

Citopatologia dos melanomas da coróide em esfregaços

J. Melamed * & Carlos Oswaldo Degrazia **

INTRODUÇÃO

Os conhecimentos atuais sobre os melanomas coróideos são o resultado dos trabalhos convergentes de inúmeros pesquisadores em distintas especialidades. Estes trabalhos refletem enfoques e metodologias diversificadas que incluem a morfologia, imunologia, cultura de tecidos, bioquímica e uma ampla gama de recursos que auxiliam principalmente no diagnóstico clínico.

Desde que Zimmerman (1) postulou que a enucleação poderia ter efeitos adversos mais que benéficos para muitos pacientes, embora isto seja ainda matéria controversa (2), um novo caminho mais conservador se delineou aos oftalmologistas, sobretudo nos melanomas que não tenham ultrapassado certos limites dimensionais. Neste ponto deve destacar-se a contribuição pioneira de Peyman (3), o qual tem praticado a ressecção isolada do tumor com excelentes resultados.

Sendo que um tumor pequeno pode ser de tipo epitelióide ou misto (4, 5) e, portanto, de mau prognóstico, para que se chegue a uma conduta conservadora nestes casos, faz-se necessário um conhecimento cada vez mais profundo da sua biologia, especialmente em relação aos distintos tipos celulares que podem constituí-lo.

Devemos salientar que muito poucos autores (6, 7, 8, 9) se tem detido a pesquisar a utilidade que poderia ter a citologia dos melanomas uveais estudada em esfregaços.

Relatamos neste trabalho resultados obtidos com esfregaços de melanomas oculares. Os preparados foram feitos por punção, raspagem e "imprint" de globos oculares enucleados ou de recidivas orbitárias.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados três casos de melanoma intraocular, um caso de recidiva após enucleação e um caso de recidiva após evisceração. Nestes dois últimos foi realizada a raspagem da superfície tumoral com bisturi e o "imprint" tocando a lâmina numa porção da superfície tumoral não danificada pela raspagem prévia. Nos olhos enucleados, prévia localização exterior da porção

central do tumor e, com agulha 25x8 foi realizada a sua punção transescleral. Fez-se aspiração quando a agulha penetrou de 3 a 4 mm. Usando-se sempre a mesma perfuração escleral, repetiu-se a aspiração dando a agulha inclinações diferentes. O material obtido foi espalhado sobre a lâmina, após uma impulsão repentina do êmbolo, com ajuda de outra lâmina, como se usa para preparados de sangue. As lâminas eram colocadas imediatamente em frascos contendo fixadores diferentes, num total nunca inferior a 2 lâminas por vidro. Os fixadores usados foram: álcool a 96°, álcool a 70° e uma mistura de formaldeído a 5% e glutaraldeído a 2% em buffer de fosfato, ou seja, o mesmo fixador que usamos correntemente, para microscopia eletrônica. As colorações usadas foram: Papanicolau, Shorr, Giemsa, Wilder-Foot e algumas vezes hematoxilina-eosina.

RESULTADOS

A) PUNÇÃO TRANSESCLERAL

A punção transescleral nos olhos enucleados com agulha fina e seringa comum permitiu obter em todos os casos material suficiente para estudo. Devemos salientar que a delimitação da base do tumor deve ser a mais precisa possível para que a punção não atinja o vítreo, o que poderia determinar uma perda do mesmo com deformação do globo, sem obter o material desejado. Nos casos puncionados este defeito não aconteceu, parecendo-nos que a própria textura do tumor fecha o caminho seguido pela agulha.

A pressão negativa exercida no êmbolo foi normal, não tendo sido muito grande, sem requerer portanto nenhuma aparelhagem sofisticada.

Nos casos de melanomas fusiformes que sempre apresentam um certo componente fibrilar, fragmentos de tecido podem aparecer coerentemente unidos nos esfregaços (fig. 1a); dos tumores epitelióides resultam via de regra células isoladas ou em grupos empilhados. Células fusiformes A e B podem ficar da mesma maneira.

B) CARACTERES CITOLÓGICOS

O primeiro fato que devemos destacar foi o achado em todos os casos estudados de

* Professor Adjunto, Departamento de Oftalmologia e Otorrinolaringologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, rua Ramiro Barcelos s/n.º, 90000, Porto Alegre, RS, Brasil.

