 (DAKO,US), por 30 minutos a 37°C.

Realizou-se a revelação com cromógeno 3'3'diaminobenzidina (DAB) e o peróxido de hidrogênio (Vector Inc, Burlingame, EEUU – Kit) como substrato da peroxidase. A reação foi interrompida com lavagens em água corrente. Os cortes histológicos foram contra-corados com hematoxilina de Harris, desidratados em álcool absoluto, clarificados em xilol e recobertos com lamínulas de vidro sob bálsamo do Canadá.

4.5 CRITÉRIOS DE CLASSIFICAÇÃO DOS PACIENTES ESTUDADOS

4.5.1 MORFOLOGIA EM HEMATOXILINA E EOSINA (H&E).

Foram utilizados critérios morfológicos descritos na Classificação OMS e critérios do AFIP (JAFPE et al., 2001; WARNKE et al., 1995).

Grupo 1: Plasmocitoma bem diferenciado: Plasmocitoma plasmocítico. (Figura 1)

Caracterizado por infiltrado monótono de plasmocitos com atipias discretas, citoplasma eosinofílico e com núcleo excêntrico e deslocado para a periferia da

célula. Podendo existir plasmocitos maiores, binucleados, além de inclusão intranuclear ou intracitoplasmática. Áreas de hemorragia em meio ao tumor podem ser vistas, bem como depósito de material amiloide.

Grupo 2: Plasmocitoma pouco diferenciado: Plasmoblástico. (Figura 2)

As células têm aspecto mais imaturo, com cromatina menos condensada, núcleo vesicular e nucléolo evidente. O citoplasma é anofílico ou basofílico, com presença de área correspondente ao Golgi evidente. Podem ser vistas áreas de plasmocitoma bem diferenciado, porém identifica-se um aumento gradual do grau de atípia das células neoplásicas, exibindo células plasmocitoídes com nucléolos proeminentes e aumento do número de mitoses. Entretanto o diagnóstico de plasmocitoma ao H&E era factível.

Grupo 3: Linfoma Plasmoblástico/Plasmocitoma Anaplásico. (Figura 4)

Nestes pacientes há uma maior variação no tamanho das células, há numerosas figuras de mitoses. As células têm aspecto de blastos com citoplasma de tamanho médio, núcleos vesiculosos e nucléolo que pode ser único, central, tão proeminente como no imunoblasto. São visualizadas células com características plasmocitoídes entre as células neoplásicas e imunoblastos. Presença de “céu estrelado” em alguns pacientes. Nestes pacientes não é possível distinção morfológica entre plasmocitoma anaplásico e um LDGC com diferenciação plasmoblástica ou ainda Linfoma plasmoblástico clássico.

Grupo 4: Linfomas B com diferenciação plasmocitoíde. (Figura 3)

Linfomas diversos nos quais foram identificados células com aspecto plasmocitoíde. Neste grupo encontram-se entidades clínicas bem definidas com o Linfoma de Burkitt plasmocitoíde, o Linfoma MALT e o Linfoma linfoplasmocítico. Algumas dessas

entidades foram relacionadas no nosso trabalho para comparação do prognóstico, pois apresentaram uma morfologia com diferenciação plasmocitoíde.

Embora todos os pacientes tenham sido classificados morfologicamente como plasmocitoma a investigação do prontuário mostrou que alguns pacientes possuíam critérios clínicos para diagnóstico de Mieloma Múltiplo (Ver resultados).

O perfil imunoistoquímico relacionado baseou-se na expressão fraca de CD20, expressão de CD79, VS38c, kappa ou lambda.

4.6 LEVANTAMENTO DE PACIENTES PARA ESTUDO MORFOLÓGICO E IMUNOISTOQUÍMICO

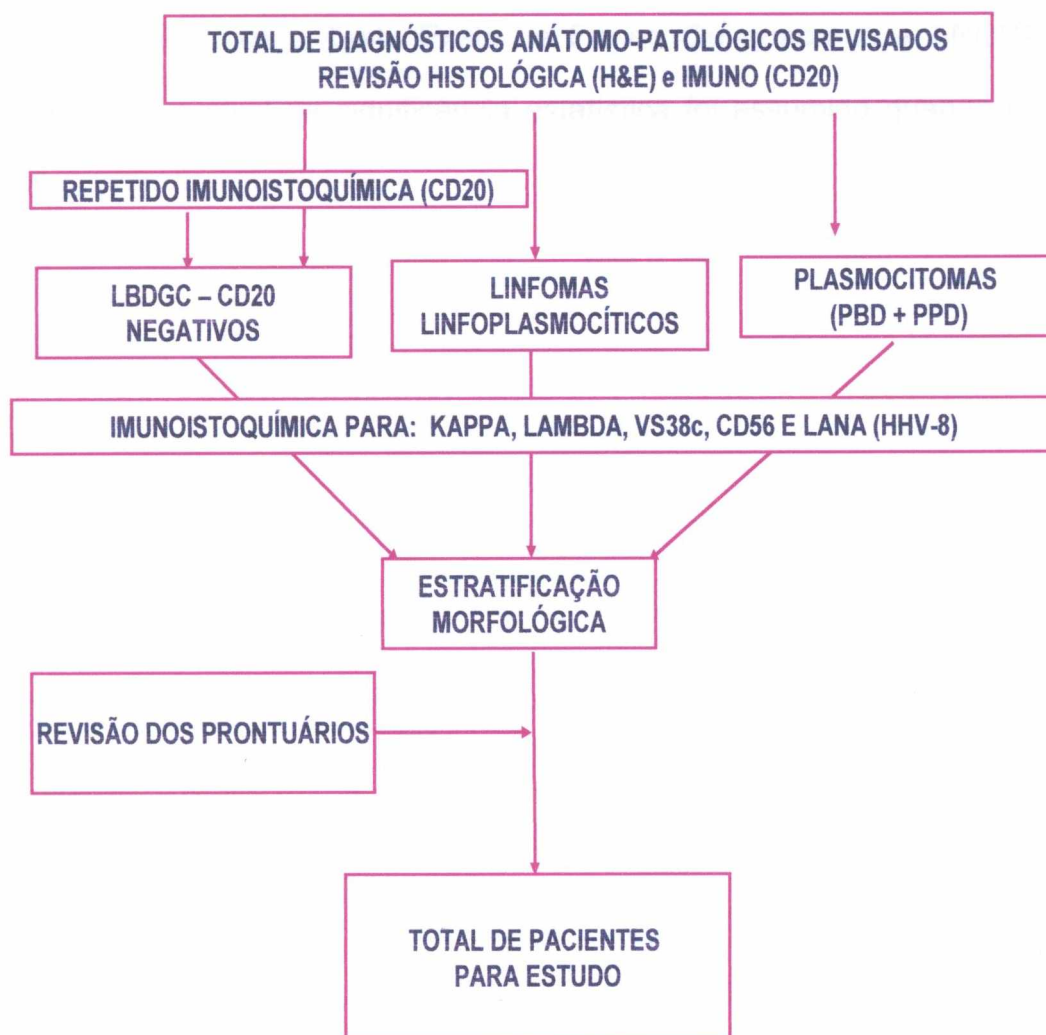
Foram levantados todos os pacientes diagnosticados como Plasmocitomas e Linfomas entre 01 de janeiro de 2000 a 31 de dezembro de 2004 no Hospital Aristides Maltez (HAM) somando 346 pacientes.

Destes, 78 pacientes foram excluídos por não terem registro no HAM, restando 268 pacientes com registro no HAM. Destes 268 pacientes, foram selecionados os pacientes com diagnóstico de Linfoma B difuso de grandes células (LBDGC), linfomas de pequenas células com diferenciação plasmocitoíde (LBPCDP), e os Plasmocitomas (P), correspondendo a 177 pacientes. Foram encontrados, os respectivos blocos e lamina nos arquivos do HAM de 154 pacientes e estes foram submetidos a revisão histológica para identificar os linfomas com diferenciação plasmocitoíde/plasmoblástica e plasmocitomas. Foram selecionados:

130 pacientes com linfoma B difuso de grandes células e selecionados 14 LBDGC-P;

18 pacientes com Plasmocitoma/ Mielomas Múltiplo e 02 pacientes com linfomas de pequenas células com diferenciação plasmocítica. Em 04 pacientes não foram encontrados blocos ou laminas nos arquivos do HAM. Foram agrupados, para análise dos resultados, os pacientes com diagnósticos de mielomas e plasmocitomas dos grupos 1 e 2.

4.7 DESENHO DO ESTUDO



Legenda:

P.B.D- Plasmocitoma bem diferenciado.

P.P.D- Plasmocitoma pouco diferenciado.

4.8 ANALISE ESTATÍSTICA

Foi realizada análise estatística dos dados obtidos através dos “softwares” Biostat 3.0 e SPSS, utilizamos o Teste Exato de Fisher, Qui-quadrado e ANOVA (análise da variância) e o nível de significância estatística foi assumido quando o valor de $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

Foram estudados 34 pacientes, com idade variando de 18 a 83 anos (média de 58 anos), sendo que 08 pacientes tinham menos que 50 anos. A proporção homem:mulher foi aproximadamente 1:1.

Utilizando critérios descritos na metodologia os 34 pacientes foram distribuídos nos quatro grupos morfológicos:

- 1- Grupo 1: Plasmocitomas bem diferenciados (n= 15).
- 2- Grupo 2: Plasmocitomas pouco diferenciados (n= 03).
- 3-Grupo 3: Linfomas com diferenciação Plasmoblástica e Plasmocitomas Anaplásicos (n= 14).
- 4- Grupo 4: Outros linfomas B com diferenciação plasmocitoíde (n= 02).

5.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DAS DIFERENTES CATEGORIAS

Grupo 1: PLASMOCITOMAS BEM DIFERENCIADO (Figura 1)

Quinze pacientes foram classificados como Plasmocitomas bem diferenciados (pacientes 01, 04, 06, 07, 09, 11, 13, 15, 16, 17, 20, 32, 33, 35 e 40) baseados em critérios descritos na metodologia (Figura 1). A idade variou de 42 a 83 anos, com idade média de 60,2 anos ($\pm 12,1$) e relação homem: mulher de 2:3. Os sítios de acometimento ao diagnóstico foram: parede torácica-costela (05 pacientes), coluna lombar (03 pacientes), fêmur (03 pacientes), escápula (01 paciente), ombro-clavícula (01 paciente), bacia-sacro (01 paciente) e seio maxilar (01 paciente). A localização óssea ocorreu em 14 pacientes e em apenas um paciente a localização foi extra-

óssea. Baseados nos critérios da OMS, nove de 15 pacientes (60 %) estavam dentro de um contexto clínico de Mieloma Múltiplo clássico ao diagnóstico (pacientes 4, 6, 9, 11, 13, 15, 20, 33 e 35), sendo que em apenas três pacientes foi realizada biópsia de medula óssea que mostrou comprometimento. Em seis pacientes (40%) havia um contexto clínico de Plasmocitoma isolado (05 em osso e 01 em partes moles). Na recidiva, dois desses pacientes evoluíram para Mieloma Múltiplo num tempo médio de 22 meses. A queixa principal dos pacientes era dor localizada, associada à perda de peso. As alterações laboratoriais destes pacientes ao diagnóstico estão listadas na tabela B. A sorologia para HIV não foi realizada em nenhum destes pacientes. Dos quinze pacientes, nove foram a óbito devido a doença, dois estão vivos com doença, dois estão vivos sem doença aparente e dois têm desfecho clínico desconhecido. O tempo de sobrevida global médio foi de 21,5 meses.

Tabela B.

Exames laboratoriais alterados, estadiamento e desfecho clínico em 15 pacientes com morfologia de plasmocitoma bem diferenciado e apresentação clínica.

Quadro Clínico	Anemia	Creatinina	Globulinas	Estadiamento			Sobrevida	Óbito
	Hb<10g/dl	< 1,3 mg/dl	> 4 g/dl	I	II	III	(meses)	
Mieloma	3/8	4/8 ^a	1/9	1/9	1/9	7/9	18,7	7/9
Plasmocitoma	2/6	2/5 ^b	1/6	3/6	1/6	2/6	24,5	1/6 ^c
Total	5/15	3/13	2/15	4/15	2/15	9/15	21,5	9/13

^a - Dosagem de globulinas não realizada em 2 pacientes;

^b - Dosagem de globulinas não realizada em 1 paciente;

^c - Dois pacientes têm desfecho clínico desconhecido.

Foi utilizado o sistema de estadiamento de Salmon & Durie.

Grupo 2: PLASMOCITOMAS POUCO DIFERENCIADOS (FIGURA 2)

Três pacientes foram classificados como Plasmocitomas pouco diferenciados (pacientes 08, 21 e 37). A idade variou de 48 a 60 anos com média de 53,3 anos ($\pm 6,1$). A proporção homem: mulher foi de 1:2. Os sítios de acometimento ao diagnóstico foram: coluna lombar (02 pacientes) e mama (01 paciente). Em dois pacientes havia acometimento ósseo e nestes havia critérios clínicos para diagnóstico de Mieloma Múltiplo. A queixa principal dos pacientes foi dor em coluna vertebral (2 pacientes) e tumoração localizada em mama direita (1 paciente). Dois pacientes exibiam LDH elevada e um destes exibia extrema elevação da creatinina plasmática (>10mg/dl). Demais dados laboratoriais, incluindo níveis de globulina estavam inalterados nestes pacientes. A sorologia para HIV não foi realizada em nenhum destes pacientes. Dos três pacientes, um foi a óbito devido a doença, dois estão

vivos, um com doença e outro sem doença. O óbito ocorreu no paciente mais idoso e que exibia alterações significativas dos exames laboratoriais (LDH>718 e creatinina 10,2 mg/dl). O paciente que sobrevive com doença apresenta mieloma múltiplo com quadro clínico distinto. Este paciente de 48 anos possuía diagnóstico anterior de adenocarcinoma de próstata e lesões osteolíticas em coluna vertebral com paraplegia. A biópsia das lesões ósseas mostrou tratar-se de Plasmocitoma pouco diferenciado/mieloma múltiplo. Este paciente recebeu tratamento padronizado para Mieloma com melhora clínica significativa. O paciente com cura clínica tratava-se de uma mulher que foi submetida a exérese completa de tumoração em mama como único tratamento.

Grupo 3: LINFOMAS B DIFUSO DE GRANDES CÉLULAS-PLASMOBLÁSTICO/PLASMOCITOMAS ANAPLÁSICOS (FIGURA 3)

Quatorze pacientes foram classificados como Linfoma Plasmoblásticos/Plasmocitomas Anaplásicos (pacientes 02, 12, 22, 23, 24, 25, 26, 28, 29, 31, 34, 36, 38 e 39) baseados em critérios descritos na metodologia. A idade variou de 18 a 82 anos com idade média de 58,5 anos ($\pm 19,2$ anos) com uma relação homem: mulher de 1:1. Os sítios de acometimento ao diagnóstico foram: retroperitônio (03 pacientes), cervical (03 pacientes), estômago (02 pacientes), intestino (01 paciente), inguinal (01 paciente), fêmur (01 paciente), quadril (01 paciente), palato (01 paciente), mandíbula (01 paciente). O sítio de acometimento nodal ao diagnóstico ocorreu em sete pacientes e no restante dos pacientes a apresentação foi extra-nodal, sendo quatro destes de localização óssea. Baseado nos critérios da OMS, apenas um paciente, de localização em quadril, estava dentro de

um contexto clínico de Mieloma Múltiplo. Em apenas um paciente foi realizada biópsia de medula óssea que não mostrou comprometimento.

