

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER
PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM ONCOLOGIA

Lucilia Maria Gama Zardo

CRITÉRIOS CITOMORFOLÓGICOS PREDITIVOS PARA O
DIAGNÓSTICO DE ADENOCARCINOMA *IN SITU* DE
ENDOCÉRVICE

Rio de Janeiro

2008

Lucilia Maria Gama Zardo

CRITÉRIOS CITOMORFOLÓGICOS PREDITIVOS PARA O
DIAGNÓSTICO DE ADENOCARCINOMA *IN SITU* DE ENDOCÉRVICE

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação do Instituto Nacional de Câncer - INCA, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Oncologia

Orientador: Prof. Dr. Luiz Claudio Thuler
Co-orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Zeferino

Rio de Janeiro
2008

Z36c..... Zardo, Lucilia Maria Gama

Crêterios citomorfológicos preditivos de adenocarcinoma *in situ* de endocérvice em esfregaços cervicovaginais / Lucilia Maria Gama Zardo - Rio de Janeiro: INCA, 2008.

92 f.

Disserta o (Mestrado) – Instituto Nacional de Câncer, Programa de Pós-Gradua o em Oncologia, Rio de Janeiro, 2008. Orientador: Luiz Claudio Thuler; Luiz Carlos Zeferino.

1. Citodiagn stico. 2. Esfregaço vaginal. 3. Adenocarcinoma
4. Diagnóstico precoce. 5. Colo do útero I. Thuler, Luiz Claudio.
II. Zeferino, Luiz Carlos

CDD 618.1407582

Dedicatória

Este trabalho é dedicado a Julia e Lucas, meus filhos, e Marcio, meu marido, pelo amor e carinho que nos une, de quem sempre encontrei apoio e compreensão.

Agradecimentos

Esta primeira página dedica este trabalho a todas as pessoas que me motivaram, orientaram, ouviram, concordaram, discordaram, discutiram e colaboraram ao longo desta empreitada.

Ao meu orientador, Prof. Luiz Claudio Santos Thuler, agradeço pelo incansável incentivo, carinho e “puxões de orelha”, sempre indicando a direção a ser tomada nos momentos de maior dificuldade. Agradeço, principalmente, pela confiança depositada desde minhas expectativas de trabalho até a conclusão desta dissertação.

Aos meus colegas de trabalho, agradeço toda a colaboração que me prestaram, desde a aceitação e compreensão das minhas ausências, físicas e psicológicas, até o efetivo apoio e auxílio no trabalho, sobretudo nos últimos tempos. Agradeço especialmente às colegas de trabalho e amigas Gil, Nilzinha e Rachel pela ajuda, apoio e incentivo para a realização e conclusão desta pós-graduação.

Agradeço ao Prof. Luiz Carlos Zeferino, meu co-orientador e à Profa. Sophie Derchain, que desde o início, foram importantes incentivadores da realização desta pós-graduação. E, ainda, ao Dr. Paulo Antonio Silvestre de Faria, chefe da Divisão, pelo seu apoio.

Agradeço também profundamente ao meu marido e aos meus filhos por diversas palavras e atitudes de carinho, paciência e incentivo que deram, tanto neste período como em toda minha vida profissional.

Gostaria enfim, de deixar sinceros agradecimentos a todas estas pessoas e outras que de forma indireta também me apoiaram durante este período.

Resumo

Introdução: O adenocarcinoma de endocérvice é uma lesão rara e de mau prognóstico. Sua incidência vem aumentando, principalmente em mulheres jovens, enquanto se observa uma diminuição do carcinoma escamoso. Em seu estágio inicial, habitualmente, não tem expressão clínica ou colposcópica, o que dificulta sua detecção. O exame citopatológico é, na maioria das vezes, a única oportunidade de identificação destas lesões antes que evoluam para o adenocarcinoma invasor. Entretanto, os critérios utilizados para o diagnóstico são de baixa reprodutibilidade e, freqüentemente, o adenocarcinoma *in situ* é confundido com lesão intra-epitelial de alto grau e adenocarcinoma invasor. **Objetivo:** Identificar critérios morfológicos presentes no exame citopatológico, preditivos de adenocarcinoma *in situ* de endocérvice. **Material e métodos:** Foram analisados 54 critérios citomorfológicos em 26 casos com diagnóstico histopatológico de adenocarcinoma *in situ*, comparando-os com 63 casos de neoplasia intra-epitelial graus 2 ou 3 e 49 de adenocarcinoma invasor, identificados na Seção Integrada de Tecnologia em Citopatologia, na Divisão de Patologia, do Instituto Nacional de Câncer. Foi realizada revisão das lâminas, por dois citopatologistas, às cegas, dos exames citopatológicos que antecederam o diagnóstico. Foram construídos dois modelos de regressão logística. **Resultados:** Na comparação entre adenocarcinoma *in situ* e adenocarcinoma invasor revelaram-se preditores o *fundo* não necrótico (OR = 6,3; IC 95% 1,3-30,3; $p = 0,024$) e a ausência de *nucléolo* (OR = 4,3; IC 95% 1,3-13,9; $p = 0,014$). No modelo que comparou adenocarcinoma *in situ* a neoplasias intra-epiteliais cervicais graus 2 ou 3, os resultados indicaram *plumagem* (OR = 71,4; IC 95% 4,0-1266,2; $p = 0,004$), ausência de *disceratose* e o *aumento da RNC* apenas leve a moderado, (OR = 12,3 e 12,0; IC 95% 1,2-130,3 e 1,2-124,7; $p = 0,037$). **Conclusão:** O incremento da eficiência do diagnóstico precoce do adenocarcinoma *in situ*, cuja incidência tem aumentado nas últimas décadas, independentemente dos programas de rastreamento, reforça o papel do exame citopatológico na prevenção e controle deste câncer. **Descritores:** citodiagnóstico, esfregaço cervical, adenocarcinoma, diagnóstico precoce, colo do útero.

Abstract

Introduction: Endocervical adenocarcinoma is a rare lesion of difficult prognosis. Its incidence is increasing, mainly among young woman, while a decrease in the squamous carcinoma is being observed. In its initial stage, it usually has no clinical or colposcopic expression, what makes its detection difficult. The cytological exam, in the majority of cases, is the only way to identify these lesions before they evolve into invasive adenocarcinoma. Meanwhile, the criteria used for diagnosis are of low reproducibility, and are often confused with high grade intraepithelial lesion and invasive endocervical adenocarcinoma. **Objective:** Identify morphologic criteria present in the cytological exam that can predict cervical adenocarcinoma *in situ*. **Material and methods:** 54 cytomorphological criteria of 26 cases with histopathological diagnosis of adenocarcinoma *in situ* were analyzed. Comparing them with 63 cases of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 and 49 of invasive adenocarcinomas, identified in Section for Integrated Technology in Cytopathology, in the Pathology Division of National Cancer Institute. Two cytopathologists made a blind review of the slides of the cytopathological examinations that preceded the diagnosis. Two models of logistic regression were constructed. **Results:** In the comparison between adenocarcinoma *in situ* and invasive adenocarcinoma, predictors revealed were non necrotic *background* (OR = 6.3; IC 95% 1.3-30.3; $p = 0.024$) and the absence of *nucleolus* (OR = 4.3; IC 95% 1.3-13.9; $p = 0.014$). In the model that compared adenocarcinoma *in situ* to cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3, the results indicated *feathering* (OR = 71.4; IC 95% 4.0-1266.2; $p = 0.004$), absence of *dyskeratosis* and the *increase of NCR*, only mild to moderate, (OR = 12.3 e 12.0; IC 95% 1.2-130.3 e 1.2-124.7; $p = 0.037$). **Conclusion:** The increase in the efficiency of early diagnosis of adenocarcinoma *in situ*, the incidence of which has increased over the last decades, regardless of tracking programs, strengthens the role of the cytopathological examination in the prevention and control of this cancer.

Keywords: cytodiagnosis, cervical smears, cervical cancer, adenocarcinoma, early diagnosis, uterine cervix.