** Professor Adjunto, Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, rua Sarmento Leite, esq. Luiz Englert, 90000, Porto Alegre, RS, Brasil.

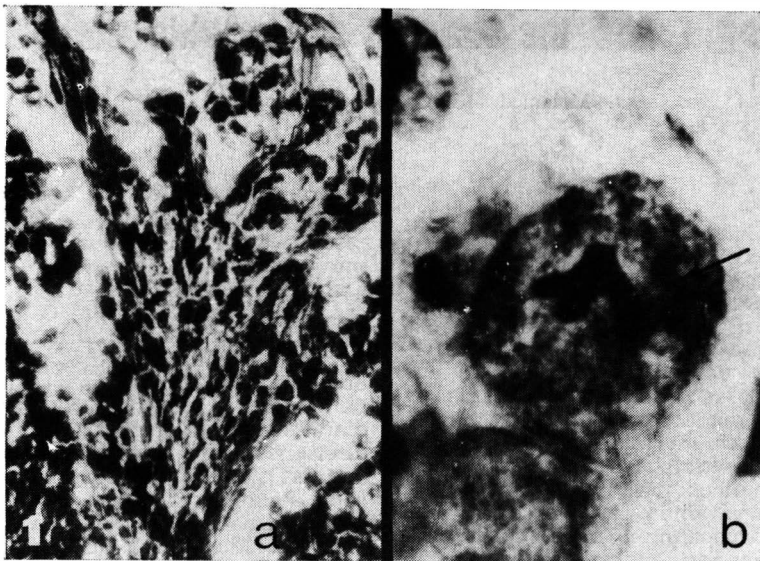


Fig. 1a — Grupo de células fusiformes coesas, com mesma orientação de seus eixos longitudinais. Melanoma fasciculado. Fixação: álcool 96°. Shorr. Aprox. 350x.
Fig. 1b — Célula epitelióide gigante apresentando grande irregularidade do nucléolo. A cromatina é formada por grãos finos, com áreas de condensação (flecha). Nota-se a visão global do nucléolo bem evidenciada nos esfregaços. Melanoma fasciculado. Fixação: álcool 96°. Sherr. Aprox. 1000x.

uma grande variedade de tipos celulares misturados. Este aspecto pode ser considerado previsível para os tumores mistos; entretanto num caso de melanoma tipo fasciculado, onde há predominância de células fusiformes, foram encontradas também grande quantidade de células epitelióides, possivelmente porque a punção atingiu áreas de tipo epitelióide, logo constatadas nos cortes histológicos.

Em todos os casos o aspecto maligno das células foi bem evidente, apresentando as características conhecidas, isto é, polimorfismo celular e nuclear, com o aparecimento de núcleos grandes e irregulares, cromatina de aspecto muito variado, ora densa, ora disposta em poeira fina. Os nucléolos apresentaram-se sempre proeminentes e muito irregulares (fig. 1b), evidenciando-se melhor nos casos de fixação com álcool a 96° e coloração pelo Shorr, Papanicolaou ou Giemsa, esta última salientando-os quase exclusivamente. O aspecto irregular do núcleo e nucléolos ficou muito melhor evidenciado do que nos cortes histológicos, aproximando-se neste aspecto ao que se observa em cortes ultrafinos.

Raras figuras de mitose foram vistas, provavelmente na etapa de profase.

Correlacionando-se com a intensidade de pigmentação do tumor, encontrou-se pigmento livre ou às vezes em acúmulos de tamanhos variáveis que vão deste 60 micras até

mais de 300 micras. O aspecto destes acúmulos é o de um pseudocisto (fig. 2a). O pigmento livre resulta provavelmente de células dilaceradas na punção ou no ato de se fazer o esfregaço, também pode-se originar de áreas necróticas.

O número de células pigmentadas foi variável, sendo o pigmento apenas visível ou apresentando-se na forma de grãos maiores, a cor variando de acordo com a técnica de tinação usada. Dentro de uma mesma célula os grãos podem ter tamanho uniforme (fig. 2b) ou quando maiores, apresentar tamanhos variados.