A queixa principal dos pacientes era tumoração localizada, associada à perda de peso. As alterações laboratoriais destes pacientes ao diagnóstico estão listadas na **tabela C**.

A sorologia para HIV foi realizada em quatro pacientes com resultado positivo em um paciente. Dos quatorze pacientes, sete foram a óbito devido a doença, um está vivo com doença, um está vivo sem doença aparente e cinco têm desfecho clínico desconhecido. Considerando pacientes com acompanhamento clínico completo, o tempo de sobrevida global médio foi de 13,8 meses.

Excluindo-se uma paciente com sobrevida global de 80 meses e sem manifestação clínica de doença por 30 meses, o tempo de sobrevida global médio foi ainda menor (9,9 meses). A paciente com longa sobrevida era muito jovem (18 anos), possuía tumoração em mandíbula, simulando a apresentação de um linfoma de Burkitt, infecção pelo EBV em células tumorais (Figura 4G) e sorologia para HIV negativa. Esta paciente respondeu bem ao tratamento com quimioterapia e radioterapia. Quatro anos depois apresentou recidiva no osso femoral com remissão parcial após segundo tratamento. Esta paciente permaneceu com doença durante 24 meses e evoluiu com envolvimento nodal e elevação de globulinas, sem acometimento de medula óssea.

Tabela C

Achados clínicos em 14 pacientes com quadro de Linfoma Plasmoblástico

Apresentação Clínica	Anemia	Globulinas	Creatinina	Estadiamento		Sobrevida	Óbito
	Hb < 10g/dl	> 4 g/dl	> 1,3mg/dl	I-II	III-IV	Média (meses)	
Linfoma Plasmoblástico	6/12 ^a	2/9 ^b	2/10 ^c	3 ^d	3 ^d	13,8	8/10 ^e

Legenda:

- ^a – Hemograma não realizado em dois pacientes;
^b – Dosagem de globulinas não realizada em 5 pacientes;
^c – Dosagem de creatinina não realizada em 4 pacientes;
^d – Estadiamento não realizado em 8 pacientes;
^e – Quatro pacientes têm desfecho clínico desconhecido.

Grupo 4: LINFOMAS DE PEQUENAS CÉLULAS COM DIFERENCIAÇÃO PLASMOCITOÍDE (FIGURA 3)

Dois pacientes foram classificados como Linfoma B difuso de pequenas células com diferenciação plasmocitóide (pacientes 10 e 27). As idades foram 31 e 74 anos e ambos do sexo masculino. O sítio de acometimento destes pacientes foi seio da face e não havia acometimento ósseo nem quadro clínico de mieloma múltiplo. Em um paciente havia acometimento nodal associado. A queixa principal dos pacientes era rinorreia e obstrução nasal. Em um dos pacientes havia elevação de globulinas

(>4g/dl). A sorologia para HIV foi realizada em um destes pacientes, com resultado negativo. Os dois pacientes estão vivos, sendo que a sobrevivida livre de doença foi de 57 e 28 meses. Um paciente permanece com doença (linfonodos palpáveis) sem piora clínica.

5.2 CARACTERÍSTICAS IMUNOFENOTÍPICAS DOS DIFERENTES GRUPOS (SUMARIZADA NA TABELA D)

5.2.1 EXPRESSÃO DE CD20

Quando comparamos a expressão de CD20 nos diversos grupos observamos os seguintes resultados:

1-Grupo 1: Plasmocitomas bem diferenciados- Em apenas um dos 15 pacientes (6%) foi observada forte positividade para CD20 em até 10 % das células neoplásicas. Nenhum destes pacientes apresentou positividade difusa para este marcador.

2-Grupo 2: Plasmocitomas pouco diferenciados. Em apenas um dos três pacientes foi observado positividade fraca para CD20 em até 10 % das células neoplásicas. Todos os pacientes negativos apresentavam controle interno positivo (raros linfócitos pequenos reacionais)

3-Grupo 3: Linfomas com diferenciação Plasmoblástica e Plasmocitomas Anaplásicos. Dos 14 pacientes, um paciente teve positividade forte e difusa (>50% das células) e em três pacientes foi observada uma positividade fraca e focal. Todos os pacientes negativos apresentavam controle interno positivo (raros linfócitos pequenos B CD 20-positivos reacionais) (Figura 4C)

4-Grupo 4: Outros linfomas B com diferenciação plasmocitoíde. Os dois pacientes estudados exibiram forte positividade para CD20 em mais de 50% das células (Figura 3C).

5.2.2 EXPRESSÃO DE CD56

Quando comparamos a expressão de CD56 nos diversos grupos observamos os seguintes resultados:

1-Grupo 1: Plasmocitomas bem diferenciados. A positividade para CD56 foi observada em dez de 13 pacientes (77 %) estudados, sendo que em nove pacientes (69%) a positividade foi forte e em virtualmente 100% das células (Figura 1E). Em um paciente a positividade foi focal. Em três pacientes a marcação resultou negativa. Destes treze pacientes quatro foram submetidos a descalcificação.

2-Grupo 2: Plasmocitomas pouco diferenciados. A expressão de CD56 foi observada em dois pacientes, sendo focal em um destes. Em um paciente a marcação resultou negativa.

3-Grupo 3: Linfomas com diferenciação Plasmoblástica e Plasmocitomas Anaplásicos. A pesquisa da expressão de CD56 foi realizada em 11 de 14 pacientes, sendo positiva em apenas um paciente, com positividade forte e em mais de 50% das células. A correlação com quadro clínico de plasmocitoma/mieloma foi significativa ($p < 0,05$).

4-Grupo 4: Outros linfomas B com diferenciação plasmocitoíde. Os dois pacientes estudados foram negativos para CD56.

Adicionalmente foram estudados seis linfomas que foram retirados do estudo por apresentarem morfologia compatível com diferenciação plasmocitóide não confirmado pelo perfil imunistoquímico (negatividade para VS38c e para cadeias leves de imunoglobulina). Nenhum destes pacientes foi positivo para CD56.

5.2.3 EXPRESSÃO DE VS38c

Quando comparamos a expressão de VS38c nos diversos grupos, observamos os seguintes resultados:

1-Grupo 1: Plasmocitomas bem diferenciados. A pesquisa de VS38c foi realizada em todos os 15 pacientes, sendo fortemente positiva em todos os pacientes (15/15).

(Figura 1)

2-Grupo 2: Plasmocitomas pouco diferenciados. Dos três pacientes, dois foram fortemente positivos para VS38c e um foi negativo.

3-Grupo 3: Linfomas com diferenciação Plasmoblástica e Plasmocitomas Anaplásicos. A pesquisa de VS38c foi considerada satisfatória em 11 dos 14 pacientes. A positividade foi considerada forte em sete pacientes (64%), focal em dois pacientes e negativa em dois pacientes (Figura 4E).

4-Grupo 4: Outros linfomas B com diferenciação plasmocitóide. Os dois pacientes estudados foram positivos para VS38c, sendo que um marcou forte e outro focalmente (Figura 3D).

5.2.4 EXPRESSÃO DE CADEIA LEVE DE IMUNOGLOBULINA (kappa e lambda)

1-Grupo 1: Plasmocitomas bem diferenciados. A pesquisa da expressão de cadeia leve de imunoglobulina resultou satisfatória em 12 dos 15 pacientes. A positividade para kappa foi observada em 10 pacientes e a positividade para lambda foi observada em dois pacientes.

2-Grupo 2: Plasmocitomas pouco diferenciados. Dos três pacientes estudados um foi positivo para kappa, um para lambda e em outro a reação foi insatisfatória devido a dificuldade de interpretar os resultados devido a coloração de fundo.

3-Grupo 3: Linfomas com diferenciação Plasmoblástica e Plasmocitomas Anaplásicos. A pesquisa de cadeia leve foi realizada em 11 de 14 pacientes, sendo que em seis pacientes havia expressão forte de kappa (55%), um paciente havia forte expressão de lambda, dois pacientes expressão focal de lambda e em quatro pacientes não havia expressão de cadeia leve de imunoglobulina. (Figura 4F)

4-Grupo 4: Outros linfomas B com diferenciação plasmocitoíde. Os dois pacientes estudados foram positivos para kappa sendo que um expressava adicionalmente lambda.

5.2.5 EXPRESSÃO DE LNA-1 (HHV-8)

A pesquisa do antígeno de latência nuclear (LNA-1) do vírus HHV-8 foi negativa em todos os pacientes. O controle positivo representado por um Sarcoma de Kaposi foi fortemente positivo em todas as marcações realizadas (Figura 4H)

5.2.6 ÍNDICE DE PROLIFERAÇÃO CELULAR PELO MIB-1

1-Grupo 1: Plasmocitomas bem diferenciados. Este índice variou de 1% a 30% com uma média aproximadamente 10%.

2-Grupo 2: Plasmocitomas pouco diferenciados. O índice de proliferação celular resultou insatisfatório em todos os pacientes.

3-Grupo 3: Linfomas com diferenciação Plasmoblástica e Plasmocitomas Anaplásicos. Foi realizado em 13 de 14 pacientes (93%), não funcionou em 03 pacientes, sendo que variou entre 50 a 100%, com uma media de 84%.

4-Grupo 4: Outros linfomas B com diferenciação plasmocitoíde. Nos dois pacientes estudados, um apresentava índice de 20% e o outro de 80%.

Tabela D.

Aspectos imunoistoquímicos (expressão de CD20, CD56, VS38c, Kappa, Lambda, MIB e Lana) em todos os grupos morfológicos (n=34 pacientes).

Grupo Morfológico	CD20	CD56	VS38c	Kappa	Lambda	MIB	Lana
Grupo 1 (PBD)	1/15 ^a (6%)	10/13 ^b (60%)	15/15 (100%)	11/13 ^c (85%)	2/13 ^d (15%)	10%	Neg.
Grupo 2 (PPD)	1/3 (33%)	1/3 (33%)	2/3 (82%)	0/3 (0%)	1/3 (33%)	N.F.	Neg.
Grupo 3 (LP/PA)	4/14 (28%)	1/11 (9%)	9/11 (82%)	6/11 (55%)	1/11 (9%)	84%	Neg.
Grupo 4 (LPCP)	2/2 (100%)	0/2 (0%)	2/2 (100%)	2/2 (100%)	0/2 (0%)	50%	Neg.

Legenda: ^a – Realizado em 14 pacientes; ^b – Não realizado em 2 pacientes; ^c – Não realizado em 2 pacientes; ^d – Não realizado em 2 pacientes; Neg.: Reação negativa com controle positivo; N.F.: Reação não funcionou.

6. DISCUSSÃO

Linfomas Plasmoblásticos são linfomas de alto grau de malignidade com curso clínico desfavorável, descritos inicialmente em pacientes HIV positivos (DELECLUSE et al., 1997). Entretanto, estes linfomas tem sido descritos em pacientes imunocompetentes e parecem representar um grupo heterogêneo de neoplasias com comportamentos clínicos variáveis (COLOMO et al., 2004; TERUYA-FELDSTEIN et al., 2004; CARBONE et al., 2005). Do ponto de vista imunofenotípico estes linfomas se caracterizam pela perda da expressão de marcadores linfóides B (CD20) e positividade para marcadores de diferenciação plasmocitoíde tais como CD79 e VS38c (CIOCCO et al., 2004; DONG et al., 2005; VEGA et al., 2005). A similaridade fenotípica desta entidade com plasmocitomas e linfomas com diferenciação plasmocítica, principalmente quando pouco diferenciados tem levado a dificuldades diagnósticas. Portanto, resolvemos caracterizar os linfomas difusos de grandes células com diferenciação plasmoblástica quanto aos aspectos clínicos, imunofenotípicos e associação viral comparando com plasmocitomas e linfomas com diferenciação plasmocítica.

Para tanto estudamos um total de 34 casos, sendo 14 casos de Linfoma difuso de grandes células com diferenciação plasmoblástica (LBDGC-P), 18 casos de Plasmocitoma/mieloma (P/M) e 02 casos de Linfomas de pequenas células com diferenciação plasmocitoíde (LBPC-P), ocorridos entre 01 de janeiro de 2000 e 31 de dezembro de 2004 no Hospital Aristides Maltez (HAM). Os critérios para a classificação foram descritos na Metodologia.

6.1 ASPECTOS GERAIS

As neoplasias hemato-linfoides, excetuando-se os linfomas foliculares e de zona marginal, acometem predominantemente pacientes do sexo masculino (CARTWHITE et al., 2001). No Brasil, estudo realizado em São Paulo (CORADAZZI et al., 2002) mostrou uma maior freqüência dos mielomas em homens (65%). No nosso estudo, ambos os sexos foram acometidos em igual proporção (1:1), com discreto predomínio do sexo feminino nos plasmocitomas. Uma maior freqüência de plasmocitomas no sexo feminino foi descrito por Morton et al (2006), em números absolutos, na população negra americana. Considerando a grande freqüência de afro-descendentes na Bahia, a maior proporção de plasmocitoma no sexo feminino no nosso estudo pode ser resultado da preponderância da população negra e mestiça no nosso meio.

Os linfomas plasmoblásticos e mielomas com morfologia anaplásica (plasmoblástica) têm sido descritos predominantemente em pacientes do sexo masculino, com uma relação homem/mulher variando de 4:1 a 3:1 (VEGA et al., 2005; TERUYA-FELDSTEIN et al., 2004; COLOMO et al. 2004). Porém nestas series a grande parte destes linfomas exibiam associação com o vírus HIV. Sabe-se que a infecção pelo HIV ocorre predominantemente no sexo masculino e que esta infecção está associada a risco elevado para o desenvolvimento de Linfomas não-Hodgkin (LNH) de alto grau de malignidade (CARBONE et al, 2005; PORTUGAL, 2004), principalmente plasmoblásticos. Conseqüentemente, a nítida preponderância destes

linfomas no sexo masculino, nestes estudos, pode ser resultado adicional da associação destes linfomas com HIV.

No nosso estudo, dos cinco casos investigados para HIV, apenas um paciente masculino foi positivo. Desde que a associação do HIV com Linfomas difusos de grandes células é muito importante, principalmente nos linfomas plasmoblásticos, duas hipóteses são possíveis no contexto HIV e Linfoma: a) Um aumento do número de pacientes do sexo feminino com linfoma e portadoras de HIV não diagnosticadas, refletindo a alteração da epidemiologia do vírus no nosso meio que aponta para aumento da prevalência no sexo feminino (RODRIGUES-JUNIOR A.L., CASTILHO E.A., 2004; SZWARCWALD F.I., ESTEVES M.A.P., 2000); b) Existência de um maior número de linfomas com diferenciação plasmoblástica em pacientes do sexo feminino sem a associação com HIV. Embora exista, no nosso estudo, um caso do sexo feminino de linfoma plasmoblástico sem associação com HIV, comprovada sorologicamente, a ausência da investigação desta infecção em todos os casos impossibilita conclusões acerca destas hipóteses.