Sumário

	Página
Resumo	Iv
Abstract	v
1. Introdução	1
2. Objetivos	7
2.1 Geral	7
2.2 Específicos	7
3. Metodologia	8
3.1 Tipo de estudo	8
3.2 População de estudo	8
3.3 Critérios de inclusão e exclusão	9
3.4 Variáveis utilizadas no estudo	10
3.5 Instrumentos para coleta dos dados	12
3.6 Coleta de dados	13
3.7 Processamento e análise dos dados	13
4. Resultados	16
4.1 Análise descritiva	17
4.2 Análise bivariada	18
4.3 Análise multivariada	22
5. Discussão	25
6. Conclusão	31
7. Referências bibliográficas	32
Anexo 1 - Quadro de critérios citomorfológicos	39

Anexo 2 Ficha de registro de casos	44
Anexo 3 Ficha de critérios citomorfológicos	45
Anexo 4 Tabelas de 4.1 a 4.6 de análise descritiva	47
Anexo 5 Tabelas de 5.1 a 5.6 de análise bivariada - AIS e AI	56
Anexo 6 Tabelas de 6.1 a 6.6 de análise bivariada - AIS e NIC 2 / NIC 3	64
Anexo 7 Carta de aprovação do CEP	72
Anexo 8 E.mail de aceitação de publicação de trabalho	73
Anexo 9 Trabalho aceito para publicação na Revista Acta Cytologica	74

Lista de figuras

Página

Figura 1	Composição da população estudada conforme o diagnóstico Histopatológico	18
Figura 2	A) AIS: fundo limpo (Papanicolaou 200x); B) Adenocarcinoma invasor: fundo necrótico (Papanicolaou 400x); C) AIS: ausência de nucléolos (Papanicolaou 400x); D) Adenocarcinoma: nucléolos volumosos e eosinofílicos (Papanicolaou 400x)	39
Figura 3	A) AIS: plumagem (Papanicolaou 400x); B) AIS: plumagem (Papanicolaou 400x); C) HSIL: disceratose (Papanicolaou 200x); D) AIS: discreto aumento da RNC (Papanicolaou 400x)	40

Quadro

Página

Quadro 1 Critérios citomorfológicos analisados 20

Lista de tabelas		Página
Tabela 1	Idade das pacientes	24
Tabela 2	Pacientes com idade < 40 anos	25
Tabela 3	Distribuição dos critérios citomorfológicos conforme o resultado histopatológico - características gerais	26
Tabela 4	Distribuição dos critérios citomorfológicos conforme o resultado histopatológico - quanto ao arranjo arquitetural dos grupamentos	27
Tabela 5	Distribuição dos critérios citomorfológicos conforme o resultado histopatológico - quanto às características celulares	28
Tabela 6	Distribuição dos critérios citomorfológicos conforme o resultado histopatológico - quanto às características citoplasmáticas	29
Tabela 7	Distribuição dos critérios citomorfológicos conforme o resultado histopatológico - quanto à quantidade de citoplasma	31
Tabela 8	Distribuição dos critérios citomorfológicos conforme o resultado histopatológico - quanto às características nucleares	32
Tabela 9	Critérios citomorfológicos para AIS (n=26) tendo como grupo de comparação casos de AI (n=49)	35
Tabela 10	Critérios citomorfológicos para AIS (n=26) tendo como grupo de comparação casos de NIC2/NIC3 (n=63)	36
Tabela 11	Análise multivariada dos fatores relacionados ao diagnóstico de AIS (n=26) tendo como referência casos de AI (n = 49)	38
Tabela 12	Análise multivariada dos fatores relacionados ao diagnóstico de AIS (n=26) tendo como referência casos de NIC2/NIC3 (n=63)	40

Lista de abreviaturas e siglas

AGUS	<i>Atypical glandular cells of undetermined significance</i> (Atipia de células glandulares de significado indeterminado)
AIS	<i>Adenocarcinoma in situ</i> (Adenocarcinoma <i>in situ</i> de endocérvice)
AI	Adenocarcinoma invasor
ANOVA	<i>Analise of variance</i>
CDC	<i>Center for Disease Control</i>
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CI	<i>Confidence interval</i>
CIN	<i>Cervical intraepithelial neoplasia</i>
DIPAT	Divisão de Patologia
DP	Desvio padrão
et al.	E outro(s), e outra(s)
HPV	<i>Human Papillomavirus</i> (Papilomavírus humano)
HSIL	<i>High grade squamous intraepithelial lesion</i> (Lesão escamosa intra-epitelial de alto grau)
IC	Intervalo de confiança
INCA	Instituto Nacional de Câncer
LSIL	<i>Low grade squamous intraepithelial lesion</i> (Lesão escamosa intra-epitelial de baixo grau)
NIC	Neoplasia intra-epitelial cervical
NCI	<i>National Cancer Institute</i>
OR	<i>Odds ratios</i>
RNC	Relação núcleo-citoplasmática
SITEC	Seção Integrada de Tecnologia em Citopatologia
SEER	<i>Surveillance Epidemiology and End Results</i>
SPSS	<i>Statistical Package for Social Science</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
USA	United State of America
WHO	World Health Organization

1. Introdução

O conceito de adenocarcinoma *in situ* (AIS) foi proposto inicialmente por Friedell e McKay (1953), com base em dois casos de adenocarcinoma cervical que também apresentavam lesão não invasora. Entretanto, nas décadas seguintes, mesmo com os importantes avanços no conhecimento sobre o desenvolvimento do carcinoma de células escamosas, o AIS permaneceu esquecido. Somente a partir do final dos anos 80, após a publicação de um trabalho de Jaworski *et al.* (1988), com detalhada descrição de 72 casos, o AIS passou a ser reconhecido como o precursor imediato do adenocarcinoma de colo de útero.

O adenocarcinoma endocervical é uma neoplasia pouco freqüente, que acomete mulheres em faixa etária mais jovem que a de pacientes com carcinoma escamoso e, em geral, tem prognóstico ruim se diagnosticado em estágio avançado. Em seu estágio inicial, ainda como AIS de colo uterino, habitualmente não tem expressão clínica ou colposcópica, o que dificulta sua detecção (AYER *et al.*, 1987). Na maioria das vezes, a única oportunidade de identificação destas lesões, antes que evoluam para adenocarcinoma invasor, é o exame citopatológico. Por isso, o exame de Papanicolaou é potencialmente uma arma poderosa no seu diagnóstico.

O diagnóstico citopatológico do AIS é difícil, os critérios citomorfológicos utilizados são de baixa reprodutibilidade e a capacidade de detecção pelo exame de

Papanicolaou é controversa (LEE *et al.*, 2002; SIMSIR *et al.*, 2003). Enquanto alguns estudos confirmam a boa especificidade para lesões glandulares em geral, outros estudos sugerem que o AIS não pode ser rotineiramente reconhecido ou precisamente sub-categorizado na prática de rotina (RENSHAW *et al.*, 2004; GELDENUYS; MICHELLE, 2007).

A maioria dos casos de AIS parece envolver a superfície do epitélio e as glândulas superficiais próximas à zona de transformação. Isto faz com que o AIS seja geralmente acessível ao diagnóstico pela coleta endocervical através da escova para material citológico e biópsia superficial (ZAINO, 2002). Embora muitos trabalhos apontem para o erro de coleta como a primeira razão para a ocorrência de resultados falso-negativos do exame de Papanicolaou no AIS da endocérvice, Lee *et al.* (1997) revelaram um número apreciável de falhas no rastreamento microscópico quando realizaram a releitura retrospectiva dos exames citopatológicos negativos que antecederam o diagnóstico final (RUBA *et al.*, 2004).

As lesões glandulares são bem menos freqüentes quando comparadas com as de origem epitelial escamosa, porém, a incidência do adenocarcinoma de colo uterino tem aumentado gradualmente nas duas últimas décadas e, particularmente, em mulheres jovens (PARAZZINI; VECCHIA, 1990; BOSE *et al.*, 1994; WADDELL, 2004).

Nos Estados Unidos, no período de 1973 a 1976, o carcinoma de células escamosas constituía 87,6% de todos os casos de câncer de colo de útero e 12,4% eram adenocarcinomas (SMITH *et al.*, 2000). Já informações de 2001 a 2005, do banco de dados *Surveillance Epidemiology and End Results* (SEER), indicam que 69,4% dos casos de câncer cervical confirmados histologicamente eram carcinomas de células escamosas e que 24,6% eram adenocarcinomas (RIES *et al.*, 2008), o que indica um aumento significativo no número de casos. Comportamento semelhante vem sendo observado nos países europeus onde a taxa de incidência do adenocarcinoma cervical vem aumentando. Estes aumentos variam desde cerca de 0,5% ao ano na Dinamarca, Suécia e Suíça até taxas maiores ou iguais a 3% na Finlândia, Eslováquia e Eslovênia (BRAY *et al.*, 2005). No Brasil, informações referentes ao período de 1998 a 2002, dos Registros de Câncer de Base Populacional de quatro cidades brasileiras (Brasília, Cuiabá, Goiânia e São Paulo) demonstram uma distribuição percentual dos casos conforme o tipo histológico, que oscila de 11,5% em Cuiabá a 13,6% em São

Paulo e Brasília, enquanto o carcinoma de células escamosas varia de 70,6% em Goiânia a 78,4% em Cuiabá (CURADO *et al.*, 2007). Na Seção Integrada de Tecnologia em Citopatologia (SITEC), da Divisão de Patologia (DIPAT) do Instituto Nacional de Câncer (INCA) foram avaliadas 2.590.444 citologias entre janeiro de 1999 e dezembro de 2007, sendo encontrados 168 exames citopatológicos classificados como AIS (0,006%).