Em relação aos fixadores, observamos o seguinte: o álcool a 96° preservou melhor a morfologia nuclear e nucleolar (figs. 1b, 3a e 6a); a mistura gluta-formaldeído, que é o mesmo fixador usado por nós para microscopia eletrônica, permitiu uma ótima conservação do citoplasma (figs. 3b, 4a e b). Com este último fixador, apesar do núcleo ficar com intensidade de coloração apropriada, não diferenciou-se bem a cromatina e nucléolo.

Os corantes Giemsa, Shorr e Papanicolaou, nos deram muito boas preparações. A impregnação pela prata, através do método de Wilder-Foot, sem coloração de contraste, revelou como num desenho esquemático, os contornos nucleares, permitindo uma ótima visualização das fendas e estrangulamentos nucleares (fig. 5c).

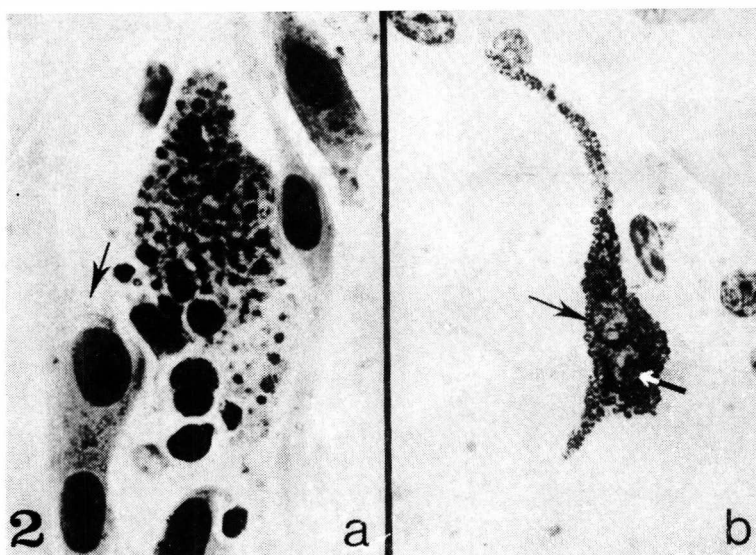


Fig. 2a — Pseudocisto de pigmento melânico apresentando grãos grossos de tamanhos variados. A flecha indica uma célula binucleada com núcleos muito separados, de aspecto plasmodial. Melanoma misto. Fixação: gluta-formaldeído. Ehorr. Aprox. 1100x.

Fig. 2b — Célula densamente pigmentada, ramificada e binucleada (flechas). Grãos de melanina esféricos e de tamanhos bastante uniformes. Melanoma misto. Fixação: álcool 70°. Shorr. Aprox. 1000x.

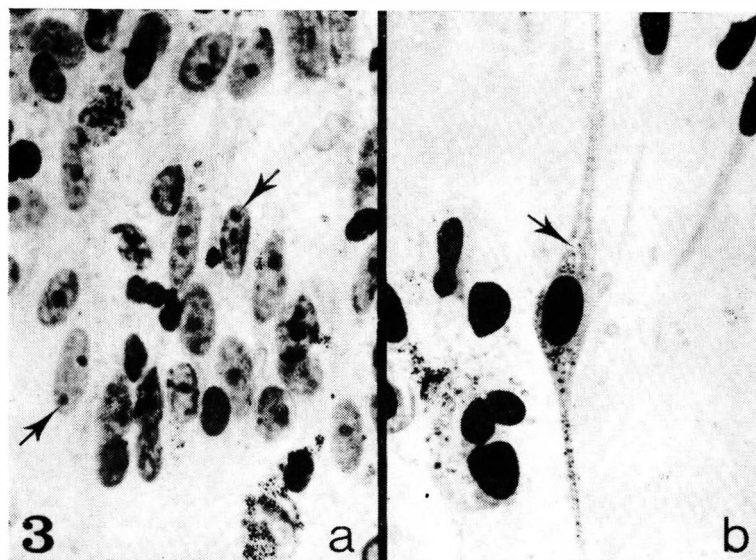


Fig. 3a — Células fusiformes tipo B com um ou dois nucléolos proeminentes (flechas). Melanoma misto. Fixação: álcool 96°. Shorr. Aprox. 850x.