A incidência de mieloma/plasmocitoma aumenta com a idade, sendo a incidência baixa em pacientes com menos de 40 anos (apenas cerca de 2% de todos os mielomas/plasmocitomas) e atingindo um pico nos pacientes em torno da 8ª década (FASSAS A., TRICOT G., 2001). No nosso estudo encontramos uma idade média de 60 anos na população estudada e nenhum caso abaixo de 40 anos. Nossos dados correspondem aos de Coradazzi et al, (2002) que demonstraram uma idade média de 65 anos nos pacientes com plasmocitoma/mieloma em São Paulo. Os mielomas geralmente ocorrem em pacientes com média de idade superior aos dos plasmocitomas (Di MICCO P.; Di MICCO B., 2005), porém, mielomas que evoluem de

plasmocitomas ocorrem em pacientes mais jovens (BERTANHA F. et al., 2006). No nosso trabalho, os pacientes com quadro clínico de Mieloma possuíam idade média inferior (56,9 anos) a dos pacientes com Plasmocitoma (63,3 anos) ($p=0,125$). Isto poderia estar relacionada ao diagnóstico tardio da doença no nosso meio e consequentemente representar, em parte, a evolução de plasmocitomas não diagnosticados para mielomas. Entretanto, apenas um estudo prospectivo de seguimento dos plasmocitomas poderia comprovar esta hipótese.

Os linfomas plasmoblásticos ou linfomas difusos de grandes células CD20-negativos têm sido descritos em pacientes mais jovens quando comparados aos mielomas múltiplos/plasmocitomas. Na serie de Delecluse et al, a idade média dos pacientes foi de 41 anos, variando entre 27 e 75 anos. No nosso estudo, a idade média nesse grupo foi de 58 anos, variando entre 18 e 82 anos e não houve diferença estatística quando comparado a idade de acometimento do grupo mieloma/plasmocitoma ($p = 0,92$). Distintamente, Colomo et al e Teruya-Feldstein et al., descrevem uma média de idade inferior (39,5 anos) aos nossos pacientes, principalmente quando estes estavam associados a HIV (34,6 anos). A média de idade dos nossos pacientes é ainda maior (63,5 anos) se forem excluídos os dois pacientes mais jovens do nosso estudo, um com sorologia negativa para HIV (18 anos) e outro com sorologia positiva (de 38 anos). Desde que LNH associados a HIV ocorrem em pacientes mais jovens que LNH em pacientes HIV negativos (PORTUGAL, 2004), a média de idade superior nos nossos pacientes pode ser uma indicação indireta de que estes linfomas não estejam relacionados a infecção pelo HIV.

Os linfomas de pequenas células B com diferenciação plasmocítica também acometem predominantemente pacientes do sexo masculino e com uma média (63 anos) elevada (DIMOPOULOS M.A. et al., 2000; VIJAY A., GERTZ M.A., 2007). No nosso estudo existiam apenas dois pacientes do sexo masculino, porém foi possível comparação devido ao pequeno número de casos.

6.2 APRESENTAÇÃO CLÍNICA

A apresentação clínica do Plasmocitoma/Mieloma é variável e em países desenvolvidos tem sido descrita em estádios mais precoces. Nos Estados Unidos, em estudo recente com 1384 pacientes com Gamopatia Monoclonal de Significado Indeterminado (MGUS) diagnosticados entre 1960 e 1994, 115 pacientes evoluíram para um quadro de Mieloma Múltiplo ou outra doença linfoproliferativa. Nesse estudo, o risco relativo para Mieloma foi 25 vezes maior quando comparado com a população controle. O risco de progressão de MGUS para Mieloma foi de 1% ao ano (KYLE et al., 2002). Em Minnesota (EUA) um estudo mostrou que 47 pacientes com diagnóstico de Mieloma, 38% tinham diagnóstico anterior de MUGS. (KYLE et al., 2004). Porém isso pode variar de um centro para outro dependendo da amostragem, variáveis sócio-econômicas e evolução nos métodos para diagnóstico.

Na Itália, Cavo et al. em 1989 referem que 48% de 163 pacientes com Mieloma tinham múltiplas lesões ósseas líticas e eram sintomáticos, com doença avançada em 53% dos pacientes. No nosso estudo todos os pacientes com Mieloma tinham lesões ósseas múltiplas e não havia registro anterior de MGUS. Semelhante ao estudo

italiano, 60% dos nossos pacientes com mieloma apresentavam doença avançada. Da mesma forma, manifestações tais como anemia e insuficiência renal, descritas por Cavo e colaboradores, em 36% e 19 % dos pacientes com mieloma, foram semelhantes aos 33% e 16% observados nos nossos pacientes.

A literatura aponta os ossos chatos, com maior atividade hematopoiética, como os principais sítios de localização dos plasmocitomas. Bertanha et al (2006), referem que a principal localização foi coluna vertebral, registrada em 53,3% dos 30 casos estudados. Na nossa série tanto os plasmocitomas quanto os mielomas ocorreram preferencialmente em ossos chatos, sendo que a principal localização foi em parede torácica/costela, seguido por coluna lombar. Não houve diferença significativa entre os pacientes com plasmocitoma ou mieloma quanto ao tipo ósseo acometido ($p=0,85$).

Em relação aos Linfomas Plasmoblásticos/Plasmocitomas Anaplasicos, Colomo et al, ao estudar 48 pacientes, subclassificou-os em Linfoma Plasmoblástico tipo mucosa oral (grupo 1), preferencialmente associados a HIV (73% dos casos); Linfoma Plasmoblástico com diferenciação plasmocítica (grupo 2) também associado ao HIV (33% dos casos) e Tumores plasmoblásticos extra-medulares (grupo 3) em pacientes com diagnóstico prévio de mieloma. No nosso estudo dos 14 linfomas plasmoblásticos, apenas um, possuía diagnóstico prévio de mieloma múltiplo e os demais casos correspondiam aos grupos morfológicos 1 e 2 de Colomo. Porém, distinto deste estudo, verificamos apenas um paciente com linfoma plasmoblástico HIV-positivo tipo mucosa oral. Tanto no LP tipo mucosa oral quanto nos demais grupos os pacientes estavam em estágios avançados de doença. Da mesma forma, a

maioria dos nossos pacientes com morfologia tipo linfoma plasmobástico, tinha doença nodal e estadiamento avançado. Por outro lado, todos os pacientes com doença em estágio I apresentaram acometimento extranodal, com predomínio em estômago (02 pacientes). Isto indica que estes linfomas surgiram em sítios extranodais e com a progressão da doença houve disseminação para linfonodos.

6.3 ASPECTOS MORFOLÓGICOS

Embora a OMS (2001) não considere variações morfológicas dos plasmocitomas/mielomas classificando-as como categorias com prognósticos diferenciados. Jaffe e colaboradores descreveram que 10% dos pacientes com mieloma apresentam morfologia contendo blastos o que confere pior prognóstico. Também Greip et al., em 1998, mostrou que a predominância de morfologia plasmoblástica piora o prognóstico dos pacientes como um fator isolado, independente de idade, sexo, presença ou ausência de lesões ósseas, caracterizada por uma sobrevida média menor nos dois primeiros anos. Este autor conclui que o comportamento agressivo desta variante poderia ser explicado pela elevação nos níveis de receptores para IL-6 e uma alta incidência de mutações do gene *ras* encontradas nestes casos.

Nos casos estudados, os plasmocitomas/mielomas apresentaram morfologia semelhante a plasmócitos normais, não sendo possível identificar uma ou outra entidade através de critérios morfológicos isolados. Células neoplásicas

multinucleadas, lobuladas e corpúsculo de Dutcher foram vistos em todos os subtipos histológicos, e mesmo no plasmocitoma bem diferenciado foi possível identificar raras células com aspecto plasmoblástico. O contrário também pôde ser verificado, ou seja, identificamos mesmo nos casos com padrão plasmoblástico e anaplásico a presença de células neoplásicas de aspecto plasmocítico em menor proporção. O depósito de proteína amiloide e corpúsculo de Russel só foram identificados nos subtipos com maior diferenciação histológica.

6.4 ASPECTOS IMUNOFENOTÍPICOS

6.4.1 EXPRESSÃO DE CD20

Investigamos um grupo de neoplasias que mostram aspectos imunofenotípicos de uma célula B em estágio terminal de diferenciação. Desta forma, com algumas exceções, observou-se a perda da expressão de marcadores de células B (CD20). Repetimos a pesquisa para CD20 a fim de confirmar a negatividade deste marcador, já que fazia parte dos critérios para a seleção dos LP. Desde que todos os casos negativos para CD20 tinham controle interno positivo, representado por pequenos linfócitos reacionais, a reação foi considerada satisfatória e não se tratava de falso negativo.

Nos Linfomas Plasmoblásticos a expressão de CD20 foi observada em quatro de 14 casos, sendo que em apenas um a positividade foi em até 50% das células neoplásicas, outros três casos revelaram positividade fraca e focal. A publicação

original de Delecluse (1997) mostra achado semelhante, referindo esta entidade como uma neoplasia linfóide B com fraca expressão de CD20. Colomo (2004) verificou também positividade fraca e focal em cinco de 48 casos estudados, mantendo um padrão de expressão fraca e focal. Entretanto Teruya-Feldstein (2004) mostrou ausência de marcação para CD20 em 12 casos e Vega (2004) também descreve negatividade em 16 casos estudados. Nos estudos citados anteriormente, inclusive o nosso, a expressão de CD20, quando verificada, sempre foi menos intensa que a expressão de CD 79. Desde que CD20 tem sido usado como alvo terapêutico em linfomas, isto implica que os pacientes com estes linfomas podem não se beneficiar da terapia anti-CD20.

Na literatura a expressão de CD20 para os plasmocitomas é referida com fraca ou ausente (JAFFE et al., 2001; BATAILLE et al., 2006) e relacionada a células com morfologia linfoplasmocítica. Entretanto Robillard e colaboradores, em 2003, ao reinvestigar 66 casos de mieloma encontrou positividade para CD20 em 18% dos casos estudados, observada em mais de um terço das células neoplásicas, sendo que em 5 casos houve positividade para CD20 em 100% das células tumorais e presença da translocação t (11:14) em todos estes. Nenhum destes casos mostrou morfologia plasmoblástica. Entretanto Garcia-Sanz e colaboradores, em 1999, em estudo comparativo entre Leucemia Plasmocitaria e Mieloma Múltiplo mostrou maior reatividade do CD20 (50%) em relação ao Mieloma (17%), conferindo também pior prognóstico ao quadro leucêmico ($p = 0,0013$). No nosso estudo, dois plasmocitomas foram focalmente positivos para CD20 e ambos os pacientes estão vivos com doença residual, não estando relacionado com pior prognóstico.

Desde que CD20 tem sido usado como alvo terapêutico em linfomas, mesmo de baixo grau, estudos seriam necessários para verificar se pacientes com plasmocitomas positivos para CD20 se beneficiariam com esta terapia.

Distintamente dos plasmocitomas e dos linfomas plasmoblásticos, os Linfomas de pequenas células plasmocitoíde/plasmocítica apresentaram expressão forte de CD20 em mais de 50% das células. Isto indica um fato bem conhecido, de que este marcador seja importante para o diagnóstico diferencial entre linfomas e plasmocitomas. Porém, é necessário a investigação um demaior número de casos para avaliar o valor deste marcador no diagnóstico diferencial destas entidades.

6.4.2 EXPRESSÃO DE VS38c

Expressão de VS38c pode ser identificada em plasmocitos neoplásicos e normais, não sendo, portanto útil, de modo isolado na identificação de plasmocitomas. O VS38 liga-se a molécula de adesão *Syndecan-1*, a qual possui um longo domínio extracelular para ligação a moléculas solúveis (EGF,FGF) e insolúveis (colágeno e fibronectina), além de mediar ligação entre as células.

A expressão de VS38c foi identificada em 17 de 18 casos (95%) de plasmocitomas, apenas um caso foi negativo, caracterizado como plasmocitoma pouco diferenciado. Semelhante aos nossos achados, a literatura mostra ampla expressão deste anticorpo monoclonal variando de 89% até 100% dos casos estudados (MENKE D.M., 1998; GARCIA-SANZ et al. 1999; JAFFE et al. 2001; BATAILLE et al. 2006).

A maior parte dos linfomas plasmobásticos mostra um padrão intenso de positividade para VS38c (DELECLUSE et al., 1997; CARBONE et al., 1997; CIOC et al., 2004; DONG et al., 2005; VEGA et al., 2005). No nosso estudo 81% dos linfomas Plasmoblásticos mostraram positividade para este marcador. Dados da literatura indicam que a proporção de casos positivos aumenta com o uso adicional de outros marcadores, tais como CD38 e CD138. Porém, a indisponibilidade destes marcadores não nos permitiu verificar esta hipótese. Embora VS38c não tenha aplicação no diagnóstico diferencial entre plasmocitomas e linfomas plasmobásticos, nos nossos casos a expressão deste marcador ocorreu predominantemente nos plasmocitomas/mielomas ($p > 0,05$).

6.4.3 CADEIAS DE IMUNOGLOBULINAS

Em 85% dos plasmocitomas/mielomas as cadeias pesada e leve são produzidas simultaneamente e em apenas 15% dos casos somente a cadeia leve é produzida (JAFFE et al. 2001). A pesquisa de imunoglobulina de cadeia leve kappa (κ) e lambda (λ) foi realizada em 15 dos 18 casos de plasmocitomas, com positividade em 94% dos casos. Houve forte expressão monoclonal de cadeia leve kappa em 11 casos e 3 casos com expressão monoclonal de cadeia lambda. Apenas um caso de plasmocitoma pouco diferenciado mostrou dificuldade a interpretação devido a intensa coloração de fundo.

Os Linfomas Plasmoblásticos também apresentaram reatividade para cadeia leve de imunoglobulinas em 82% dos casos, com predomínio da cadeia leve kappa. Colomo refere positividade em 100% dos Plasmocitomas pouco diferenciados, 72% dos

Linfomas Plasmoblásticos tipo mucosa oral e em 93% dos casos de Linfomas Plasmoblásticos com diferenciação plasmocítica. Da mesma forma, porém em menor proporção, Vega e colaboradores mostraram maior positividade (86%) para os plasmocitomas plasmoblásticos em relação aos Linfomas Plasmoblásticos (43%). A nossa serie mostra um perfil de expressão de cadeia leve de imunoglobulina intermediário aos descritos por Colomo e col. e Vega e colaboradores. Devido a insignificância estatística, a expressão de cadeia leve de imunoglobulina não foi de utilidade no diagnóstico diferencial entre estas entidades.