Smith *et al.* (2000) e Smith e Padilla (2002) sugerem a possibilidade de um melhor prognóstico para as pacientes com adenocarcinoma de colo de útero em alguns grupos populacionais nos últimos anos, talvez devido ao diagnóstico em fase precoce da doença como resultado de rastreamento. O mesmo é revelado pelos resultados de Kinney *et al.* (2003), nos quais o adenocarcinoma invasor e o carcinoma adenoescamoso, detectados por rastreamento, encontravam-se em fases mais precoces, associados à menor mortalidade específica, do que os casos não detectados por rastreamento.

Algumas evidências indicam a existência do AIS como a lesão precursora do adenocarcinoma invasor, sendo um análogo ao carcinoma escamoso cervical *in situ*. Estas evidências incluem: 1) é diagnosticado em população 10 a 20 anos mais jovem que aquela com adenocarcinoma invasor, com uma média de idade de cerca de 35 anos; 2) é freqüentemente encontrado nas adjacências do adenocarcinoma invasor; 3) tipos semelhantes de Papillomavirus humano (HPV) são encontrados tanto na lesão *in situ* quanto na invasora; 4) têm sido identificados casos não tratados que apresentaram, posteriormente, adenocarcinoma invasor (ZAINO, 2002).

Trabalhos na literatura científica mencionam um período médio de progressão de 13 anos do AIS para o adenocarcinoma invasor. Isto leva a crer que as pacientes com lesões glandulares se beneficiariam de um tempo amplo para o diagnóstico precoce das lesões glandulares de colo de útero. (SCHOOLLAND *et al.*, 2002).

Apesar dos programas de rastreamento detectarem mais freqüentemente as lesões escamosas pré-invasoras (SOLOMON *et al.*, 2002), deve ser totalmente explorada a oportunidade de detecção precoce dos carcinomas glandulares por meio da identificação de lesões iniciais como o AIS. Os esfregaços com atipias de células glandulares representam apenas pequena porcentagem dos diagnósticos citológicos. AYER *et al.* (1987) revelaram que 97% dos casos estudados foram identificados como

parte de uma rotina de rastreamento e somente 3% dos casos de AIS apresentaram sangramento anormal. Em 1988, em encontro promovido pelo Instituto Nacional de Câncer norte-americano (*National Cancer Institute - NCI*), em Bethesda, foi introduzida uma nova classificação denominada Sistema de Bethesda. O objetivo da nova terminologia foi fornecer condições para a comunicação adequada entre citopatologistas e clínicos, facilitar a correlação cito-histológica e o manejo terapêutico adequado dos casos alterados por meio do estabelecimento de critérios mais específicos na determinação das atipias celulares. Esta classificação criou dois braços diagnósticos: um para as células escamosas e outro para as células glandulares. Dentro dessa nova sistematização, novas categorias diagnósticas surgiram, incluindo as células glandulares atípicas de significado indeterminado (NCI, 1989; BOSE *et al.*, 1994). Esta categoria foi definida como a presença de células com diferenciação endometrial ou endocervical, apresentando atipias nucleares que excedem processos reacionais ou reparativos óbvios, mas não chegam a apresentar características inequívocas de adenocarcinoma invasor (KURMAN; SOLOMON, 1994).

Posteriormente, em 1991, realizou-se uma segunda reunião para reavaliação do Sistema de Bethesda, que manteve o diagnóstico citológico de células glandulares atípicas de significado indeterminado até que estudos complementares pudessem definir mais claramente seu significado. Nesta revisão, a sigla AGUS foi adotada para este diagnóstico citológico, que, a rigor, representava uma dúvida na avaliação citológica e não correspondia a nenhuma lesão específica, tanto que não tinha diagnóstico correspondente no exame histológico. Alguns critérios diagnósticos de AIS já eram reconhecidos, porém se preferiu não identificá-lo como um diagnóstico citológico específico, pois ainda se necessitava de estudos adicionais para avaliar a consistência e a reprodutibilidade destes critérios (KURMAN; SOLOMON, 1994).

No Brasil, em 1993, como parte integrante das ações de controle do câncer de colo de útero, o Ministério da Saúde, por meio do INCA e da Sociedade Brasileira de Citopatologia (SBC), promoveu o “Seminário nacional sobre nomenclatura e controle de qualidade dos exames citológicos e prevenção do câncer cérvico-uterino”. Neste encontro foi instituída uma nomenclatura, passível de informatização, que permitia estabelecer parâmetros de comparabilidade em nível nacional. Desde essa época, em nosso país, a categoria diagnóstica adenocarcinoma endocervical *in situ* foi

incorporada. Esta nomenclatura, já contendo alguns critérios do Sistema de Bethesda, somente foi incorporada universalmente pelos laboratórios de citopatologia que prestam serviços ao Sistema Único de Saúde (SUS) a partir de 1998 com a implantação, em todo o país, do Viva Mulher – Programa Nacional de Controle do Câncer do Colo do Útero e da Mama (BRASIL, 2002; BRASIL, 2003).

Foi somente na revisão do Sistema de Bethesda, de 2001, que o AIS endocervical foi incorporado como uma categoria distinta e o diagnóstico de “células glandulares atípicas de significado indeterminado” foi excluído, juntamente com a sigla AGUS. Foi criado o diagnóstico de “células glandulares atípicas”, sendo que as células devem ser subclassificadas como endocervicais, endometriais ou apenas glandulares. A este diagnóstico pode ser agregado o complemento “favorável ou sugestivo de neoplasia” (SOLOMON; NAYAR, 2004).

É esperado que uma alta proporção de exames citológicos com células glandulares apresentando atipias corresponda a AIS, a hiperplasia de endométrio ou a adenocarcinoma, entretanto, na prática, grande parte destes casos revela alterações benignas reativas ou lesões escamosas de alto grau (RONNETT *et al.*, 1999). Alguns trabalhos publicados que abordam o desempenho do exame citopatológico para o diagnóstico de AIS, através da correlação cito-histológica, demonstram que freqüentemente o exame histopatológico revela maior ou menor percentual de neoplasia intra-epitelial escamosa graus 2 ou 3 e adenocarcinoma invasor, além do próprio AIS (OZKAN *et al.*, 2004; RENSHAW *et al.*, 2004; GELDENHUYS; MICHELLE, 2007; WESTIN *et al.*, 2007; ZARDO *et al.*, 2008). Diante disso, impõe-se o diagnóstico diferencial entre AIS, neoplasias intra-epiteliais cervicais escamosas graus 2 ou 3 e o adenocarcinoma endocervical invasor.

O diagnóstico citológico de AIS é feito com base em um conjunto de critérios morfológicos que considera o tipo, a quantidade e a apresentação das células atípicas e, principalmente, características do núcleo e do citoplasma destas células. A evolução das classificações baseia-se na reconstrução do conjunto de critérios para cada diagnóstico, com base na experiência adquirida e no melhor conhecimento da história natural das lesões do epitélio do colo uterino. O objetivo das revisões da classificação, evidentemente, é aprimorar o diagnóstico citológico aumentando sua sensibilidade. Neste contexto, o diagnóstico citológico dos adenocarcinomas cervicais, em especial a

forma *in situ*, é desafiador (RONNETT *et al.*, 1999; KRANE *et al.*, 2001 e 2004; LEE *et al.*, 2002). Desta forma, a identificação dos critérios morfológicos que isoladamente estão associados ao diagnóstico das lesões glandulares pode permitir a reconstrução de um conjunto de critérios que resulte em maior valor preditivo para as lesões glandulares endocervicais *in situ*.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Identificar critérios morfológicos presentes no exame citopatológico preditivos do diagnóstico de AIS da endocérvice.

2.2. Objetivos específicos

- Descrever a distribuição dos critérios citomorfológicos selecionados, em casos de AIS, adenocarcinoma invasor e lesão intra-epitelial cervical de alto grau (neoplasias intra-epiteliais cervicais graus 2 e 3) confirmados pelo exame histopatológico.

- Mensurar a força de associação entre os critérios citomorfológicos analisados e o diagnóstico citopatológico de AIS, tendo como grupos de comparação adenocarcinoma invasor e lesão intra-epitelial de alto grau.