Fig. 3b — Célula schwannóide, pigmentada; microvacúolos podem ser vistos no citoplasma. Notem-se as irregularidades dos núcleos circundantes. Melanoma misto. Fixação: gluta-formaldeído. Shorr. Aprox. 950x.

I — Células fusiformes: Nos esfregaços dos melanomas fasciculado e misto ou necrótico, foram encontrados os dois tipos de células

fusiformes já descritos. A principal diferença entre eles está na forma nuclear mais alongada e estreita no tipo A, bem como a



Fig. 4a — Célula dendrítica tripolar, com prolongamentos curtos (A) e célula fusiforme alargada (B). O citoplasma é denso, fracamente pigmentado. Melanoma misto. Fixação: gluta-formaldeído. Shorr. Aprox. 1000x.
 Fig. 4b — Célula dendrítica, tetrapolar, sem pigmento, com prolongamentos longos e núcleo com cromatina muito densa. Melanoma misto. Fixação: gluta-formaldeído. Shorr. Aprox. 1600x.

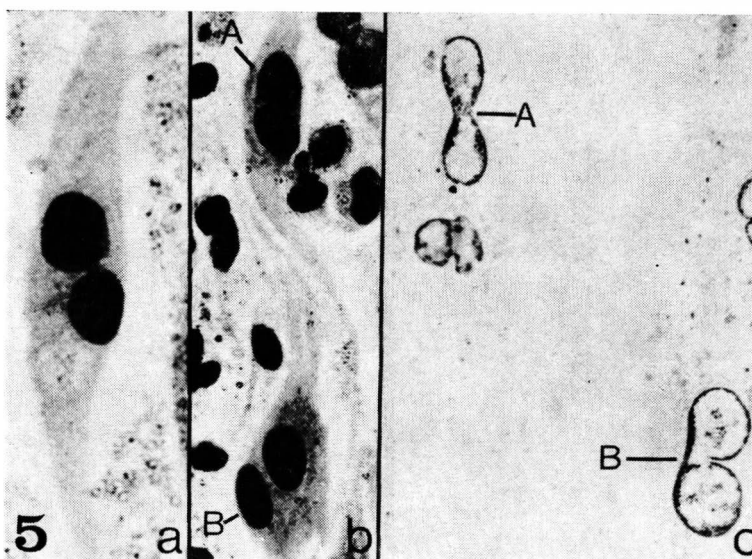


Fig. 5a — Célula com núcleo estrangulado, restando ainda delgada ponte entre as duas partes do mesmo; citoplasma denso, com matriz uniforme, sem pigmento. Melanoma misto. Fixador: gluta-formaldeído. Shorr. Aprox. 1500 x.
 Fig. 5b — São vistas duas células binucleadas. Em A os núcleos estão próximos e as faces fronteiras são paralelas. Em B já estão mais afastados e os contornos são mais arredondados, aspecto que se acentua na célula indicada pela flecha na fig. 2a. Melanoma misto. Fixação: gluta-formaldeído. Shorr. Aprox. 900x.
 Fig. 5c — A impregnação argêntica desenha claramente as membranas nucleares. Em A observa-se o núcleo apresentando estrangulamento central. Em B destaca-se profunda fenda da membrana nuclear. O exame do conjunto destas células (figs. 5c, a, b e 2a) sugere um processo de formação plasmodial resultante de amitose. Melanoma misto. Fixação: álcool 96°. Impregnação argêntica — Wilder-Foot. Aprox. 950 x.

presença de nucléolo proeminente no tipo B (fig. 3a). As formas encontradas assemelham-se às já descritas nos meios de cultura.

As células fusiformes podem ser do tipo schwannóide não pigmentadas ou pigmentadas (fig. 3b). Encontraram-se células ramificadas (figs. 4a e b) com ramificação originando-se diretamente do soma, podendo ter uma das extremidades bifurcada e os prolongamentos curtos (fig. 4a) ou muito longos (fig. 4b) até alcançar 200 micras. Algumas são piramidais, pequenas ou grandes. A largura das fusiformes é variável, podendo ser muito delgadas. Os grãos de melanina podem encher toda a célula e obscurecer o núcleo.