6.4.4 EXPRESSÃO DE CD56

O CD56 é uma isoforma da molécula de adesão neural NCAM, sendo a primeira molécula de adesão completamente caracterizada no cérebro. Estas moléculas fazem parte da superfamília das imunoglobulinas e promovem a ligação de uma célula à outra (HOFFMAN S. et al., 1982). Foram descritas em outras neoplasias sólidas, como o tumor de Wilms, carcinoma pulmonar de pequenas células, neuroblastoma e sarcoma de Ewing (ROTH J. et al., 1998; PATEL K. et al., 1989). No tecido hematopoiético normal sua expressão é restrita aos linfócitos T citotóxicos e células “natural killer” (LANIER et al. 1986).

Van Camp et al, em 1990, foi o primeiro a demonstrar a expressão de CD56 em plasmocitomas. Foi estudada uma serie de 55 pacientes com mieloma, identificando-se positividade (mais de 50% das células) em 78% dos casos examinados, obtendo-se marcação citoplasmática e membranar. A ausência de marcação em plasmócitos não neoplásicos levou a este autor concluir que este marcador seria de utilidade no

diagnóstico diferencial entre plasmócitos normais e malignos. No nosso estudo, todos os casos eram neoplásicos, portanto não foi investigada a especificidade do CD56 como marcador de plasmócito neoplásico.

No Brasil, Coradazzi e colaboradores mostraram através de imunistoquímica positividade para CD56 em 65% da população estudada (20 pacientes), sendo esta marcação semelhante a descrita na literatura para a técnica de citometria de fluxo. Também no nosso estudo, a positividade para o CD56 ocorreu em 69% (11/16) dos plasmocitomas.

A expressão de CD56 tem sido relacionada ao grau de diferenciação plasmocítica, isto é, a melhor diferenciação da neoplasia. No nosso estudo não conseguimos comprovar esta hipótese, pois possuíamos um número restrito de plasmocitomas pouco diferenciados (03 casos), sendo um destes positivo. Por outro lado, observamos também plasmocitomas bem diferenciados negativos para CD56. Como este marcador não possuía controle interno, isto é, não havia células reacionais positivas, como observado em outros marcadores, não foi possível excluir a possibilidade de dificuldades técnicas. Principalmente considerando que muitos casos foram submetidos a tratamento ácido para descalcificação o que poderia alterar a reatividade do anticorpo.

Diversos trabalhos têm tentado demonstrar associação entre a expressão de CD56 nos plasmocitomas, presença de lesões ósseas e o prognóstico dos pacientes, isto também tem sido demonstrado nos linfomas (PELLAT-DECEUNYNCK et al, 1998; SUZUKI et al 2000). Pellat-Deceunynck et al (1998) ao estudar 94 pacientes com Mieloma e 27 pacientes com Leucemia Plasmocitária, através de citometria de fluxo, identificou três grupos: o primeiro com 64% de positividade em mais de 90% das

células, referindo-os como MM CD56(+); outro grupo com positividade fraca, em menos de 25% das células, chamado MM CD56 (fraco) e por último o grupo negativo, denominado MM CD56(-). A negatividade para CD56 foi relacionado a quadros leucêmicos e conseqüentemente com um pior prognóstico. Ao contrário, Sahara e colaboradores, em 2002, estudando 70 pacientes com mieloma múltiplo, classificou-os em CD56 positivos e CD56 negativos (79% e 21%, respectivamente) e não observou diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos, em termos de extensão de lesões ósseas ou estadiamento. Semelhante aos dados deste último autor, no nosso estudo não foi observada correlação estatística entre CD56 e presença de lesões ósseas nem estadiamento clínico.

Ely e Knwoles (2001) referem que CD56/NCAM é de importância no diagnóstico diferencial entre MM e Linfomas não-Hodgkin com diferenciação plasmocítica pois todos os linfomas, embora um pequeno número de pacientes tenha sido estudado (07), todos foram negativos para CD56. Colomo e colaboradores também referem uma menor expressão de CD56 nos linfomas plasmoblásticos (22,5%: 7/31 casos), sendo que a negatividade foi menor nos linfomas plasmoblásticos tipo mucosa oral (5%) quando comparado com os linfomas plasmoblásticos com diferenciação plasmocítica (46%). Contrariamente, Vega e colaboradores (2004) estudando 09 casos de LP encontraram positividade para CD56 em 56 % dos casos e referem que este marcador não teria utilidade no diagnóstico de mielomas múltiplos com morfologia anaplásica. No nosso estudo, verificamos uma correlação favorável entre a positividade para a marcação do CD56 e o diagnóstico de plasmocitoma ($p=0,04$). Isto sugere que mesmo nos casos de plasmocitomas pouco diferenciados de

localização extramedular a marcação para o CD56, poderia ser de utilidade no diagnóstico diferencial com Linfomas Plasmoblásticos.

6.4.5 MARCADOR DE PROLIFERAÇÃO CELULAR (MIB1)

A proliferação celular tem sido relacionada ao prognóstico nos plasmocitomas (ALEXANDRAKIS et al., 2004). Uma alta fração de proliferação celular tem sido descrita em plasmocitomas/mielomas recidivados com maior anaplasia (ALEXANDRAKIS et al., 2004). No nosso estudo todos os plasmocitomas/mielomas correspondiam ao primeiro diagnóstico e apresentavam baixo índice de proliferação celular quando comparado com os Linfomas Plasmoblásticos ($p= 0,0001$). Indiretamente, a maior fração de proliferação celular por corresponder aos LP tem correlação com pior prognóstico, porém não houve correlação com prognóstico considerando os casos em um determinado grupo.

6.6 ASSOCIAÇÃO VIRAL

Encontramos na literatura uma ampla referência quanto a associação entre as neoplasias de células B com padrão plasmocitoíde/plasmoblástico e infecção pelo Herpes Vírus tipo 8 (HHV-8), sendo que muitas dessas descrições são controversas e utilizam técnicas de detecção diferentes (DUPIN et al., 2000; CIOC et al., 2005; DELOOSE., 2005). Realizamos a pesquisa para o antígeno de latência nuclear (LANA-1), para o Herpes Vírus tipo 8 em 29 casos com material disponível em bloco de parafina e não encontramos positividade em nenhum destes casos. Todas as marcações utilizaram como controle externo um Sarcoma de Kaposi em linfonodo de paciente HIV positivo com resultado positivo específico no núcleo de células sarcomatosas.

A investigação do HHV-8 em Linfomas Plasmoblásticos ganhou maior importância depois da observação de Linfomas Primários de Efusão (LPE) sólidos. Estes apresentam morfologia e imunistoquímica superponível aos linfomas plasmoblásticos. O imunofenotipo desta entidade está caracterizado por negatividade para CD20, CD79, CD10, CD56 e Bcl-6, sendo positivos para marcadores relacionados aos plasmocitos tais como CD38, CD138, podendo também expressar cadeia monoclonal de imunoglobulina e, raros casos podem expressar marcadores de célula T (TERUYA-FELDSTEIN et al., 1998; CHADBURN et al, 2004). Porém, a identificação de marcação nuclear positiva para o HHV-8, associado à morfologia, é condição necessária para o diagnóstico de Linfoma Primário de Efusão, segundo critérios da OMS 2001. Recentemente, alguns autores alertam que alguns LP podem representar a variante sólida dos LPE (CHADBURN et al. 2004; MATE et al 2004).

Portanto, por definição, diante da negatividade para HHV-8, podemos admitir que não foi identificado nenhum paciente com esse diagnóstico em nossa série.

Parece haver um amplo espectro de doenças linfoproliferativas com diferenciação plasmocitoíde. Desta forma, temos em um extremo, os plasmocitomas clássicos, bem diferenciados com curso clínico indolente, seguindo-se aos plasmocitomas pouco diferenciados (com morfologia plasmoblástica), linfomas linfoplasmocíticos e linfomas plasmoblásticos em outro extremo.

Dentre os oncovírus, o vírus de Epstein-Barr tem sido descrito consistentemente em linfomas plasmoblásticos (DONG et al., 2005; VEGA et al., 2005). Porém o método ouro para detecção deste vírus em tecido é a hibridização *in situ* que ainda não está disponível no nosso meio, o que impossibilitou a realização desta investigação no nosso material. Em um caso, entretanto, esta técnica foi utilizada para firmar o diagnóstico de linfoma, pois se tratava de paciente jovem com lesão óssea em mandíbula e com aspectos morfológicos e imunoistoquímicos sobreponíveis ao plasmocitoma anaplásico. Conforme sugerido por Vega e colaboradores, a forma mais eficiente de discernir morfologicamente os plasmocitomas anaplásicos extramedulares dos linfomas seriam a pesquisa de EBER através de hibridização *in situ*.

Desde que o prognóstico e tratamento dos plasmocitomas diferem dos linfomas plasmoblásticos torna-se imperativo o diagnóstico diferencial entre estas entidades.

Para tanto, os aspectos clínicos, morfológicos e imunofenotípicos são indispensáveis e, possibilitam o diagnóstico diferencial entre os linfomas plasmoblásticos e plasmocitomas bem diferenciados, extremos do espectro destas neoplasias com diferenciação plasmocitárias. Porém, uma parcela dos casos permanece na zona de

intersecção, sem critérios para diagnóstico diferencial. Para estes, seria imprescindível a realização de estudos de associação viral (EBV) e moleculares na tentativa de determinar um perfil característico destas entidades.

6.3 PROGNÓSTICO

Em geral os mielomas tem curso indolente e o prognóstico está relacionado ao estadiamento clínico, morfologia contendo blastos, disfunção renal associada, anemia, presença de lesões líticas, contagem plaquetária e anemia (CAVO et al. 1989). A sobrevida global média dos plasmocitomas/mielomas é de 36 meses, com sobrevida de 10% em 10 anos (SALMON S.E., SELGMANN M., 1988). Nos nossos pacientes, a sobrevida global foi 21,5 meses, inferior à literatura mundial. Desde que a sobrevida está relacionada ao estadiamento (DURIE B. G., SALMON S.E., 1975), a menor sobrevida nos nossos casos poderia ser resultado de um maior número de pacientes em estádios avançados. Porém, quando correlacionamos com o estadiamento clínico no momento do diagnóstico a sobrevida média para os nossos pacientes também foi inferior aos da literatura (em média 1 ano). Fatores sócio-econômicos, protocolos diferenciados de tratamento e disponibilidade de assistência medica a população poderiam explicar parcialmente essas diferenças.

De acordo com Bataille e Sany (1981), 53% dos pacientes com plasmocitoma progridem para Mieloma em um tempo médio de 31 meses. Em alguns pacientes esta progressão pode ocorrer até após 17 anos (HOLLAND J. et al., 1992). Dos nossos 18

pacientes com diagnóstico anátomo-patológico de plasmocitoma/mieloma, 12 possuíam ao diagnóstico quadro clínico de mieloma e 06 de plasmocitoma localizado. Sendo que destes pacientes com plasmocitomas localizados, dois pacientes evoluíram para Mieloma Múltiplo num tempo médio de 22 meses durante as recidivas. Destes pacientes, os que apresentavam Mieloma Múltiplo evoluíram para o óbito numa proporção maior que os pacientes com Plasmocitoma isolado, e semelhante a literatura (BERTANHA et al., 2006), essa diferença foi estatisticamente significativa ($p= 0,04$).

Quando comparamos os grupos mielomas/plasmocitomas com os linfomas com diferenciação plasmocitoide de pequenas células, estes tiveram uma sobrevida global media maior, porém a amostragem reduzida de pacientes com LPCP (n=2) dificultou comparações.

Plasmocitomas extraósseos são descritos como uma entidade rara, segundo Alexiou et al (1999), a localização extramedular ocorre em 4% de todos os casos de Mieloma/Plasmocitomas, ocorrendo principalmente em trato aerodigestivo. Identificamos dois casos de plasmocitoma com localização extra-óssea (seio nasal e mama) e em nenhum destes casos houve evolução para Mieloma. Uma alta frequência de doença extra-medular (23%) tem sido descrita em pacientes com quadro inicial de Leucemia de células plasmáticas (GARCIA-SANZ et al., 1993). De modo geral, quando a doença extramedular inicia o quadro de Mieloma Múltiplo o prognóstico é sombrio (GARCIA-SANZ et al, 1993). Contrariamente, plasmocitomas extramedulares, localizados, exibem excelente prognóstico (GALENI P. et al., 2000), com sobrevida de 15 anos para 78% dos pacientes. No nosso estudo não

identificamos nenhum paciente com quadro clínico leucêmico e os dois pacientes com doença extraóssea apresentaram estágio IA e sobrevida global longa (34 meses).

Os linfomas com morfologia plasmoblástica exibem curso clínico agressivo. Os pacientes referidos na serie original de Delecluse apresentaram sobrevida média de 12 meses, entretanto outros autores mostraram sobrevida ainda menor (FLAITZ et al, 2002). Nos nossos pacientes a sobrevida global media foi 13,8 meses e a sobrevida livre de doença foi de 5,5 meses. Com relação ao estadiamento a sobrevida global media pode ser assim resumida: estágio I e II, 22,2 meses e estádios III e IV 11,7 meses. Em relação a sobrevida dos nossos pacientes no grupo de estágio I/II observou-se sobrevida desproporcionalmente elevada ao referido na literatura. Tratava-se, de paciente HIV negativa e positiva para infecção para o Vírus de Epstein-Barr. A infecção pelo EBV tem sido relacionada a melhor prognóstico em linfomas de Hodgkin em pacientes jovens (KEEGAN T.H. et al., 2005). Isto poderia por analogia estar relacionado a sobrevida longa (80 meses) desta paciente.

Uma nítida diferença na curva de sobrevida pode ser observada quando se comparou os plasmocitomas/mieloma aos LP, sendo que a maioria dos óbitos deste último grupo ocorreu nos primeiros meses após o diagnóstico, distinto dos plasmocitomas/mielomas (Gráfico 1A e 1B). O desfecho final foi o mesmo (óbito) para a maioria dos pacientes, entretanto os pacientes com Linfomas Plasmoblásticos morreram mais precocemente que os pacientes com plasmocitoma/mieloma.

7. CONCLUSÕES

- O nosso estudo mostrou uma predominância dos plasmocitomas em pacientes do sexo feminino. Considerando que mulheres afro-descendentes são mais acometidas por esta doença, isto poderia estar relacionado com a descendência africana da nossa na nossa população.
- A expressão do CD56 foi maior nos plasmocitomas que nos linfomas plasmoblásticos ($p=0,04$), podendo este marcador ser de utilidade no diagnóstico diferencial entre estas entidades.
- Demais marcadores (VS38c, CD20, cadeias leves de imunoglobulina) não ajudaram no diagnóstico diferencial entre plasmocitomas e linfomas plasmoblásticos.
- O CD20 provavelmente é importante para o diagnóstico de linfomas de pequenas células com diferenciação plasmocítica, porém o número de casos neste estudo não permite conclusão.
- O prognóstico quanto ao evento final (óbito) dos linfomas plasmoblásticos é semelhante aos plasmocitomas, porém estes diferem quanto a inclinação da curva de sobrevivência.
- O CD56 não se revelou um marcador prognóstico.