3. Metodologia

3.1. Tipo de estudo

Foi desenvolvido um estudo retrospectivo de uma série de casos de AIS tendo como grupos de comparação casos de adenocarcinoma invasor e de neoplasias intra-epiteliais cervicais graus 2 e 3.

3.2. População de estudo

A identificação dos casos foi realizada nos bancos de dados dos sistemas informatizados da SITEC e da DIPAT, no período de 1º de setembro de 1998 a 31 de dezembro de 2007.

Todos os casos identificados com diagnóstico anatomopatológico de AIS foram selecionados para este estudo. Como grupos de comparação, para cada caso de AIS foram escolhidos um caso de neoplasia intra-epitelial cervical grau 2 ou 3 e um caso de adenocarcinoma invasor da endocérvice. Os diagnósticos foram assim distribuídos:

Adenocarcinoma *in situ* - Foram selecionados todos os casos com diagnóstico histopatológico de AIS cujas pacientes tinham um exame citopatológico anterior que gerou a necessidade de biópsia.

Neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 ou 3 - Foram selecionados de forma pareada com os casos de AIS histológico, conforme a data do resultado do exame. Para cada paciente com diagnóstico histopatológico de AIS, foi identificado o primeiro exame que o antecedeu ou que o sucedeu, com diagnóstico histopatológico de neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 ou 3, cuja paciente tinha um exame citopatológico anterior à biópsia.

Adenocarcinoma invasor - Foram selecionados de forma pareada com os casos de AIS histológico, conforme a data do resultado do exame. Para cada paciente com diagnóstico histopatológico de AIS, foi identificado o primeiro exame que o antecedeu ou que o sucedeu, com diagnóstico histopatológico de adenocarcinoma invasor, cuja paciente tinha um exame citopatológico anterior à biópsia.

Quando houve mais de um exame histopatológico por paciente, foi considerada a lesão mais grave. A partir deste registro, as lâminas dos exames citopatológicos que antecederam e desencadearam o encaminhamento das pacientes para investigação diagnóstica e/ou tratamento foram resgatadas dos arquivos. Todos os exames histopatológicos incluídos no estudo foram revisados para confirmação do diagnóstico e identificação dos casos que cumpriam os critérios de inclusão.

O material dos exames citopatológicos estavam representados por esfregaços ecto e endocervicais, conforme é padronizado pelo Ministério da Saúde, no Programa Nacional de Controle do Câncer do Colo do Útero e da Mama.

3.3. Critérios de inclusão e exclusão

Foram incluídos no estudo todos os exames das mulheres:

- a) com diagnóstico histopatológico confirmado pela revisão das lâminas;
- b) cujo exame citopatológico de rastreamento estava acessível;
- c) cujas lâminas estavam em bom estado de conservação.

Foram excluídos do estudo todos os exames obtidos de mulheres:

- a) que tinham feito previamente tratamento para câncer de colo de útero;
- b) que tinham associação de lesão invasora ou outra neoplasia, à exceção do adenocarcinoma endocervical invasor;
- c) cujas lâminas não estavam adequadas para leitura ou não foram localizadas no arquivo.

3.4. Variáveis utilizadas no estudo

a) Diagnóstico histopatológico final (Padrão-ouro)

O diagnóstico histopatológico foi considerado o padrão-ouro e atribuído de acordo com a classificação proposta pela Organização Mundial da Saúde (TAVASSOLI, 2003). Quando a paciente tinha mais de um exame histopatológico alterado obtido por biópsia e/ou conização do colo uterino e/ou histerectomia, foi considerado o diagnóstico da lesão de mais alto grau.

b) Diagnóstico citopatológico

Foi convertido de acordo com a correspondência do diagnóstico da Nomenclatura Brasileira para Laudos Citopatológicos Cervicais, recomendada pelo Instituto Nacional de Câncer/ Ministério da Saúde (BRASIL, 2006).

c) Idade da paciente

Foi calculada em anos completos, considerando-se a data do seu nascimento e a data do resultado do exame citopatológico.

d) Intervalo de tempo entre os diagnósticos

Foi avaliado em dias considerando-se a data do exame citopatológico de rastreamento que referenciou a paciente para colposcopia e a data do exame que definiu o diagnóstico final.

e) Critérios citomorfológicos

Os critérios citomorfológicos pré-estabelecidos, no total de 54 (quadro 1), foram analisados individualmente em microscópio óptico, através da revisão dos exames citopatológicos realizados para o rastreamento de lesões precursoras do câncer do colo uterino. Os critérios foram escolhidos tendo em vista sua possível associação e seu valor diagnóstico em lesões escamosas e glandulares do colo do útero (AYER *et al.*, 1987; DEMAY, 1996; PACEY; NG, 1997; RUBA *et al.*, 2004).

A revisão foi realizada por dois citopatologistas, às cegas, em microscópio de co-observação. A identificação dos critérios citomorfológicos foi consensual entre os observadores e registrada em instrumento de coleta elaborado com esta finalidade. No Anexo 1 são detalhadas as variáveis referentes aos critérios citomorfológicos com suas definições e categorizações.

Quadro 1 - Critérios citomorfológicos analisados

Características gerais	Arranjo arquitetural dos grupamentos	em	Características celulares
Fundo	Células atípicas grupamentos	em	Célula colunar atípica
Cellularidade	Células atípicas isoladas		Célula cuboidal atípica
Quantidade de células atípicas	Rosetas		Célula parabasal atípica
	Papilas		Célula intermediária atípica
	Sincícios		Célula superficial atípica
	Plumagem		Célula metaplásica madura atípica
	Paliçada pseudoestratificada		Célula metaplásica imatura atípica
	Retalhos em monocamada		Perda da polaridade
	Sobreposição celular		

Características citoplasmáticas	Quantidade de citoplasma	Características nucleares
Espaço claro perinuclear	Células escamosas atípicas ausentes ou com citoplasma normal	Núcleos nus atípicos
Disceratose	Células escamosas atípicas com citoplasma escasso	Binucleação
Borda citoplasmática espessa	Células escamosas atípicas com citoplasma amplo	Multinucleação
Limites citoplasmáticos definidos	Células glandulares atípicas ausentes ou com citoplasma normal	Aumento da RNC*
Limites citoplasmáticos indefinidos	Células glandulares atípicas com citoplasma escasso	Anisocariose

Citoplasma fino e translúcido	Células glandulares atípicas com citoplasma amplo	Hipercromasia
Citoplasma moderadamente denso		Pleomorfismo
Citoplasma denso e espesso		Figuras de mitose
Citoplasma vacuolado		Membrana nuclear irregular
Citoplasma homogêneo		Membrana nuclear espessada
		Cromatina granular grosseira
		Nucléolo
		Cromatina finamente granular
		Núcleo célula metaplásica >1,5 vez
		Núcleo célula madura > 2,5 a 3 vezes
		Núcleo célula madura > 3 vezes
		Núcleo célula endocervical >1,5 vez

*RNC = Relação núcleo-citoplasmática

3.5. Instrumentos para coleta dos dados

a) Ficha de registro dos casos

Os dados dos casos identificados foram registrados em ficha elaborada para este estudo contendo número do caso, data de nascimento, idade, número do exame citopatológico, laudo e data da liberação, número do exame histopatológico, laudo, data da liberação e tipo de procedimento (Anexo 2). Cópias dos laudos citopatológicos e histopatológicos foram anexadas à ficha de registro dos casos. Foi mantida a confidencialidade das informações das pacientes.

b) Ficha de critérios morfológicos

Os dados referentes à revisão microscópica dos exames citopatológicos foram registrados em ficha elaborada para este estudo, contendo as variáveis referentes aos critérios morfológicos, número do caso e nome dos avaliadores (Anexo 3).

3.6. Coleta de dados

Foi seguida a seguinte ordem na coleta de dados:

1. Localização dos casos com diagnóstico histopatológico de AIS
2. Localização dos casos pareados com diagnóstico histopatológico de neoplasia intra-epitelial graus 2 ou 3 e de adenocarcinoma invasor. Para cada paciente com diagnóstico histopatológico de AIS, foi identificado o primeiro exame que o antecedeu ou o sucedeu, com diagnóstico histopatológico de neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 ou 3, cuja paciente tinha um exame citopatológico anterior à biópsia. O mesmo foi feito para os casos de adenocarcinoma invasor
3. Localização das lâminas de citopatologia a partir da listagem dos diagnósticos histopatológicos
4. Resgate das lâminas dos exames citopatológicos a partir do arquivo do SITEC
5. Identificação dos casos com numeração aleatória
6. Revisão em microscópio de co-observação das lâminas do exame citopatológico de rastreamento, para a identificação e qualificação dos critérios morfológicos, sem conhecimento do diagnóstico citopatológico final e do diagnóstico histopatológico correspondente.