No melanoma fasciculado, quando o fascículo é observado no esfregaço pode-se ver uma estrutura de fibrilhas muito delgadas de aspecto rajado. As células parecem orientar-se segundo a direção destas fibrilhas (fig. 1a).

Em muitas células são vistos microvacúolos (fig. 3b) que podem estar dispersos ou agrupados no soma ou nas ramificações. Também vacúolos grandes, isolados ou associados a outros menores podem ser encontrados.

Predominam as células mononucleadas, mas são vistas também células bi, tri ou tetranucleadas. Quando existe mais de um núcleo, as células geralmente têm conformações diferentes, sendo freqüentemente mais alargadas e ramificadas (figs. 2a, 5a e b).

As formas e tamanhos nucleares são muito variáveis de célula para célula. Há núcleos denteados, segmentados ou multilobulados (figs. 5a e c). Tomando-se em consideração o conjunto das células verificam-se todas as fases de um processo de aparente divisão amitótica (figs. 5c, a e b) que vai desde simples fenda pequena (fig. 5c) até o estrangulamento total (fig. 5b). Vêm-se porções de núcleos presos por delgada faixa de material nuclear (fig. 5a).

Os nucléolos são muito pouco visíveis, ou ausentes no tipo A ou são proeminentes no tipo B. Nestes casos apresentam uma grande variedade de formas.

II — Células epitelióides: Trata-se de células arredondadas, núcleo globoso e nucléolo sempre presente. É característica a capacidade que têm de apresentarem pleomorfismo (fig. 6a), pois os tamanhos celulares e nucleares variam dentro de amplos limites, mas mantendo a forma arredondada ou poligonal.

A cromatina nuclear pode estar finamente dispersa ou aparecer em grumos grossos. Fendas ou estrangulamentos também foram observados. O nucléolo, sempre proeminente, pode mostrar grandes irregularidades na sua forma (fig. 1b).

Podem ser encontrados no citoplasma pequenos ou grandes vacúolos (fig. 6a) e uma quantidade variável de pigmento melânico que pode mascarar as outras características citológicas. Não há correlação entre tamanho e forma celular de um lado e presença de pigmento de outro, pois podem ter pigmento células muito pequenas, de mais ou menos 10 micras e também células muito maiores. Entretanto, parece-nos que as células multinucleadas (fig. 6b), exceptuando-se as binucleadas, são privadas de pigmento.

III — Outros tipos celulares: Células multinucleadas foram encontradas em todos os casos estudados sendo bi, tri, tetra ou com maior número de núcleos (figs. 2a, 5b e 6b). Os tamanhos e as formas são muito variadas, podendo atingir grandes dimensões. O citoplasma geralmente é denso, com ou sem vacúolos. Os núcleos dentro da mesma célula, podem apresentar grandes variações dimensionais com nucléolos visíveis ou não.

Células necróticas também foram encontradas com certa freqüência, especialmente nos esfregaços das recidivas; aparecem também formas muito bizarras. Foram achadas células apresentando as características morfológicas de histiócitos. Células pequenas com núcleo muito denso e de aspecto linfóide foram também vistas. Elementos sanguíneos podem ser encontrados em maior ou menor proporção.

DISCUSSÃO

A citologia dos melanomas em esfregaços, método ainda muito pouco empregado, pode trazer esclarecimentos valiosos, pois submete à nossa observação as células em condições muito perto de seus parâmetros ecológicos originais. Entretanto, a cultura de tecidos e os transplantes, também proveitosos métodos de estudo, modificando o meio habitual, trazem necessariamente alterações em sua forma e comportamento. Este fato tem sido observado por diversos autores ao comparar o aspecto dos cortes histológicos com as células cultivadas. Krohn et ali (10) utilizando um tumor experimental de Greene de tipo epitelióide, transformou-o após 100 passagens na câmara anterior do coelho, numa linhagem pouco antigênica. Isto poderia ser explicado por uma seleção clonal resultante da eliminação de outros clones por ação imunogênica, o que confirmaria a influência seletiva do meio ambiente.

O melanoma na sua forma natural é formado por populações celulares variadas, cada uma com características próprias que interagem e sofrem ainda a ação imunogênica do organismo. Fenômenos de degeneração, necrose e crescimento repentino podem resultar deste tipo particular de ação ambiental.