- Todos os casos estudados foram negativos para HHV-8, refutando a hipótese de que alguns Linfomas Plasmoblásticos representem a variante sólida do Linfoma de Efusão Primário na nossa série.
- O diagnóstico diferencial entre os extremos do espectro destas neoplasias (plasmocitomas bem diferenciados e Linfomas Plasmoblásticos) é exequível quando são considerados os critérios morfológicos, imunofenotípicos e clínicos (idade, localização, sorologia para HIV, informação acerca de lesão óssea associada).
- Casos na zona de intersecção poderiam se beneficiar de estudo da infecção pelo EBV e de possíveis características moleculares ainda a serem determinadas.

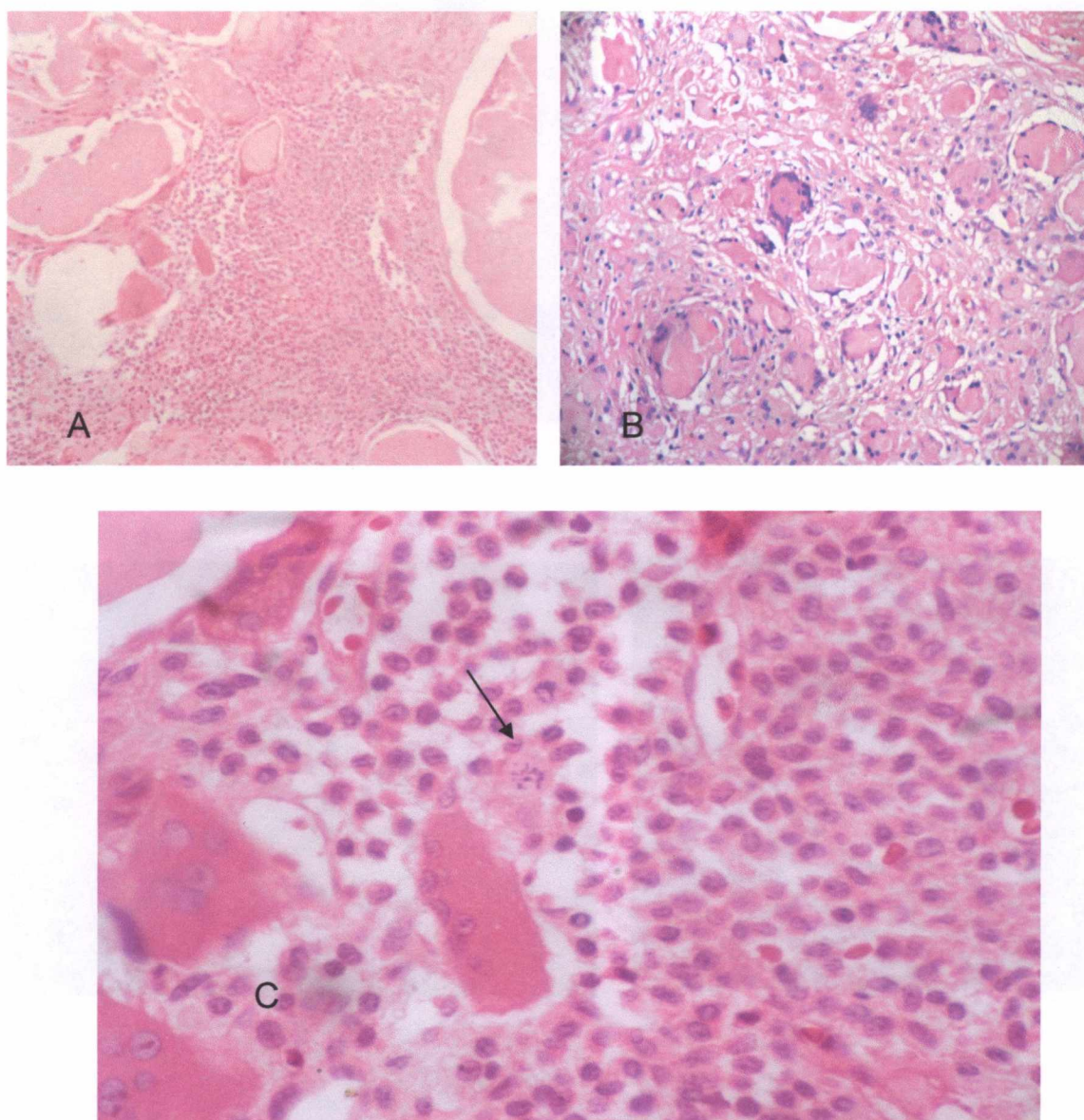


Figura 1. Plasmocitoma bem diferenciado: A) Presença de infiltrado celular monótono com presença de material amiloide. B) Reação granulomatosa tipo corpo estranho secundário a depósito amiloide. C) Plasmocitoma bem diferenciado, células isoladas com núcleos excêntricos e halo perinuclear, presença de células gigantes, notar presença de mitose (seta).

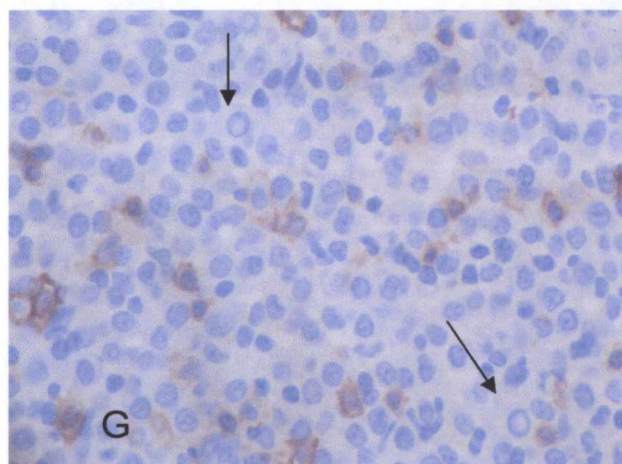
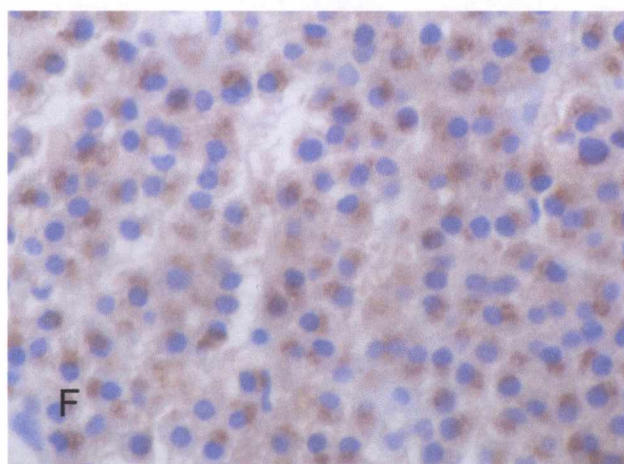
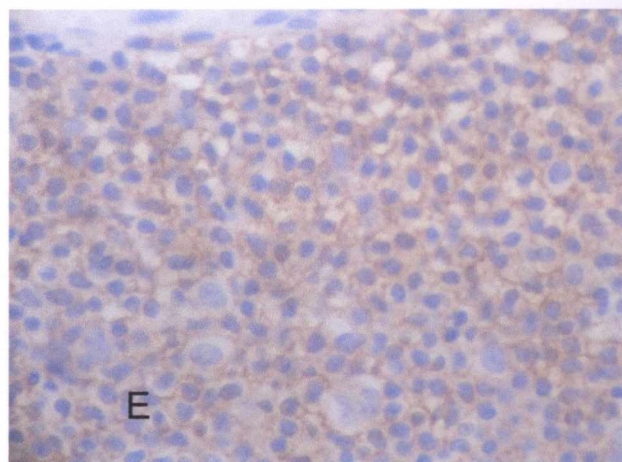
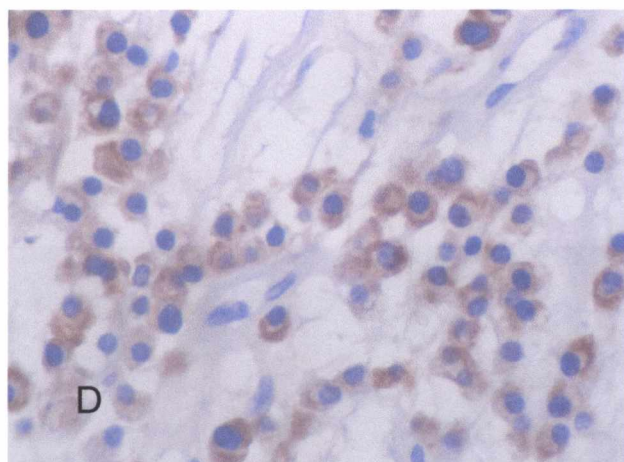


Figura 1. D) Marcação membranar de VS38c, notar presença de halo perinuclear. E) Marcação positiva para CD56. F) Expressão citoplasmática de imunoglobulina de cadeia leve kappa. G) Plasmocitoma bem diferenciado com expressão de CD20 em raros linfócitos reacionais, notar corpúsculo de Dutcher em células neoplásicas (setas).

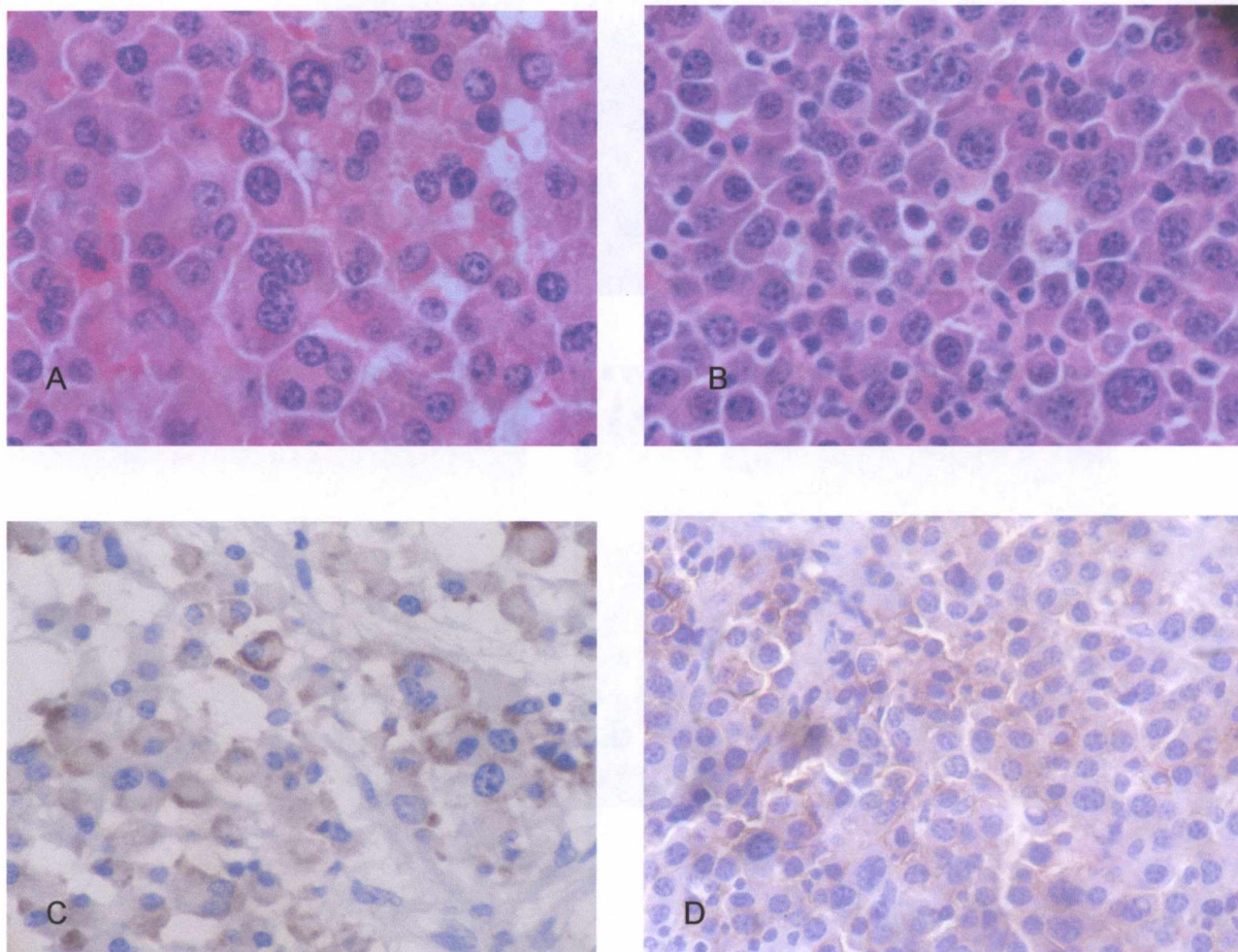


Figura 2. A) Plasmocitoma pouco diferenciado, presença de células multinucleadas, com cromatina grosseira e alterações do contorno da membrana nuclear. B) Plasmocitoma pouco diferenciado, células mostram citoplasma basofílico com núcleos excêntricos, vendo-se ainda infiltração por células neoplásicas menores de aspecto plasmocítico. C) Expressão membranar de VS38c. D) Expressão de CD56.