3.7. Processamento e análise dos dados

As informações coletadas na ficha de registro dos casos e aquelas transcritas para a ficha de critérios morfológicos durante a revisão microscópica dos casos foram armazenadas como arquivo eletrônico no programa Excel (Microsoft Corporation, versão 7.0, 2002 SP-2) e analisadas com o apoio dos programas *Statistical Package for Social Science (SPSS) for Windows*, versão 14.0, 2005 e do programa de domínio público Epi Info (CDC, versão 3.4, 2007).

Os resultados provenientes da análise de variáveis categóricas foram apresentados como porcentagens. A significância estatística das diferenças

observadas entre variáveis dicotômicas foi analisada pelos testes do qui-quadrado ou exato de Fisher, quando indicado.

A variável idade foi apresentada como média, acompanhada do respectivo desvio padrão (DP). A significância estatística da diferença entre os grupos foi calculada pelo teste de ANOVA. Foram calculadas as razões de chance seguidas dos respectivos intervalos com 95% de confiança (IC95%) para estimar a força de associação entre cada critério e o diagnóstico de AIS. Essas razões de chance foram aqui, por conveniência, referidas como "*odds ratio*" (OR).

Para a análise bivariada, algumas variáveis registradas inicialmente de maneira estratificada, com 3 ou 4 categorias (*fundo, celularidade, quantidade de células atípicas, espaço claro perinuclear, aumento da relação núcleo-citoplasmática, anisocariose e hiper Cromasia*), foram agrupadas em duas categorias para a mensuração da magnitude das associações entre os fatores avaliados.

Foram elaborados dois modelos de regressão logística (*Forward Stepwise Logistic Regression*) visando a identificar as variáveis associadas de maneira independente ao diagnóstico de AIS, usando como grupos de comparação adenocarcinoma invasor e neoplasia intra-epitelial graus 2 ou 3.

Nesses modelos foram incluídas as variáveis com um valor de p menor que 0,05 na análise bivariada para as quais havia plausibilidade biológica. Isso foi necessário já que algumas variáveis mensuradas na ocasião da leitura dos esfregaços citopatológicos se revelaram redundantes ou implausíveis, pois não se conhecia o diagnóstico histopatológico final.

Em toda a análise foram considerados estatisticamente significantes os valores de p menores que 0,05.

Este estudo é parte de um projeto de pesquisa aprovado pelo Comitê de Ética sob o número 1605. Foram respeitados os princípios da Declaração de Helsinque (WMA, 2004) e da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 1996) que orientam a pesquisa médica envolvendo seres humanos, incluindo estudos de material humano. Não foi formulado termo de consentimento informado porque as análises realizadas não implicaram em mudança da terapêutica e não foram realizadas coletas de material adicional. Nenhum dos pesquisadores teve contato direto com as

pacientes e foi mantido o sigilo sobre os dados de identificação das mulheres. As informações do estudo foram obtidas a partir da análise de exames citopatológicos e histopatológicos, não havendo qualquer risco para as mulheres incluídas no estudo, uma vez que toda a pesquisa foi realizada em material biológico já retirado previamente por necessidade de tratamento.

4. Resultados

Inicialmente foram selecionados 193 casos dos quais foram excluídos: 17 por não terem sido localizadas as lâminas de citologia no arquivo, um por ter sido evidenciado um carcinoma escamoso associado ao AIS no diagnóstico histopatológico de revisão, um por ter sido evidenciado um carcinoma adenoescamoso, um por duplicidade de registro da paciente e um por inadequação da lâmina para leitura microscópica por excessivo artefato de dessecamento. Com isto, houve uma perda total de 10,9% dos casos, representada por 9 carcinomas (1 carcinoma adenoescamoso e 8 adenocarcinomas endocervicais), seis AIS e seis neoplasias intra-epiteliais cervicais.

Das 172 pacientes que permaneceram no estudo, 34 apresentavam lesões mistas (AIS ou adenocarcinoma invasor associados à neoplasia intra-epitelial graus 1, 2 ou 3). Tendo em vista que a presença simultânea de lesões de natureza epitelial escamosa e glandular poderia gerar dificuldades na identificação dos critérios morfológicos presentes no exame citopatológico, estas pacientes foram excluídas da análise dos critérios morfológicos.

Considerando-se todas as perdas e exclusões, a população final estudada estava constituída por 138 pacientes, sendo 63 com diagnóstico histopatológico exclusivo de neoplasia intra-epitelial graus 2 ou 3, 26 pacientes com AIS e 49 com adenocarcinoma invasor no estudo histopatológico, conforme demonstrado na figura 1.

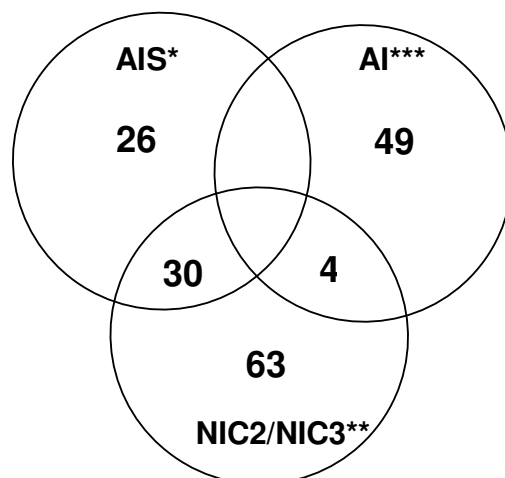


Figura 1. Composição da população estudada conforme o diagnóstico histopatológico

* AIS = adenocarcinoma *in situ*

** NIC2/NIC3 = neoplasia intra-epitelial graus 2 ou 3

*** AI = adenocarcinoma invasor

4.1. Análise descritiva

A média de idade das pacientes envolvidas no estudo foi de 43 anos. As pacientes com neoplasia intra-epitelial graus 2 ou 3 apresentaram média de 37 anos, as pacientes com AIS 41 anos e aquelas com adenocarcinoma invasor 52 anos. Na tabela 1 é demonstrada a média de idade, assim como seus valores mínimos e máximos.

Tabela 1 - Idade das pacientes

Diagnóstico histopatológico	n	Média (\pm DP*)	Valor de p
NIC2/NIC3	63	37 (\pm 12,799)	
AIS	26	41 (\pm 10,289)	< 0,001
AI	49	52 (\pm 14,259)	
TOTAL	138	43 (\pm 14,617)	

DP* = desvio padrão; NIC2/NIC3 = neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 ou 3; AIS = adenocarcinoma endocervical *in situ*; AI = adenocarcinoma endocervical invasor

Dentre as pacientes com AIS, 61,5% (16/26) apresentava idade inferior a 40 anos enquanto no grupo das pacientes com adenocarcinoma invasor apenas 16,3% (8/49) (tabela 2). A chance de ter menos de 40 anos foi 8 vezes (OR = 8,20; IC 95% 2,43-28,83; $p < 0,001$) maior quando o diagnóstico foi AIS quando comparado ao adenocarcinoma invasor. Por outro lado, a comparação entre as pacientes com AIS (61,5%) e neoplasia intra-epitelial graus 2 ou 3 (76,2%) não mostrou diferença estatisticamente significativa (OR = 0,50; IC 95% 0,17-1,49; $p = 0,161$).

Tabela 2 - Pacientes com idade inferior a 40 anos

Diagnóstico histopatológico	n	n < 40 anos
NIC2/NIC3	63	48 (76,2%)
AIS	26	16 (61,5%)
AI	49	8 (16,3%)

NIC2/NIC3 = neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 ou 3;

AIS = adenocarcinoma endocervical *in situ*;

AI = adenocarcinoma endocervical invasor

Foram analisados 54 critérios citomorfológicos, reunidos em 6 grupos: aspectos gerais do esfregaço (3), arranjo arquitetural dos grupamentos (9), características do tipo celular (8), características citoplasmáticas (10), quantidade de citoplasma (6) e características nucleares (18). A distribuição e freqüência destes critérios conforme o diagnóstico histopatológico são detalhadas no anexo 4.

4.2. Análise bivariada

a) Comparação entre adenocarcinoma *in situ* (AIS) e adenocarcinoma invasor (AI)

Na tabela 3 são apresentadas as *odds ratio* das variáveis associadas ao diagnóstico de AIS, quando comparado ao de adenocarcinoma invasor cujo valor de p foi inferior a 0,05 e aqueles com plausibilidade biológica, além de seus respectivos

intervalos de confiança de 95%. No anexo 5 são apresentadas as tabelas de análise bivariada com todos os critérios citomorfológicos.