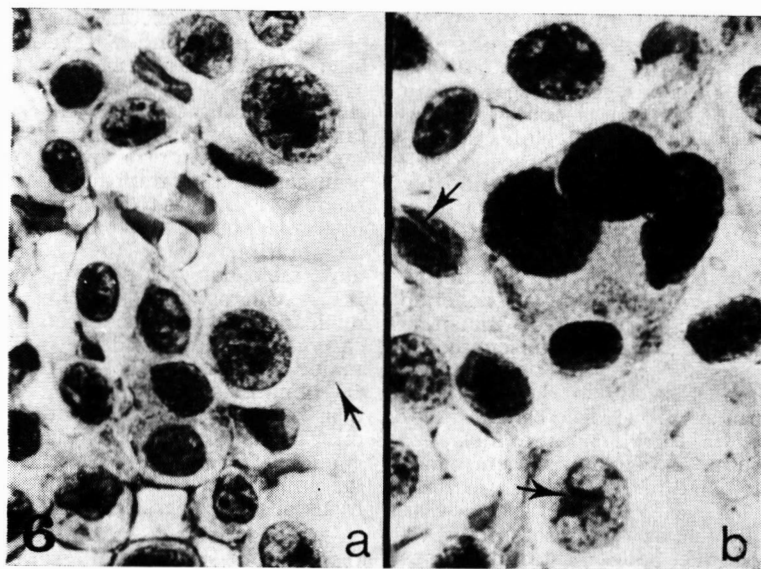


Fig. 6a — Grupo de células epitelióides apresentando grande polimorfismo celular e nuclear e citoplasma claro de baixa densidade, sem pigmento. Cromatina nuclear grosseira e mal distribuída. Núcleolos proeminentes. Um grande vacúolo observa-se no citoplasma da célula assinalada pela flecha. Melanoma fasciculado. Fixação: álcool 96°. Shorr. Aprox. 1000x.

Fig. 6b — Célula trinucleada de grande tamanho. Em torno há várias células epitelióides, com citoplasma claro, pouco denso e contornos mal definidos. As flechas indicam fendas e pregueamentos da membrana nuclear. Melanoma fasciculado. Fixação: álcool 96°. Shorr. Aprox. 1500x.

Figuras de mitose são raramente vistas em melanomas humanos (10) e segundo McGovern e Brown (11), são excepcionais as pessoas que as teriam visto em melanócitos normais, entretanto são vistas em abundância em implantes e nas repicagens sucessivas de culturas. Irvine et ali (12) constataram maior número de mitoses nas repicagens tardias, enquanto que nas primeiras culturas o poder de divisão foi menor. Reese e Ehrlich (13) relatam raras mitoses nas suas culturas, embora tenham sentido que as células resultavam de crescimento e não de uma migração amebóide.

As culturas de tecido também têm levado a sugerir que as diversas células dos melanomas uveais têm uma origem comum, evidenciado pelo fato de que um tipo celular, por exemplo, fusiforme, pode transformar-se em outro — epitelióide — e vice-versa (12, 13).

No material por nós estudado, todos os tipos celulares descritos nos cortes histológicos, nas culturas, e no trabalho de Feyrter e Böck (6) foram observados, inclusive, elementos linfóides, que podem infiltrar estes tumores (14, 15). Achou-se num mesmo esfregaço de cada tumor uma grande variedade de tipos celulares; este fato poderá eventualmente não acontecer quando o tumor for de tipo mais homogêneo (16) que os estudados nesta pesquisa.

Foi muito sugestivo o aspecto de células multinucleadas que parecem originadas de fusiformes. Salientamos que nos esfregaços a preservação do núcleo é excelente, o que permite visualizar sua forma com grande precisão e clareza. Podem ser observadas suas irregularidades e a verdadeira gama de fendas que vão desde uma pequena depressão da membrana nuclear até o estrangulamento total, dividindo o núcleo em duas partes iguais, ou o que mais freqüente, muito desiguais. Estes aspectos podem ser vistos com os fixadores e corantes usuais, entretanto aparecem como desenhados quando é usada a impregnação argêntica.