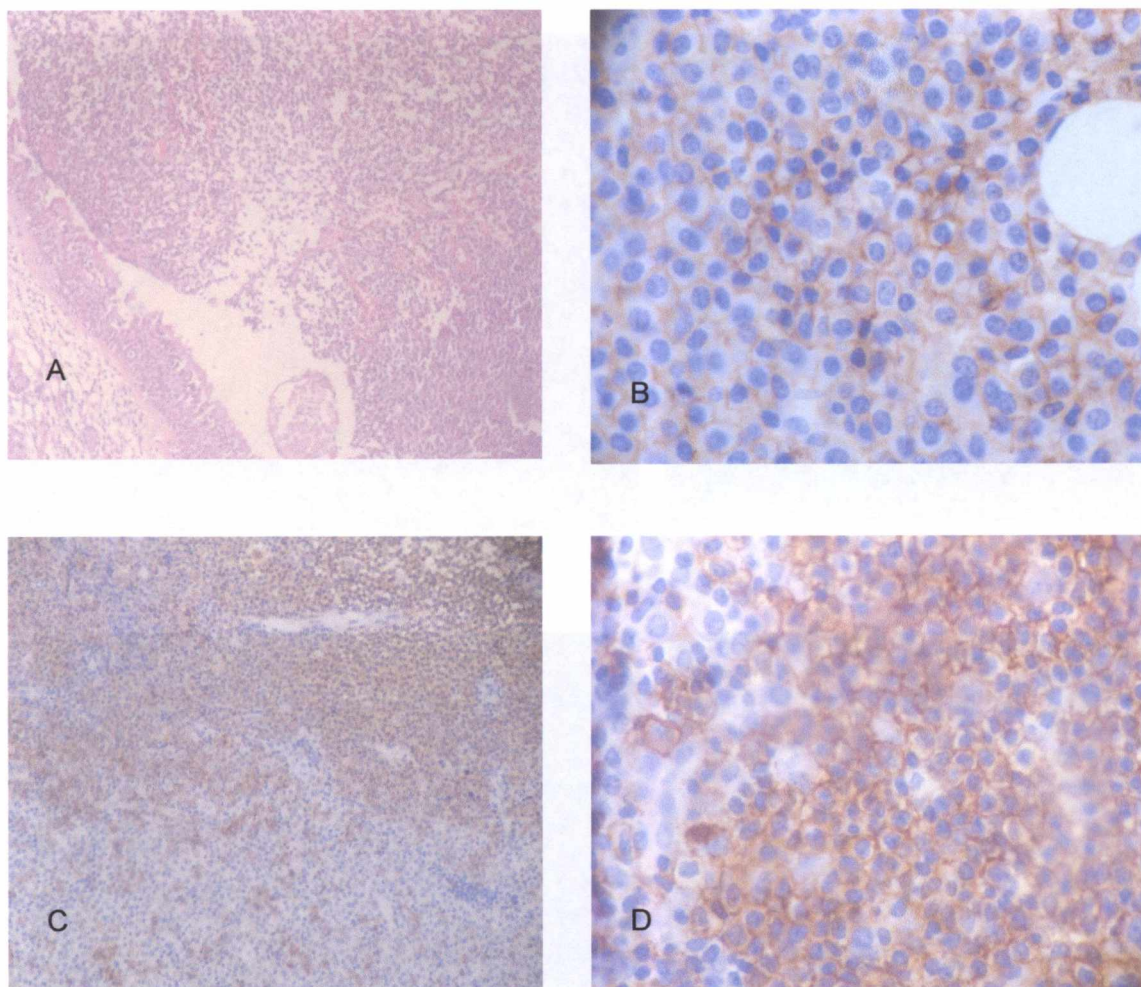


Figura 3. A) Linfoma linfoplasmocitoide nasal, notar infiltrado celular neoplásico monótono. B) Expressão membranar de CD20, exibindo aspecto geográfico. C) Expressão de CD20 bem demarcada. D) Expressão de VS38c, exibindo células de permeio negativas.

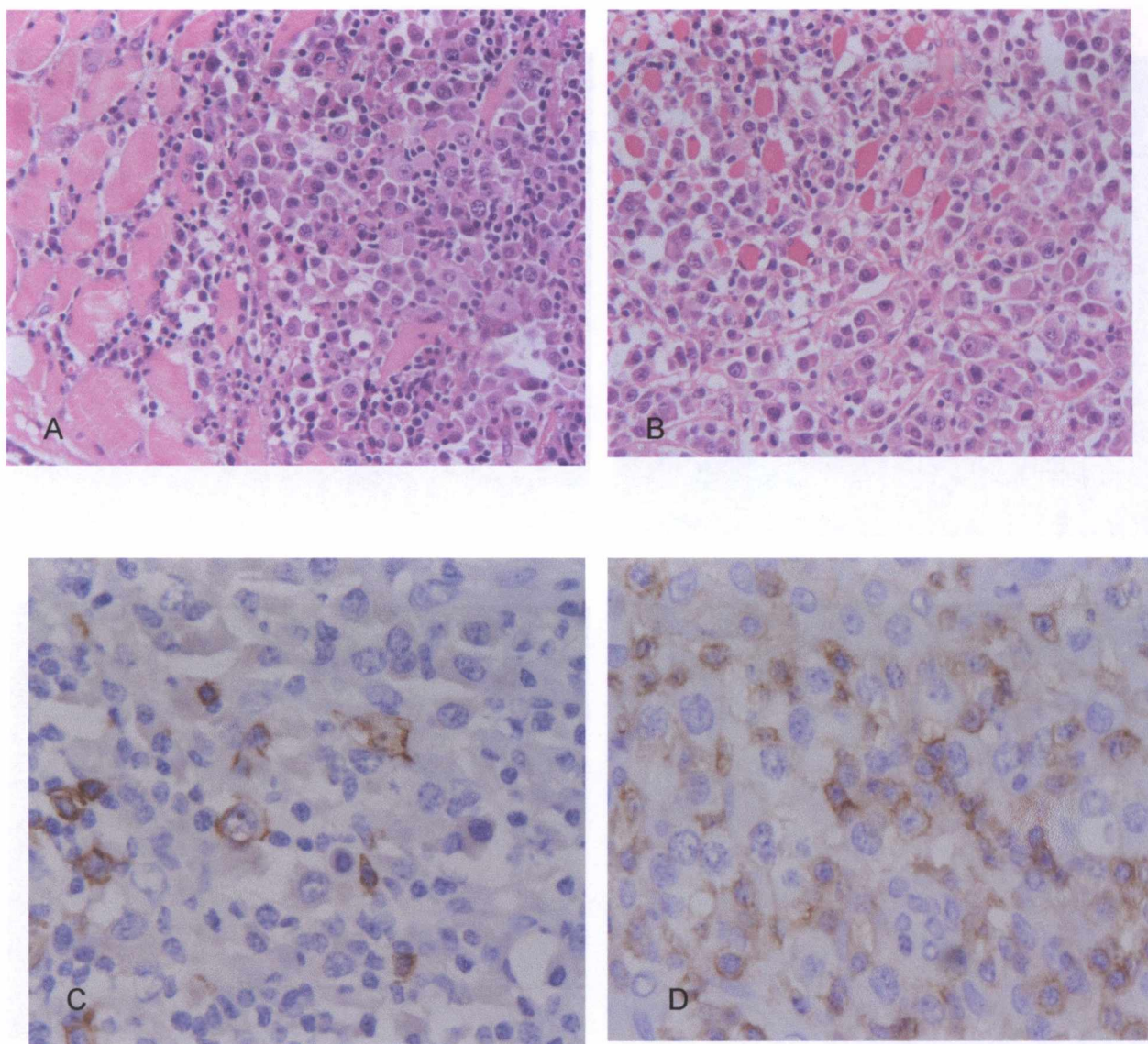


Figura 4. A) Linfoma Plasmoblástico com infiltração difusa em tecido muscular esquelético. B) Linfoma Plasmoblástico células neoplásicas com aspecto plasmoblástico com núcleo excêntrico, nucléolo proeminente e citoplasma basofílico. C) Expressão de CD20 em linfócitos reacionais dentro da neoplasia. D) Expressão membranar de CD79a por células neoplásicas.

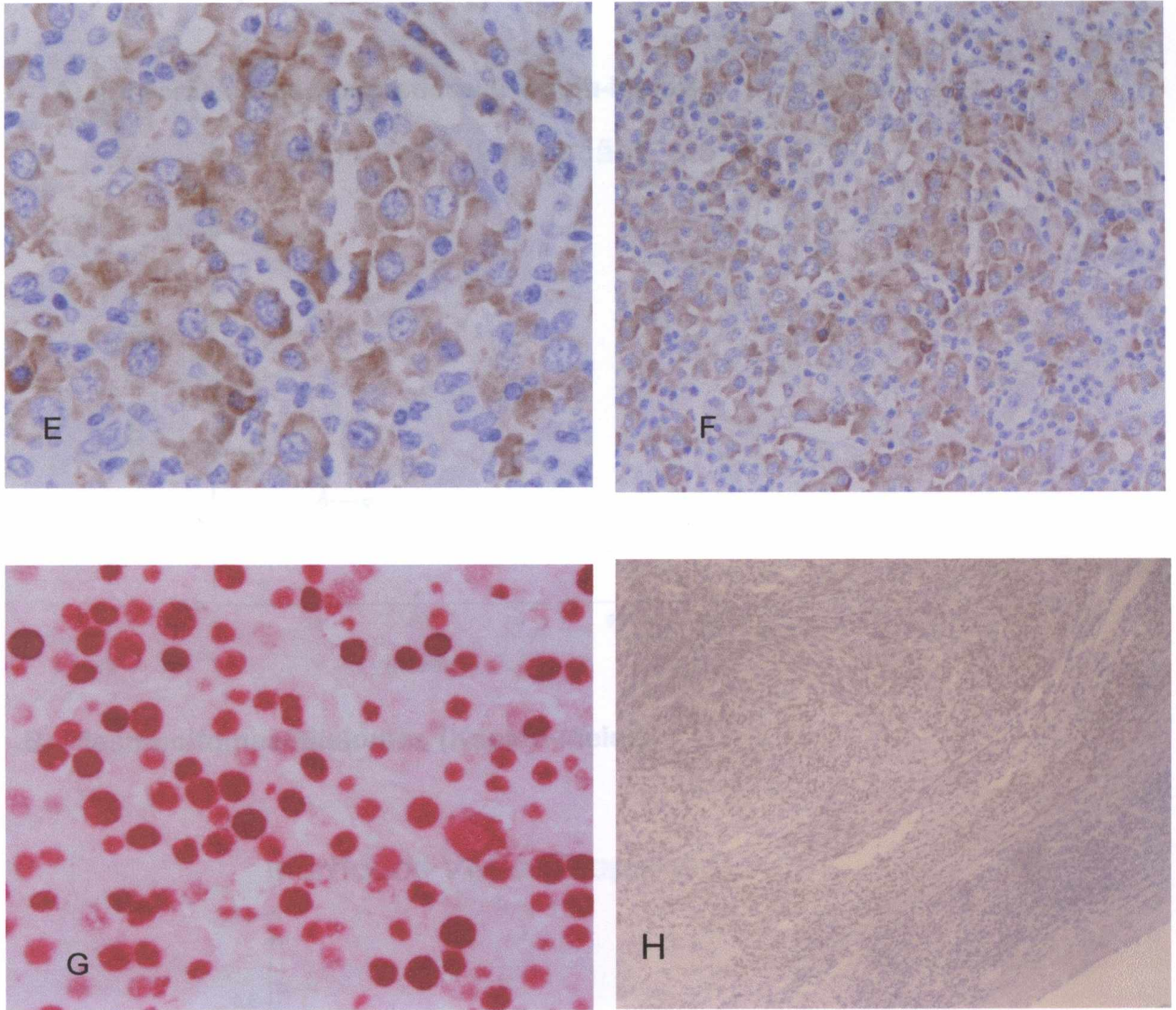
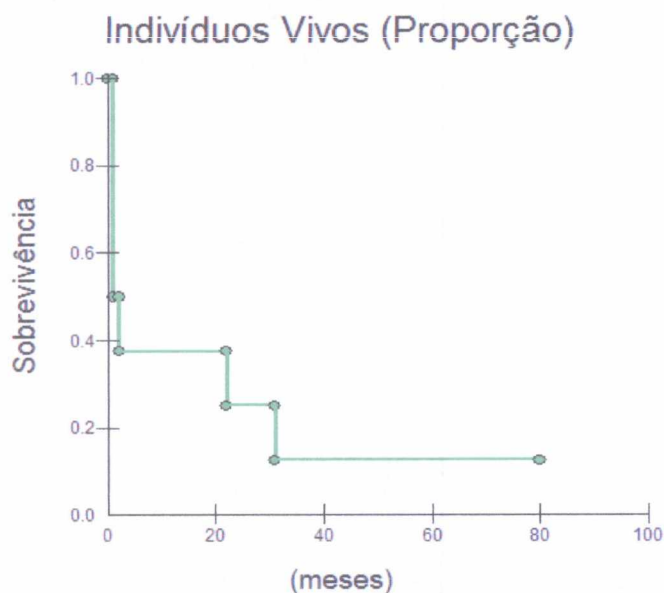


Figura 4. E) Expressão citoplasmática e membranar de VS38c. F) Expressão citoplasmática monoclonal de imunoglobulina de cadeia leve kappa. G) Hibridização *in situ* para EBV (EBER). H) Controle positivo de LANA (Sarcoma de Kaposi em linfonodo).

Gráfico 1. Gráfico comparando os Linfomas Plasmoblásticos e os Mielomas. Notar que a curva de sobrevida para os linfomas tem uma inclinação maior, com a maioria dos óbitos ocorrendo antes dos 12 primeiros meses. Enquanto os plasmocitomas têm sobrevida mais longa.

A) Linfomas Plasmoblásticos (Kaplan-Meier)



B) Plasmocitomas/Mielomas (Kaplan-Meier)

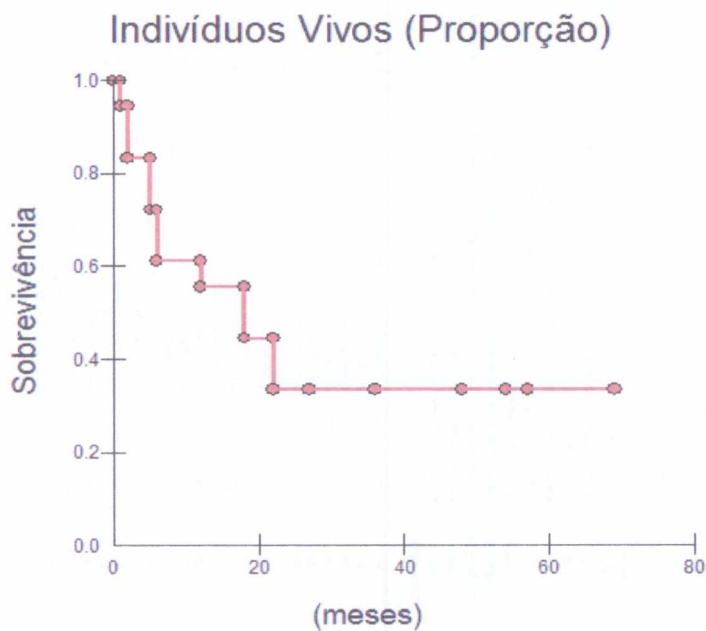


Tabela E. Resumo geral dos dados relativos aos 34 pacientes estudados.