Tabela 3 – Critérios citomorfológicos para AIS (n=26) tendo como grupo de comparação casos de AI (n=49)

Critérios citomorfológicos	OR (IC 95%)	Valor de p
Fundo (não necrótico vs. necrótico)	6,97 (1,34-48,22)	0,006
Nucléolo (ausente vs. presente)	4,75 (1,38-17,23)	0,004
Plumagem (presente vs. ausente)	3,94 (1,25-12,74)	0,007

AIS = adenocarcinoma endocervical *in situ*; AI = adenocarcinoma endocervical invasor

As variáveis *fundo* não necrótico, ausência de *nucléolo* e presença de *plumagem* apresentaram associações de magnitudes elevadas com o diagnóstico de AIS, sendo observadas ORs de 6,97; 4,75 e 3,94 respectivamente. As associações se mostraram estatisticamente significantes.

A análise da variável *célula metaplásica imatura atípica* ausente como preditora do diagnóstico de AIS é redundante, pois sua presença é implausível em lesões de natureza glandular. Porém, foi uma variável mensurada na ocasião da leitura dos esfregaços citopatológicos às cegas, sem que se conhecesse o diagnóstico histopatológico final. As demais variáveis apresentaram associações de pequena magnitude com o diagnóstico histopatológico de AIS, não havendo significância estatística.

b) Comparação entre adenocarcinoma *in situ* (AIS) e neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 ou 3 (NIC2/NIC3)

Na tabela 4 são apresentadas as *odds ratio* das variáveis, em ordem decrescente, cujo valor de *p* foi inferior a 0,05 e seus respectivos intervalos com 95% de confiança. A presença de *plumagem*, ausência de *disceratose* e ausência de *espaço claro perinuclear* apresentaram as associações de maiores magnitudes com o diagnóstico histopatológico de AIS, sendo observadas ORs de 168,29; 67,65 e 33,33

respectivamente. Foram, ainda, estatisticamente significantes as demais variáveis apresentadas na tabela 4. No anexo 6 é apresentada a tabela de análise bivariada com todos os critérios citomorfológicos associados ao diagnóstico de AIS, quando comparado às neoplasias intra-epiteliais cervicais graus 2 ou 3. As demais *odds ratio* estão disponíveis no anexo 6.

Tabela 4 – Critérios citomorfológicos para AIS (n=26) tendo como grupo de comparação casos de NIC2/NIC3 (n=63)

Critérios citomorfológicos	OR (IC 95%)	Valor de p
Plumagem (presente vs. ausente)	168,29 (18,24-3934,05)	<0,001
Disceratose (ausente vs. presente)	67,65 (8,51-1445,81)	<0,001
Espaço claro perinuclear (ausente vs. presente)	33,33 (4,31-701,64)	<0,001
Volume do núcleo das células endocervicais > 1,5 vez (presente vs. ausente)	31,67 (7,98-137,82)	<0,001
Células glandulares atípicas com escasso citoplasma (presente vs. ausente)	27,86 (6,66-128,80)	<0,001
Célula colunar atípica (presente vs. ausente)	26,67 (7,01-109,97)	<0,001
Papilas (presente vs. ausente)	26,14 (4,67-192,32)	<0,001
Células glandulares atípicas ausentes ou com quantidade normal de citoplasma (presente vs. ausente)	22,92 (6,23-90,66)	<0,001
Rosetas (presente vs. ausente)	21,71 (5,93-85,27)	<0,001
Paliçada pseudoestratificada (presente vs. ausente)	21,71 (5,93-85,27)	<0,001
Retalhos em monocamadas (presente vs. ausente)	21,71 (5,93-85,27)	<0,001
Citoplasma homogêneo (ausente vs. presente)	12,83 (3,88-44,56)	<0,001
Membrana nuclear irregular (ausente vs. presente)	9,15 (1,48-72,00)	0,006
Citoplasma fino e translúcido (presente vs. ausente)	8,40 (2,51-29,87)	<0,001
Citoplasma vacuolado (presente vs. ausente)	7,97 (2,55-25,87)	<0,001
Célula cuboidal atípica (presente vs. ausente)	7,88 (2,55-25,17)	<0,001
Citoplasma moderadamente denso (ausente vs. presente)	7,83 (2,19-30,64)	<0,001
Células atípicas em grupamentos (presente vs. ausente)	7,43 (1,84-34,72)	<0,001
Células atípicas isoladas (ausente vs. presente)	7,26 (1,12-59,11)	0,010

AIS = adenocarcinoma *in situ*; NIC2/NIC3 = neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 ou 3

Continuação da tabela 4 – Critérios citomorfológicos para AIS (n=26) tendo como grupo de comparação casos de NIC2/NIC3 (n=63)

Critérios citomorfológicos	OR (IC 95%)	Valor de p
Limites citoplasmáticos indefinidos (presente vs. ausente)	6,82 (2,06-24,03)	<0,001
Limites citoplasmáticos definidos (ausente vs. presente)	6,21 (1,97-20,45)	<0,001
Volume do núcleo das células endocervicais > 2 vezes (presente vs. ausente)	5,43 (1,24-25,33)	0,012
Binucleação (ausente vs. presente)	5,12 (1,74-15,44)	<0,001
Mitoses (presente vs. ausente)	4,76 (0,88-28,05)	0,029
Anisocariose (discreta vs. moderada/acentuada)	4,08 (1,39-12,18)	0,003
Sobreposição celular (presente vs. ausente)	4,07 (1,24-14,17)	0,008
Aumento da RNC (leve/moderada vs. acentuada)	2,54 (0,91-7,21)	0,047
Volume do núcleo das células maduras > 3 vezes	Não definido	0,002

AIS = adenocarcinoma *in situ*; NIC2/NIC3 = neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 ou 3

4.3. Análise multivariada

A construção de modelos de regressão multivariada, a fim de estudar o efeito ajustado das covariáveis no diagnóstico de AIS, incluiu aqueles fatores que na análise individual mostraram valores de p menores que 0,05 em que houve plausibilidade biológica.

a) Comparação entre adenocarcinoma *in situ* (AIS) e adenocarcinoma invasor (AI)

O primeiro modelo comparou casos de AIS a casos de adenocarcinoma invasor. Os resultados indicaram (tabela 5) que a presença de *fundo* não necrótico aumentou a probabilidade do diagnóstico de AIS em 6 vezes (OR = 6,3; IC 95% 1,3-30,3; $p = 0,024$) enquanto a ausência de nucléolo aumenta essa chance em 4 vezes (OR = 4,3; IC 95% 1,3-13,9; $p = 0,014$).

Tabela 5 - Análise multivariada dos fatores relacionados ao diagnóstico

Critérios citomorfológicos	OR (IC 95%)	Valor de p
Comparação entre AIS (n=26) e AI (n=49)		
Fundo (não necrótico vs. necrótico)	6,3 (1,3 - 30,3)	0,024
Nucléolo (ausente vs. presente)	4,3 (1,3 - 13,9)	0,014
Comparação entre AIS (n=26) e NIC2/NIC3 (n=63)		
Plumagem (presente vs. ausente)	71,4 (4,0-1266,2)	0,004
Disceratose (ausente vs presente)	12,3 (1,2-130,3)	0,037
Aumento da RNC* (ausente/leve/moderado vs. acentuado)	12,0 (1,2-124,7)	0,037
Espaço claro perinuclear (ausente vs. presente)	10,3 (0,9-114,6)	0,058