As fendas e estrangulamentos observados são muito sugestivos de amitose. Se bem que esta modalidade de divisão celular não tem sido muito encarada na atualidade, parece existir nos melanomas por nós estudados e sua significação ainda se apresenta obscura.

Nos melanomas coróideos é impossível, com métodos clínicos, conhecermos qual o tipo celular de que está composto. No entanto, conjuntamente com o tamanho, o tipo de célula predominante é um dos fatores mais importantes a levar em conta (17).

A biópsia tumoral com agulha fina tem sido praticada em vários órgãos, tais como pâncreas, pulmão, rim (18) e inclusive na

órbita, com bons resultados (19). São conhecidos os riscos da punção biópsica no olho (20), tais como hemorragia, implantação no trajeto da punção e passagem de células neoplásicas no sangue circulante. Com referência a esta última possibilidade, o achado de células malignas no sangue de 95% dos pacientes com melanoma, levou Horodensky e Prus-Sawicka (21) a apoiarem a tese de que estas células não são sinônimo de metástases, pois podem ser destruídas pelo próprio organismo.

Como uma hipótese de futuro, sobrepondo-se aos riscos mencionados e tomando certas precauções (22), poderia se pensar na possibilidade da punção biópsica operatória de tumores pequenos que vão ser ressecados isoladamente, conservando o resto do olho. A identificação das células que compõem o tumor forneceria, na sala de cirurgia, dados muito valiosos e úteis na correta escolha da terapia.

RESUMO

Os autores estudam os aspectos citológicos encontrados em esfregaços de melanomas da coróide; descrevem os métodos usados para obtê-los, os quais consistiram em punção transcleral de olhos enucleados, ou raspagem e "imprint" de peças cirúrgicas oriundas de recidivas. As células encontradas foram semelhantes às já descritas quer em cultura de tecidos ou cortes histológicos. Foram achadas células fusiformes A e B, epitelióides, schwannóides, piramidais, dendríticas, bi, tri ou multinucleadas, podendo todas elas ser pouco ou muito pigmentadas e de tamanho variável. Grande quantidade de núcleos apresentaram fendas e estrangulamentos, aparecendo às vezes separados por delgado espaço ou bastante afastados um do outro dentro da mesma célula. A análise destes aspectos nucleares sugeriu a presença de um processo ativo de divisão direta ou amitose, fato de significação ainda não esclarecida. Entre as vantagens dos esfregaços salientam-se a nitidez com que aparecem o citoplasma, núcleo e nucléolos, e a possibilidade de estudar as células diretamente extraídas do seu meio ecológico habitual. Levanta-se a possibilidade de que o método usado possa ser de utilidade — no transoperatório — nos casos de melanomas pequenos que vão ser ressecados isoladamente.

SUMMARY

Cell choroidal melanoma smears were examined by the authors. The material was obtained by transcleral fine needle aspiration biopsy of enucleated eyes, or in some cases from scraping and imprints of orbital relapses of primary intraocular tumors. The cells found were analogous to the ones described in cell cultures and common histological sections. The following cell types were present; spindle A and B; epithelioid; schwannian; pyramidal; dendritic, bi-, tri-, and multinucleated; all of them having multiple size and containing a variable amount of melanin. Numerous nuclei bearing irregularities, indentations and strangulations were observed. In some cases the nuclei appeared separated by a thin cytoplasmic band while in others they were seen wide apart within the same cell. The nuclear images suggested the presence of an active process of direct division or amitosis, the significance of which is still to be clarified. The main advantage of employing the present method consists in the excellent cell preservation and cleanness obtained, and in the possibility to study cells retired from their own ecological environment. The feasibility of using this method — in the surgical room — as an aid in the cases of surgical removal of small melanomas was postulated.