CONTROLE	GRUPO	CÓDIGO	IDADE	SEXO	LOCAL	LDH	CREATININA	HEMOGLOBINA	GLOBULINAS	HIV	ESTADIAMENTO	MORFOLOGIA	CD20	CD79a	VS38	CD56	MIB %	KAPPA	LAMBDA	LANA	SB	
1	1	1	83	M	TORAX	NR	0,8	14	NR	NR	IIA	PBD*	NR	-	+	NR	NR	NR	NR	NR	5#	
2	1	4	55	F	REGIAO TORACICA	153	0,8	6,8	4,36	NR	IIA*	PBD*	-	NR	+	NR	NR	NR	NR	NR	1*	
3	1	6	62	F	OMBRO DIR.	NR	1,2	12,9	3,1	NR	IA*	PBD*	-	+	+	NR	NF	+	-	-	69*	
4	1	7	58	F	COLUNA LOMBAR	572	1,1	12,3	4	NR	IA	PBF#	-	+	+	+FRACO	NF	+	-	-	57#	
5	1	9	61	M	FEMUR DIREITO	469	0,8	5,4	1,9	NR	IIIA*	PBD*	-	+	+	+	2	+	-	-	5*	
6	1	11	42	F	FEMUR DIREITO	750	0,7	11,6	1	NR	IIIA*	PBD*	-	+ DIF.	+	+	1	+	-	-	22*	
7	1	13	42	F	FEMUR DIREITO	750	0,7	11,6	1	NR	IIIA*	PBD*	-	+	+	+	<5	+	-	-	22*	
8	1	15	53	F	REGIAO TORACICA	907	4,3	12,8	2,7	NR	IIIB*	PBD*	-	+/-	+	+	2	+	-	-	12*	
9	1	16	65	F	BACIA E R.SACRA	348	0,7	14,3	4,8	NR	IIA	PBD#	-	-	+	+	30	-	+	-	54#	
10	1	17	81	F	COLUNA LOMBAR	480	0,7	7,6	4,1	NR	IA	PBD#	-	+FRACO	+	-	NF	+	-	-	5#	
11	1	20	56	M	REG. MAMARIA DIR.	NR	1,6	6,4	3,1	NR	IIIA*	PBD*	-	+	+	-	15-20	+	-	-	18*	
12	1	32	61	M	ESCAPULA(DORSO)	NR	1,3	10,7	NR	NR	IIA	PBD#	-	-	+	+	NF	-	+	-	6#	
13	1	33	48	M	COLUNA LOMBAR	184	0,6	5,7	11,7	NR	IIIA*	PBD*	-	+	+	+	5	+	-	-	2*	
14	1	35	73	M	REGIAO TORACICA	430	0,8	12,7	5	NR	IIIA*	PBD*	-	-	+	+	5	+	-	-	18*	
15	1	40	63	F	SEIO MAXILAR	306	0,5	12	4,3	NR	IA	PBD#	-	+	+	-	15	+	-	-	20#	
16	2	8	52	F	MAMA DIREITA	252	0,7	12,7	2,3	NR	IA	PPD#	-	-	-	+/-	NF	NF	NF	-	48#	
17	2	21	60	F	COLUNA LOMBAR	719	10,2	10,6	2,2	NR	IIIB*	PPD/LDGC-P*	-	+FRACO	+	-	NR	-	+	-	6	
17	2	37	48	M	COLUNA LOMBAR	NR	0,7	13,9	2,9	NR	IIA	PPD*	+FOCAL	+	+	-	NF	-	-	-	23*	
19	3	2	68	M	REG.CERV.BIL	NR	NR	11,6	2,8	NR	III x	LBDGC-P	-	-	+	-	NR	+	-	-	2	
20	3	12	62	F	FEMUR ESQUERDO	371	1	10,7	4,9	NR	NR	PA/LDGC-P#	-	+FRACO	+	+	NF	+	-	-	14#	
21	3	22	73	F	QUADRIL	NR	NR	14,3	NR	NR	NR	PA/LDGC-P*	+FRACO	+	+	-	60	+	-	-	2*	
22	3	23	68	M	ESTOMAGO	461	0,8	8,8	2,4	NR	IE	LBDGC-P	+	+	NR	-	100	-	-	-	1	
23	3	24	64	F	BAÇO E RETROPER	NR	0,7	9,7	3,5	NR	IIIB	LBDGC-P	+	+FOCAL	+FOCAL	-	70	+FOCAL	-	-	23	
24	3	25	59	M	R.INGUINAL E MID	2444	0,8	8	1,1	2X NEG.	IIIB	LBDGC	+FRACO	+	-	-	NF	-	+FOCAL	-	22	
25	3	26	62	F	RETROPERITONIO	NR	1,5	8,9	3,3	NR	III	LBDGC-P	-	+DUVIDOSO	+	-	80	+	-	-	1	
26	3	28	47	M	TUMOR CERVICAL	NR	NR	NR	NR	NR	III	LBDGC-P	-	+	NR	NR	60	NR	NR	NR	1	
27	3	29	54	M	TUMOR CERVICAL	NR	1,2	11,8	NR	NR	IV	LBDGC-P	+	+	NR	NR	RUIM	NR	NR	NR	1	
28	3	31	30	F	RETROP. E INTESTINO	339	0,8	9,7	3,6	NEG.	IVB	LDGC-P	-	REP.3X	-	+	NR	90	-	+	-	31
29	3	34	74	M	ESTOMAGO	NR	2,2	3,8	NR	NR	IE	LDGC-P	-	+	NR	-	50	NR	NR	-	1	
30	3	36	82	F	RETROPERITONIO	309	1,2	12,9	3,8	NR	III	LBDGC-P	+FOCAL	+	+	-	70	+	-	-	24	
31	3	38	38	M	PALATO	NR	NR	NR	NR	POS.	IE	LBDGC-P	-	+	+/-	-	100	-	+?	-	6	
32	3	39	18	F	MANDIBULA	316	0,8	12	6	NEG.	IA	LBDGC-P	-	+	+	-	80	+	-	-	80	
33	4	10	31	M	NASOFAR. E CERV.	428	0,6	13,2	4,6	NR	IIIB	LPCP	+	+ DIF.	+	-	20	+	+	-	56	
34	4	27	74	M	TUMOR RINOFARINGE	NR	0,8	12,8	NR	NEG.	IA	LPCP	+	-	+ DUJ.	-	80	-	+	-	33	

Legendas:

PBD Plasmocitoma bem diferenciado (Grupo 1)

PPD Plasmocitoma pouco diferenciado (Grupo 2)

LDGC-P/PA Linfoma difuso de grandes células plasmoblástico / Plasmocitoma Anaplasico (Grupo 3)

LDGC-P Linfoma difuso de grandes células plasmoblástico Grupo 3)

LPPC Linfomas plasmocitoides de pequenas células (Grupo 4)

***** Pacientes com Síndrome clínica de Mieloma Múltiplo

Pacientes com Plasmocitoma isolado na apresentação da doença

NR não realizado; para os casos de imunistoquímica as marcações não foram realizadas por dificuldades técnicas com o material

NF marcador imunistoquímico não funcionou no material examinado

NG negativo

POS positivo

. masculino

F feminino

SB Sobrevida global dos pacientes medida em meses após o diagnóstico

Observação:

Os dados relativos ao estadiamento dos pacientes foram colhidos em prontuário médico.

8. BIBILOGRAFIA

ALEXANDRAKIS M.G., PASSAM F.H., KYRIAKU D.S, DAMBAKI K., NINIRAKI M., STATHOPOULOS E. Ki-67 proliferation index: correlation with prognostic parameters and outcome in multiple myeloma. **Am. J. Clin. Oncol.**,**27(1)**:8-13, 2004.

ALEXANDRAKIS M.G.,PASSAM F.H.,DAMBAKI C.,PAPPA C.A., STATHOPOULOS E.N. The relation between bone marrow angiogenesis and the proliferation index Ki-67 in multiple. **J. Clin. Pathol.**,**57**:856-860, 2004.

ALEXANIAN R. Localized and indolent myeloma. **Blood**, **56**: 521-525, 1980

ALEXIOU C., KAU R.J., DIETZFELBINGER H., KREMER M., SPIESS, J.C. SCHRATZENSTALLER, B., ARNOLD W. Extramedullary plasmacytoma: tumor occurrence and therapeutic concepts. **Cancer**, **85**: 2305–2314, 1999.

BARLOGIE B., EPSTEIN J., SELVANAYAGAM P., ALEXIAN R. Plasma cell myeloma- new biological insights and advances in therapy. **Blood**, **73**: 865-879, 1989.

BATAILLE R, SANY J. Solitary Mieloma: clinical and prognostic features of a review of 114 cases. **Câncer**, **48**:845-51, 1981.

BATAILLE R., et al. The phenotype of normal, reactive and malignant plasma cells. Identification of “many and multiple myelomas”and of new targets for myeloma therapy. **Haemathologica**, **91**: 1234-1240, 2006.

BERTANHA F., et al. Oncologic progression of bone plasmacytomas to multiple myelomas. **Clinics**, 61 (2): 139-146, 2006.
Blood, **107**: 256-276, 2006.

BOSMAN C., FUSILLI S., BISCEGLIA M., MUSTO P., CORSI A. Oncocytic nonsecretory multiple myeloma. A clinicopathological study of a case and review of the literature. **Acta Haematol.**, **96**: 50-56, 1996.

BOURANTAS K. Nonsecretory multiple myeloma. **Eur. J. Haematol.**, **56**: 109-111, 1996.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Estimativa 2006: Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2005.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Assistência à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Câncer no Brasil: dados dos registros de base populacional, volume 3. – Rio de Janeiro: INCA, 2003.

BRONW R.S., CAMPBELL C., LISHMAN S.C., SPITTLE M. F. MILLER R.F. Plasmablastic lymphoma: a new subcategory of human immunodeficiency related lymphoma. **Clin. Oncology (R. Coll. Radiol.)** 10: 327-9, 1988.

BURKHARDT B, ZIMMERMANN M, OSCHLIES I., et al. The impact of age and gender on biology, clinical features and treatment outcome of non-Hodgkin lymphoma in childhood and adolescence. **Br.J. Haematology**, 131:39-49, 2005.

CAMILLERI-BROET S, DAVI F, FEUILLARD J, SEILHEAN D, MICHIELS JF, BROUSSI P, EPARDEAU B, NAVRATIL E, MOKHTARI K, BOURGOUIS C, MARELLE L, HAUW JJ. AIDS-related primary brain lymphoma: histopathologic and immunohistochemical study of 51 cases. The French Study Group for HIV-Associated Tumor. **Human Pathology**, 28: 367-374, 1997.

CARBONE A, GLOGHINI A. AIDS-related lymphomas: from pathogenesis to pathology. **British Journal of Haematology**, 130 (5): 662-670, 2005.

CARTWRIGHT RA, GURNEY KA, MOORMAN AV. Sex ratios and risks of haematological malignancies. **British Journal of Haematology**, 118:1071-1077, 2002.

CAVO M., GALIENI P, ZUFFA E., BACCARANI M., GOBBI M., et al. Prognostic variables and clinical staging in multiple myeloma. **Blood**, 74: 1774- 1780, 1989.

CHADBURN A, HYJEK E, MATHEW S., et al. KSHV-positive solid lymphomas represent an extra-cavitary variant of primary effusion lymphoma. **Am. J. Surg. Pathol.**, 28: 1401-1416, 2004.

CHESI M., BERGSAGEL PL., BRENTS LA., SMITH CM., GERHARRD DS., KUEL WM. Dysregulation of ciclin D1 by translocation into an IgH gamma switch region in two multiple myeloma cell lines. **Blood**, **88**: 674-681, 1996.

CIOC AM., ALLEN C., KALMAR JR., et al. Oral plasmablastic lymphomas in AIDS patients are associated with human herpes virus 8. **Am. J. Surg. Pathol.**, **28**: 41-46, 2004.

COLOMO L., et al. diffuse large B-cell lymphoma with plasmablastic differentiation represent a heterogeneous group of diseases entities. **Am. J. Surg. Pathol.**, **28**: 736-747, 2004.

CORADAZZI, ANA L. et al. Determinação da expressão da molécula de adesão CD56 em plasmócitos no mieloma múltiplo através de estudo imuno-histoquímico. **Rev. Bras. Hematol. Hemoterapia**, **25**: 155-160, 2003.

CORBELLINO M, PIZZUTO M, BESTETTI G, et al. Absence of Kaposi's- associated herpes virus DNA sequences in multiple myeloma. **Blood**, **93**: 1110-1111, 1999.

CURADO. M. P., EDWARDS, B., SHIN. H.R., STORM. H., FERLAY. J., HEANUE. M. and BOYLE. P., eds (2007). *Cancer Incidence in Five Continents, Vol. IX* IARC Scientific Publications No. 160, Lyon, IARC.

DALTON WS., GROGAN TM., MELTZER PS., et al. Drug-resistence in multiple myeloma and non-Hodgkin's lymphoma: detection of P-glycoprotein and potential circumvention by addition of verapamil to chemotherapy. **J. Clin. Oncology**, **7**: 415-424, 1989.

DAMAJ G, MOHTY M., VEY N., ET AL. Features of extramedullary and extraosseous multiple myeloma: a report of 19 patients from a single center. **European Journal of Haematology** **73(6)**: 402-406, 2004.

DELECLUSE HJ, ANAGNOSTOPOULOS I, DALLENBACH F., HUMMEL M., MARAFIOTI T., SCHNEIDER U., SCHIMIDT-WESTHAUSEN A., REICHART PA., GROSS U., STEIN H. Plasmablastic lymphomas of the oral cavity: a new entity associated with the human immunodeficiency virus infection. **Blood**, **89**: 1413-1420, 1997.

DELOOSE S.T., SMIT L.A., PALS F.T., KERSTEN M.J., van NOESEL C.J., PALS S.T. High incidence of Kaposi sarcoma-associated herpesvirus infection in HIV-related solid immunoblastic/plasmablastic diffuse large B-cell lymphoma. **Leukemia**, **19**: 851-855, 2005.

DEWALD GW, KYLE RA, HICKS GA, et al. The clinical significance of cytogenetic studies in 100 patients with multiple myeloma, plasma cell leukemia, or amyloidosis. **Blood**, **66**: 380-390, 1985.

DI MICCO P, DI MICCO B. Update on solitary plasmacytoma and its main differences with multiple myeloma. **Exp Oncol.**,**27**:7-12, 2005.

DIMOPOULOS MA, PANAYIOTIDIS P, MOULOPOULOS LA, SFIKAKIS P, DALAKAS M. Waldenstrom's macroglobulinemia: clinical features, complications, and management. **Journal of Clinical Oncology**, **18**: 214-226, 2000.

DONG, H.Y., SCADDEN, D.T., DE LEVAL, L., TANG, Z., ISAACSON, P.G., HARRIS, N.L. Plasmablastic lymphoma in HIV-positive patients: an aggressive Epstein-Barr virus-associated extramedullary plasmacytic neoplasm. **American Journal of Surgical Pathology**, **29**: 1633–1641, 2005.

DUPIN N., DISS T.L., KELLAM P., TULLIEZ M., DU M.Q., SICARD D., WEISS R.A., ISAACSON P.G., BOSHOFF C. HHV-8 is associated with a plasmablastic variant of Castleman disease that is linked to HHV-8-positive plasmablastic lymphoma. **Blood**, **95**: 1406–1412, 2000.

DURIE BG, SALMON SE. A clinical staging system for multiple myeloma. Correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival. **Cancer**, **36**:842-854, 1975.

DURIE BG. Staging and kinetics of multiple myeloma. **Sem. Oncol.**, **13**:300-309. 1986.

DURIE BG., SALMON SE. A clinical staging system for multiple myeloma. Correlation of measured myeloma cells mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival. **Cancer**, **36**: 842-854, 1975.