*RNC = relação núcleo-citoplasmática

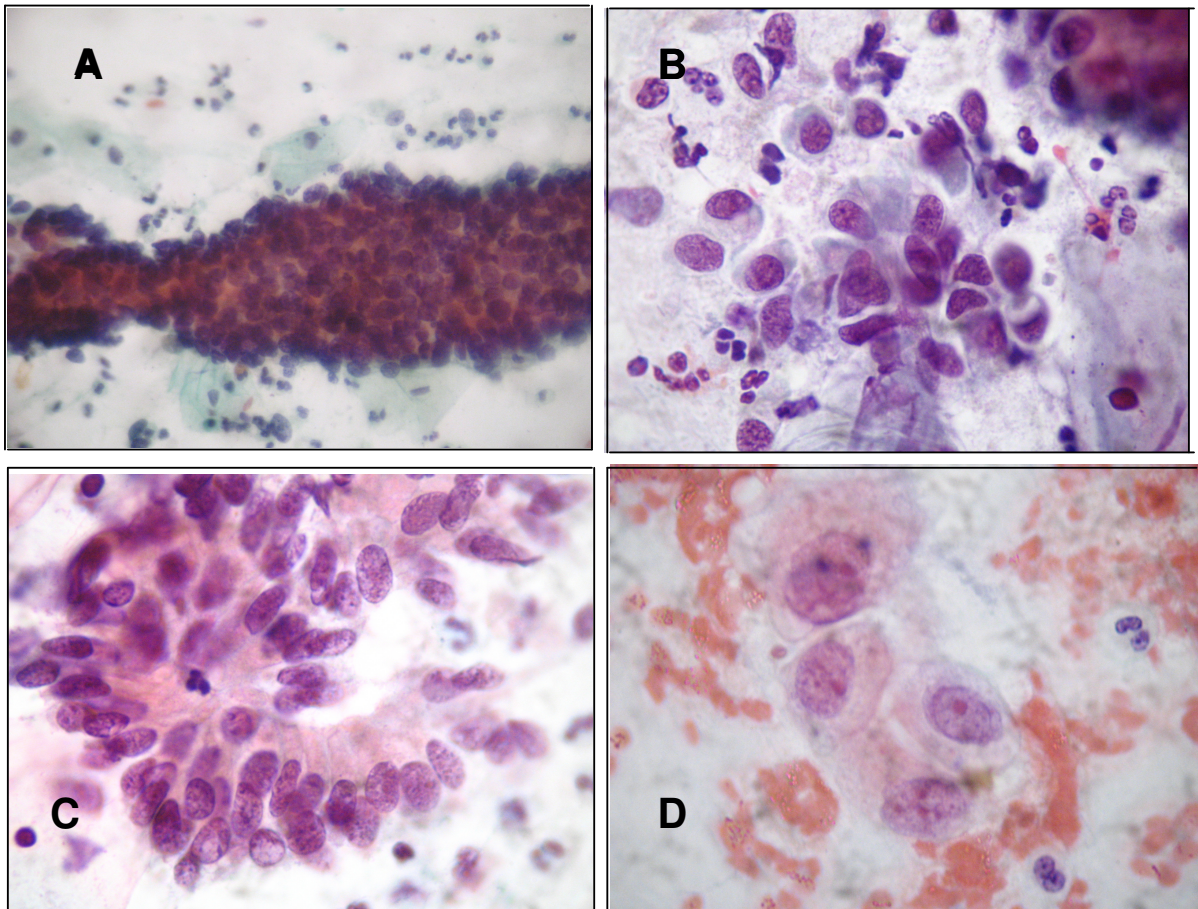


Figura 2. A) AIS: fundo limpo (Papanicolaou 200x); B) Adenocarcinoma invasor: fundo necrótico (Papanicolaou 400x); C) AIS: ausência de nucléolos (Papanicolaou 400x); D) Adenocarcinoma invasor: nucléolos volumosos e eosinofílicos (Papanicolaou 400x).

b) Comparação entre adenocarcinoma *in situ* (AIS) e neoplasia intra-epitelial graus 2 ou 3 (NIC 2/NIC3)

Um segundo modelo comparou AIS a neoplasias intra-epiteliais cervicais graus 2 ou 3. Os resultados indicaram (tabela 5) que a presença de *plumagem* aumentou a probabilidade de diagnóstico de AIS em 70 vezes (OR = 71,4; IC 95% 4,0-1266,2; $p = 0,004$), enquanto a ausência de *disqueratose* e o *aumento da RNC* apenas leve a moderado ou mesmo ausente, aumentaram essa chance em 12 vezes (OR = 12,3 e 12,0; IC 95% 1,2-130,3 e 1,2-124,7; $p = 0,037$). A ausência de *espaço claro perinuclear*, embora não tenha atingido significância estatística, foi retida pelo modelo e pode ser considerada como uma significância limítrofe ($p = 0,058$).

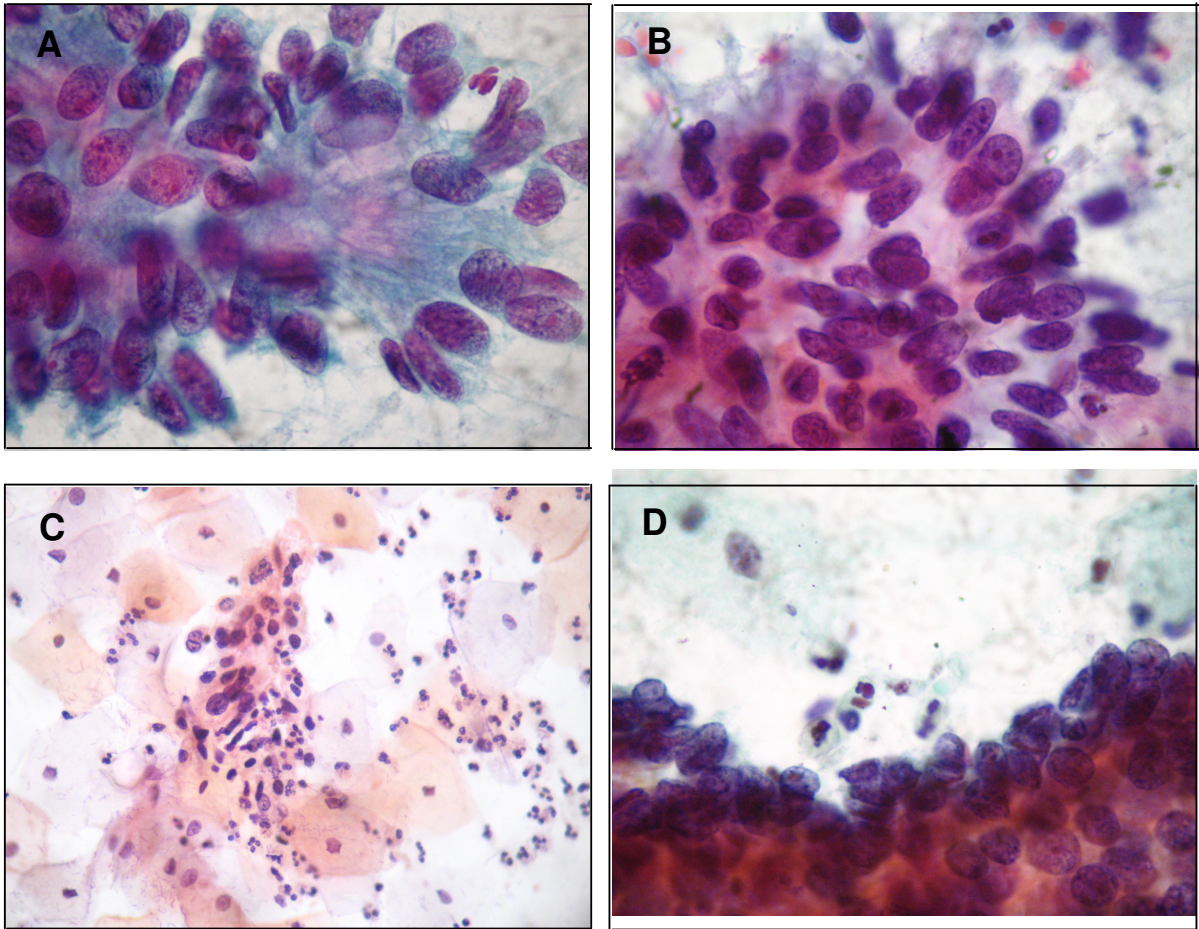


Figura 3. A) AIS: plumagem (Papanicolaou 400x); B) AIS: plumagem (Papanicolaou 400x); C) NIC2/NIC3: disceratose (Papanicolaou 200x); D) AIS: discreto aumento da RNC (Papanicolaou 400x).

5. Discussão

O presente estudo analisou uma série de casos de AIS comparando-os com casos de neoplasias intra-epiteliais cervicais graus 2 e 3 e adenocarcinomas invasores, tendo por objetivo identificar critérios citomorfológicos presentes no exame citopatológico que fossem preditivos de AIS da endocérvice.

Os trabalhos publicados demonstram que o AIS é diagnosticado em populações 10 a 20 anos mais jovens que aquelas com adenocarcinoma invasor, com uma idade média de cerca de 35 anos. No presente estudo a média de idade das pacientes com AIS foi 41 anos e observou-se que entre as mulheres com AIS predominaram aquelas com menos de 40 anos de idade. A probabilidade de ter menos de 40 anos foi 8 vezes mais frequente entre as mulheres com AIS. Estes dados corroboram as informações encontradas em trabalhos publicados que apontam maiores incidências em mulheres mais jovens (PARAZZINI; VECCHIA, 1990; BOSE *et al.*, 1994; WADDELL, 2004; BULK *et al.*, 2004). Além disso, esta observação reforça a hipótese que situa o AIS como uma lesão precursora do adenocarcinoma invasor no espectro das lesões glandulares endocervicais (ZAINO, 2002).