BIBLIOGRAFIA

- ZIMMERMAN, L. E.; McLEAN, I. W.; FOSTER, W. D. — Does enucleation of the eye containing a malignant melanoma prevent or accelerate the dissemination of tumor cells? *Br. J. Ophthalmol.*, 62: 420, 1978.
- MANSCHOT, W. A.; PEPERZEEL, H. A. V. — Choroidal melanoma. Enucleation or observation? A new approach. *Arch. Ophthalmol.*, 98: 71, 1980.
- PEYMAN, G. A.; SANDERS, D. R.; MAY, D. R. — Local excision of malignant melanoma of the choroid. In PEYMAN, G. A.; APPLE, D. J.; SANDERS, D. R. — *Intraocular tumors*. Appleton-Century-Crofts. New York, 1977.
- DAVIDORF, F. H.; LANG, J. R. — Small malignant melanomas of the choroid. *Am. J. Ophthalmol.*, 78: 788, 1974.
- THOMAS, J. V.; GREEN, W. R.; MAUMENEE, A. E. — Small choroidal melanomas. A long-term follow-up study. *Arch. Ophthalmol.*, 97: 861, 1979.
- FEYRTER, F.; BÖCK, J. — Über die Beziehungen zwischen dem Naevus der Haut, dem Naevus der Augenbindehaut und dem Melanom der Aderhaut. III. Der Zellbestand gemischtzelliger Melanome der Uvea im Tupfen und Wischer. *Albrecht von Graefes Arch. Klin. exp. Ophthalmol.*, 179: 199, 1970.
- NAIB, Z. M. — Cytology of ocular lesions. *Acta Cytol.*, 16: 178, 1972.
- SAGIROGLU, N.; ÖZGÖNÜL, T.; MUDERRIS, S. — Diagnostic intraocular cytology. *Acta Cytol.*, 19: 32, 1975.
- ORCEL, L.; ROSA, D. A.; JAGUEUX, M.; AFTIMOS, G. — Le diagnostic cytotologique des tumeurs mélaniques oculaires. A propos d'une observation. *Arch. Anat. Cytol. Path.*, 26: 120, 1978.
- KROHN, D. L.; BRANDT, R.; MORRIS, D. A. — Subchoroidal transplantation of experimental malignant melanoma. *Am. J. Ophthalmol.*, 70: 753, 1970.
- MCGOVERN, V. J.; BROWN, M. M. L. — The nature of melanoma. Charles C. Thomas Publisher. Springfield, Illinois, 1969.
- IRVINE, A. R.; MANNAGH, J.; ARYA, D. V. — Change in cell type of human choroidal malignant melanoma in tissue culture. *Am. J. Ophthalmol.*, 80: 417, 1975.
- REESE, A. B.; EHRLICH, G. — The culture of uveal melanomas. *Am. J. Ophthalmol.*, 46: 163, 1958.
- LANG, J. R.; DAVIDORF, F. H.; BABA, N. — The prognostic significance of lymphocytic infiltration in malignant melanoma of the choroid. *Cancer*, 40: 2388, 1977.
- SUNBA, M. S. N.; RAHI, A. H. S.; MORGAN, G.; HOLBOROW, E. J. — Lymphoproliferative response as an index of cellular immunity in malignant melanoma of the uvea and its correlation with the histological features of the tumour. *Br. J. Ophthalmol.*, 64: 576, 1980.
- DEGRAZIA, C. O.; MELAMED, J. — Melanoma coróide de células epitelióides pequenas. *Arq. Bras. Oftal.*, 43: 75, 1980.
- GAMEL, J. W.; McLEAN, I. W.; FOSTER, W. D.; ZIMMERMAN, L. E. — Uveal melanomas. Correlation of cytologic features with prognosis. *Cancer*, 41: 1897, 1978.
- HAAGA, J. R.; ALFIDI, R. J. — Precise biopsy localization by computed tomography. *Radiol.*, 118: 603, 1976.
- WESTMAN-NAESER, S.; NAESER, P. — Tumours of the orbit diagnosed by fine needle biopsy. *Acta Ophthalmol.*, 56: 969, 1978.
- SHIELDS, J. A. — Current approaches to the diagnosis and management of choroidal melanomas. *Surv. Ophthalmol.*, 21: 443, 1977.
- HORODENSKI, J.; PRUSSAWICKA, K. — Further investigations on the presence of free cells of uveal malignant melanoma in peripheral blood. *Klin. Oczna.*, 42: 699, 1972.
- CONSTABLE, I. J.; CHESTER, G. H.; HORNE, R.; HARRIOTT, J. F. — Human chorioretinal biopsy under controlled systemic hypotensive anaesthesia. *Br. J. Ophthalmol.*, 64: 559, 1980.