ENGELHARD M., BRITTINGER G., HUH D., GERHARTZ H.H., MEUSERS P., SIEGERT W., THIEL E., WILMANN S., AYDEMIR U., BIERWOLF S., GRIESSER H., TIEMANN M. and LENNERT K. Subclassification of Diffuse Large B-Cell Lymphomas According to the Kiel Classification: Distinction of Centroblastic and Immunoblastic Lymphomas Is a Significant Prognostic Risk Factor. **Blood** **89**: 2291-2297, 1997

FASSAS A., TRICOT G. Results of high-dose treatment with autologous stem cell support in patients with multiple myeloma. **Semin Hematol** **38**:231-42, 2001.

FLAITZ CM, NICHOLS CM, WALLING DM, HICKS MJ. Plasmablastic lymphoma: an HIV-associated entity with primary oral manifestations. **Oral Oncol.**,**38**: 96-102, 2002.

GAIDANO G, CARBONE A. Primary effusion lymphoma: a liquid phase lymphoma of fluid-filled cavities. **Cancer Res.**,**80**:115-146, 2001.

GALIENI P, CAVO M, PULSONI A, AVVISATI G, BIGAZZI C, NERI S, CALICETI U, BENNI M, RONCONI S, LAURIA F. Clinical outcome of extramedullary plasmacytoma. **Haematologica**, **85** :47-51, 2000.

GARCÍA-SANZ R., ORFÃO A., GONZÁLEZ M., TABERNERO M.D., BLADÉ J., MORO M.J.FERNÁNDEZ-CALVO J., SANZ M.A., PÉREZ-SIMÓN J.A., RASILLO A., SAN MIGUEL J.F. Primary Plasma cell Leukemia: Clinical, Immunophenotypic, DNA Ploidy, and Cytogenetic Characteristics. **Blood**, **93**: 1032 – 1037, 1999.

GOULD J, ALEXANIAN K, GOODACRE A, et al. Plasma cell karyotype in multiple myeloma. **Blood**, **71**: 453-456, 1988.

GROGAN TM. & SPIER CM. The B cell immunoproliferative disorders, including multiple myeloma and amyloidosis. In: *Neoplastic Hematopathology*, Knowles DM, 2nd ed. Philadelphia: Lippicott Williams and Wilkins, 2001

HARALAMBIEVA E., PULFORD KA., LAMANT L., PILERI S., RONCADOR G., GATTER KC., DELSOL G., et al. Anaplastic large-cell lymphomas of B-cell phenotype are anaplastic lymphoma kinase (ALK) negative and belong to the spectrum of diffuse large B-cell lymphomas. **British Journal of Haematology**, **109**:3 584-591, 2000.

HARRIS et al., A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: A proposal from the International lymphoma Study Group. **Blood**, **84(5)**: 1361-1392, 1994.

HOFFMAN S., SORKIN B.C., WHITE P.C., BRACKENBURY R., MAILHAMMER R., et al. Chemical characterization of a neural cell adhesion molecule purified from embryonic brain membranes. **Journal of Biological Chemistry**, **257**:7.720-7729, 1982.

HOLLAND J, TREKNER DA, WASSERMAN TH, FINEBERG B. Plasmacytoma, treatment results and conversion to myeloma. **Cancer**, **69**:1513-1517, 1992.

ICHIMARU M, ISHIAMRU T, MIKAMI M, ET AL. Multiple myeloma among atomic bomb survivors, Hiroshima and Nagasaki, 1950-1976. **Radiation Effects Research Foundation Technical Report No. 9-79**. Hiroshima: 1979.

JAFFE E.S., HARRIS N.L., STEIN H., VARDIMAN J.W. **World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues**. 1st ed. Lyon: IARC Press, 2001.351p.

JERNE NK. Towards a network theory of the immune system. **Ann. Immunol.**, **125**: 373-389, 1974.

KEEGAN T.H., GLASER S.L., CLARKE C.A., CRAIG F.E., DIGIUSEPPE J.A., DORFMAN R.F., MANN R.B., AMBINDER R.F. Epstein-Barr virus as a marker of survival after Hodgkin's lymphoma: a population-based study. **J.Clin. Oncol.**, **23(30)**:7604-13, 2005.

KNOWLES DM, CHAMULAK GA, SWBAR M, BURKE JS, DUGAN M, WERNZ J, SLYWOTZKY C, PELICCI G, DALLA-FAVERA R, RAPHAEL B. Lymphoid neoplasia associated with the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). The New York University medical Center experience with 105 patients (1981-1986). **Ann. International Med.**, **108**:744-753, 1988.

KONIGSBERG R., ZOJER N., ACKERMANN J., KROMER E., ET AL. Predictive role of interphase cytogenetics for survival of patients with multiple myeloma. **Journal Clin. Oncology**, **18**: 804-812, 2000.

KONRAD R, KRICKA L, GOODMAN D, ET AL. Myeloma-associated paraprotein direct the HIV-1 p24 antigens in an HIV-1 seropositive patient. **New England Journal of Medicine**, **328**:1817-1819, 1993.

KYLE R.A. et al. A Long Term of Prognosis in monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance. **New England Journal of Medicine**, **346**: 564-569, 2002.

KYLE R.A., et al. Incidence of Multiple Myeloma in Olmsted County, Trend over 6 decades. **Cancer v.101**: 2667-2674, 2004.

KYLE RA., GREIPP PR. Smoldering multiple myeloma. **New England Journal of Medicine**, **302**: 1347-1349, 1980.

LAI JL., ZANDECKKI M., MARY JY., BERNARDI F. ET AL. Improved cytogenetics in multiple myeloma: a study of 151 patients including 117 patients at diagnosis. **Blood**, **85**: 2490-2497, 1995.

LANIER L.L., LE A.M., CIVIN C.I., LOKEN M.R., PHILLIPS JH. The relationship of CD16 (Leu-11) and Leu-19 (NKH-1) antigen expression on human peripheral blood NK cells and cytotoxic T lymphocytes. **Journal of Immunology**, **136**: 4.480, 1986.

LENNERT K. **Malignant Lymphomas Other Than Hodgkin's disease.** Springer-Verlag, New York, NY, 1978.

LENNERT K., FELLER A.C: Histopathology of Non-Hodgkin's of non-Hodgkin's lymphomas. (Based on the Updated Kiel Classification) With a Section in Clinical Therapy by M. Engelhard and G. Brittinger. Berlin, Germany, **Springer Verlag**, 1992.

LINET MS., HARLOW SD., MCLAUGHLIN JK. A case-control study of multiple myeloma in whites: chronic antigenic stimulation, occupation, and drug use. **Cancer Research**, **47**:2978-2981, 1987.

MAHMOUD MS., HUANG N., NOBUYOSHI M., LISUKOV IA., TANAKA H., KAWANO MM. Altered expression of pax-5 gene in human myeloma cells. **Blood**, **87**:4311-4315, 1996.

MATE J.L., NAVARRO J.T., ARIZA A., et al. Oral solid form of primary effusion lymphoma mimicking plasmablastic lymphoma. **Human Pathology**, **35**: 632–635, 2004.

MENKE D.M., HORNY H.P., GRIESSER H., ATKINSON H.J., KAISERLING E. KYLE R.A. Immunophenotypic and genotypic characterisation of multiple myelomas with adverse prognosis characterised by immunohistological expression of the T cell related antigen CD45RO (UCHL-1). **J. Clin. Pathol.**, **51**:432-437, 1998.

MILLER TP, GROGAN TM, DAHLBERG S, SPIER CM, ET AL. Prognostic significance of the Ki-67-associated proliferative antigen in aggressive non-Hodgkin's lymphomas: a prospective Southwest Oncology Group trial. **Blood**, **83**: 1460 – 1466, 1994.

MORTON L.M., WANG S.S., DEVESA S.S., HARTGE P., WEISENBURG D.D., LINET M.S. Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992-2001. OSCHILES I, KLAPPER W, ZIMMERMANN M, KRAMS M. et al. Diffuse large B-cell lymphoma in pediatric patients belongs predominantly to the germinal-center type B-cell lymphomas: a clinicopathologic analysis of cases included in the German BFM (Berlin-Frankfurt-Munster) Multicenter Trial. **Blood**, **107**: 4047-4052, 2006.

PATEL K., MOORE S.E., DICKSON G., ROSSELL R.J., BEVERLEY P.C., KEMSHEAD J.T., WALSH F.S. Neural cell adhesion molecule (NCAM) is the antigen recognized by monoclonal antibody of similar specificity in small cell lung carcinoma and neuroblastoma. **International Journal of Cancer**, **40**: 81, 1987.

PENNY R, HUGHES S. Repeated stimulation of the reticuloendothelial system and the development of plasma cell dyscrasias. **Lancet**, **1**:77-78, 1970.

PORTUGAL, T.G.A. **Estudo comparativo entre linfomas não-Hodgkin em indivíduos HIV-positivos e HIV-negativos em Salvador, Bahia. Associação com o vírus Epstein-Barr e classificação segundo a OMS-2001.** 120 f. 2004. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2004.

POTTER M, BOYCE CR. Induction of plasma cell neoplasms in strain BALB/C mice with mineral oil and mineral oil adjuvants. **Nature**, **193**:1086-1087, 1962.

RAMSAY A.D., SMITH W.J. ISAACSON P.G., T-cell-rich B cell lymphoma . **American Journal of Surgical Pathology** **12**: 433-443, 1988.

RETTIG MB, MA HJ, VESCIO RA, PÖLD M, SCHILLER G, BELSON D, SAVAGE A, NISHIKUBO C, WU C, FRASER J, SAID JW, BERENSON JR. Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus Infection of Bone Marrow Dendritic Cells from Multiple Myeloma Patients. **Science**, **276**: 1851-1854, 1997.

RIES LAG, MILLER BA, HANKEY BF, ET AL. SEER Cancer Statistics Review, 1973-1991: **Tables and Graphs, National Cancer Institute.** NIH Publ. No. 94-2789, Bethesda, MD, 1994.

ROBILLARD N., et al. CD20 is associated with a small mature plasma cell morphology and t (11;14) in multiple myeloma. **Blood**, **102**: 1070-1071, 2003.

RODRIGUES-JUNIOR AL, CASTILHO EA. A epidemia de AIDS no Brasil, 1991-2000: descrição espaço-temporal. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **37(4)**:312-317, 2004.

ROSAI Juan & Ackerman's. **Surgical Pathology.** 9th edition. New York. Ed.: Mosby. 2004. 2977 p.

ROTH J., ZUBER C., WAGNER P., TAATJES D.J., WEISGERBER C., HEITZ P.U., GORIDIS C., BITTER-SUERMAN D. Reexpression of poly (sialic acid) units of the neural cell adhesion molecule in Wilms tumor. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, **85**: 2.999, 1998.

SAID J, RETTING M, HEPPNER K, ET AL. Localization of Kaposi's- associated herpes virus in bone marrow biopsy samples from patients with multiple myeloma. **Blood**, **90**:4278-4282, 1997.

SALMON SE, SELGMANN M. B-cell neoplasia in man. **Lancet**, 2:1230-1233, 1974.

SALMON S.E., CASSIDY J.R. Plasma cell neoplasms. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg S. **Cancer, principles and Practice of Oncology**. Philadelphia: Lippincott, 1988. 1854p.

SANDERSON RD, BORSET M. Syndecan-1 in B lymphoid malignancies. **Ann. Hematology**, 81:125-3., 2002.

SAWYER JR., WALDRON JA., JAGANNATH S., BARLOGIE B. Cytogenethics findings in 200 patients with multiple myeloma. **Cancer Genet. Cytogene.**, 82:41-49, 1995.

SHARA N., TAKESHITA A., SHIGENO K., FUJISAWA S., ET AL. Clinicopathological and prognostic characteristics of CD56-negative multiple myeloma. **British Journal of Haematology**, 117(4): 882-885, 2002.

STANSFELD A., DIEBOLD J., KAPANCI Y., KELENYI G., LENNERT K., MIODUSZEWSKA O., NOEL H., RILKE F., SUNDSTROM C., van UNNIK J., WRIGHT D. Updated Kiel classification of lymphomas. **Lancet** 1: 292, 1988.

STEIN H., LENNERT K., FELLER AC., MASSON DY., Immunohistological analysis of human lymphomas: correlation of histological and immunological categories. **Adv. Cancer Res.**, 42: 67-147, 1984.

SUKPANICHNANT S. Analysis of 1983 cases of malignant lymphoma in Thailand according to the World Health Organization classification. **Hum Pathol.**, 35(2):224-230, 2004.

SZWARCWALD C., BASTOS F.I., ESTEVES M.A. P. et al. A disseminação da epidemia da AIDS no Brasil, no período de 1987-1996: uma análise espacial. **Cad. Saúde Pública**, 16 (S1): .S7-S19, 2000.

TERUYA-FELDSTEIN J, CHIAO E, FELLIPA D.A, LIN O, COMENZO R., COLEMAN M, PORTLOCK C NOY A. CD20-negative large-cell lymphoma with plasmablastic features:a clinically heterogenous spectrum in both HIV-positive and negative patients. **Annals of Oncology**, 15:1673-1679, 2004.

TERUYA-FELDSTEIN, J., ZAUBER, P., SETSUDA, J.E., BERMAN, E.L., SORBARA, L., RAFFELD, M., TOSATO, G., JAFFE, E.S. Expression of human herpesvirus-8 oncogene and cytokine homologues in an HIV-seronegative patient with multicentric Castleman's disease and primary effusion lymphoma. **Laboratory Investigation**, **78**: 1637-1642, 1998.

VAN CAMP B., DURIE BG, SPIER C., et al. Plasma cells in multiple myeloma express a natural killer cell-associated antigen: CD56 (NKH-1;Leu-19). **Blood**,**76**:377-382, 1990.

VASEF MA., MEDEIROS LJ., YOSPUR LS., et al. Cyclin D1 protein in multiple myeloma and plasmacytoma: an immunohistochemical study used fixed, paraffin-embedded tissue sections. **Modern Pathology**, **10**: 927-932, 1997.

VEGA F., et al. Plasmablastic lymphomas and plasmablastic plasma cell myelomas have nearly identical immunophenotypic profiles. **Modern Pathology**, **18**: 806-815, 2005.

VIJAY A, GERTZ MA. Waldenstrom macroglobulinemia. **Blood**, **109**(12): 5096-5103, 2007.

VOELKERDING K, SANDHAUS L, KIM H, et al. Plasma cell malignancy in the acquired immune deficiency syndrome. **Am. J. Clinical Pathology**, **92**: 222-228, 1989.

WARNKE R.A., WEISS L.M., CHAN J.K.C., CLEARY M.L., DORFMAN RF. **Armed Forces Institute of Pathology. Atlas of Tumor Pathology: Tumors of the Lymph Nodes and Spleen**. 3rd ed. Washington D.C.:AFIP, 1994. 544p.

ZOUIL M, FINE JM, EYQUEM A. Anti-DNA autoantibody activity and idiotypic relationships of human monoclonal proteins. **Eur. Journal Immunology**, **14**:1085-1089, 1984.

ZUKEBERG LR., YANG WI., ARNOLD A., HARRIS NL. Cyclin D1 expression in non-Hodgkin's lymphomas. Detection by immunohistochemistry. **Am. J. Clin. Pathol.**, **103**: 756-760.