No grupo de pacientes com neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 ou 3 a média de idade (37 anos) foi inferior a do grupo com AIS (41 anos). Comparando as pacientes com AIS àquelas com neoplasia intra-epitelial graus 2 ou 3 não houve diferença estatisticamente significativa no percentual de pacientes com menos de 40

anos de idade ($p = 0,161$). Em seu estudo, Mitchell *et al.* (2004) observou que a média de idade das pacientes com neoplasia intra-epitelial graus 2 ou 3 foi 33,2 anos e nas mulheres com AIS 36,8 anos, valores inferiores aos descritos no atual estudo.

A idade das pacientes tem sido estreitamente associada a um aumento do risco de doença intra-epitelial ou invasora. Duska *et al.* (1998) foram os primeiros a mostrar que a mulher em pós-menopausa tem uma probabilidade menor de ter neoplasia intra-epitelial graus 2 ou 3 (7,4%) em comparação com a mulher em pré-menopausa (30,4%). De forma semelhante, DeSimone *et al.* (2006), analisando a frequência de lesões em exames citológicos com células glandulares atípicas, verificaram que mulheres com menos de 40 anos tinham maior probabilidade de doença pré-invasora, que as mulheres mais velhas, com mais de 40 anos, com maior risco de carcinoma endometrial ou endocervical.

A ausência de necrose no *fundo* do esfregaço apresentou forte associação com o diagnóstico de AIS aumentando a probabilidade deste diagnóstico em mais de 6 vezes. Nos esfregaços de pacientes com AIS, 92,3% (24/26) exibiram *fundo* não necrótico (limpo ou hemorrágico) enquanto apenas 7,7% (2/26) evidenciaram restos necróticos, uma característica habitualmente associada à lesão invasora. Ainda na comparação entre o AIS e o adenocarcinoma invasor, um segundo critério destacado na análise multivariada como preditor de AIS foi a ausência do *nucléolo* que aumenta em mais de 4 vezes a chance do diagnóstico de AIS quando comparado ao adenocarcinoma invasor. Em 80,8% (21/26) dos esfregaços de pacientes com AIS verificou-se ausência do *nucléolo* nas células neoplásicas, enquanto nos esfregaços de adenocarcinoma invasor este estava presente em 53,1% (26/49) das vezes.

Alguns autores, analisando critérios associados ao diagnóstico de AIS, encontraram resultados indicando que os dois critérios destacados na análise multivariada do presente estudo, quando comparando o AIS ao adenocarcinoma invasor, também se revelaram importantes como preditores de AIS. Ruba *et al.* (2004) encontraram resultados semelhantes analisando a frequência dos critérios citológicos em uma série de 36 esfregaços cujos resultados foram verdadeiro-positivos em pacientes com diagnóstico histopatológico de AIS. Verificaram ausência de necrose no *fundo* do esfregaço em 91,6% (33/36) dos casos e a presença de diátese tumoral leve ou moderada em 8,3%. Em relação aos *nucléolos*, o mesmo autor observou que

estavam ausentes em 58,3% (21/36) dos casos, e presentes, porém, pequenos e discretos, em mais 25% (9/36). Nos 6 casos restantes (16,7%), os *nucléolos* estavam presentes e proeminentes. No entanto, macronúcléolos não foram observados em nenhum dos 36 casos de AIS histologicamente comprovados. Em sua série de 10 casos de citologia em meio líquido, com diagnóstico histopatológico de AIS, a presença de diátese tipo tumoral foi observada por Ozkan *et al.* (2004) em 20% (2/10) deles, e *nucléolos* estavam presentes em todos os casos, porém, eram pequenos.

Apesar da forte associação da ausência de necrose no *fundo* com o diagnóstico de AIS, o inverso não é verdadeiro. Ou seja, a lesão invasora nem sempre exhibe material necrótico no *fundo* do esfregaço como seria esperado. Às vezes, as características morfológicas típicas da lesão invasora não estão presentes, havendo, em alguns casos, uma significativa superposição morfológica entre AIS e adenocarcinoma endocervical invasor trazendo dificuldades técnicas na diferenciação. Frequentemente, o *fundo* necrótico está ausente, em especial nas lesões invasoras iniciais, e não pode ser invocado para confirmar a invasão (CIBAS; DUCATMAN, 2003). No material em estudo, o *fundo* necrótico foi observado em 36,7% (18/49) dos casos de adenocarcinoma invasor, enquanto 18,4% (9/49) apresentaram *fundo* limpo. A detecção em fase inicial pode ter contribuído para isso, como apontam alguns autores, indicando que os casos detectados por rastreamento encontram-se em fases mais precoces que os casos detectados na rotina diagnóstica (SMITH *et al.*, 2000; SMITH; PADILLA, 2002; KINNEY *et al.*, 2003).

No segundo modelo da análise multivariada, que utilizou neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 ou 3 como grupo de comparação, revelaram-se critérios preditores de AIS a *plumagem*, a *disceratose*, o *aumento da RNC* e o *espaço claro perinuclear*. Os resultados indicaram que a presença de *plumagem* aumentou a probabilidade de diagnóstico de AIS em mais que 70 vezes demonstrando a mais forte associação ao diagnóstico de AIS entre todos os critérios analisados.

Na avaliação dos critérios citomorfológicos referentes ao arranjo arquitetural dos grupamentos, a presença de *plumagem* representa um aspecto peculiar. São assim chamados os grupamentos de células colunares pseudo-estratificadas, com seu maior eixo orientado perpendicularmente ao redor da periferia do grupamento, de tal forma que os núcleos e pequenas franjas de citoplasma se projetam radialmente na

periferia dos grupamentos lembrando o aspecto de penas de coçar (LEE; ROSE, 2006). Estas características estiveram sempre predominantes nas lesões glandulares e estão intrinsecamente associadas à arquitetura histológica das lesões glandulares, refletindo, no material citológico, características próprias do aspecto tecidual. Nesse estudo, a *plumagem* estava presente em 73,1% (19/26) dos casos de AIS, enquanto que em apenas 1 (1,6%) dos 63 casos de neoplasia intra-epitelial escamosa graus 2 ou 3.

Ruba *et al.* (2004) observaram que grupamentos com *plumagem* e tiras de células em paliçada com pseudo-estratificação foram os indicadores citomorfológicos mais freqüentes para a diferenciação glandular de forma semelhante ao aqui demonstrado. Por sua vez, nos resultados de Rabelo-Santos *et al.* (2008) a *plumagem* também foi identificada como o critério mais fortemente associado ao diagnóstico histopatológico de neoplasia glandular. Além disso, este critério mostrou-se altamente efetivo na distinção entre neoplasia glandular e escamosa e, ainda, entre neoplasia glandular e diagnósticos não-neoplásicos.

Outros critérios também destacados na análise multivariada como preditores de AIS, ainda na comparação entre o AIS e as neoplasias intra-epiteliais cervicais graus 2 ou 3, foram a ausência de *disceratose* (OR = 12,3; IC 95% 1,2-130,3; $p = 0,037$) e o *aumento da RNC* (relação núcleo-citoplasmática) quando leve a moderadamente aumentada (OR = 12,0; IC 95% 1,2-124,7; $p = 0,037$). Os dois critérios tiveram comportamento semelhante na análise, aumentando em 12 vezes a chance do diagnóstico de AIS, quando comparado à neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 ou 3.

A *disceratose* é definida como uma ceratinização anormal prematura que ocorre em células individuais ou em grupos de células, tornando o citoplasma densamente eosinofílico. É encontrada em células epiteliais escamosas superficiais pequenas e sua presença é característica de lesões de natureza epitelial escamosa (PINTO; COLLAÇO, 2001).

Tendo em vista que foram excluídos da análise dos critérios citomorfológicos os casos de AIS mistos, ou seja, associados a lesões escamosas, a *disceratose* adquiriu maior magnitude sendo identificado em 73,0% (46/63) dos casos estudados de neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 ou 3 e em apenas 3,8% (1/26) e 12,2% (6/49) dos casos de AIS e adenocarcinoma invasor, respectivamente. A ausência de

disceratose é, portanto, um forte indicador de AIS isolado, não coexistente com neoplasia intra-epitelial cervical. Entretanto, a presença de *disceratose* não deve afastar a possibilidade diagnóstica de AIS, pois deve ser considerado que cerca de 50% dos casos de AIS coexistem com lesões escamosas. Na prática diagnóstica cotidiana a utilização deste critério deve sempre estar associada a outros aspectos.

O *aumento da RNC* (relação núcleo-citoplasmática) quando apenas leve a moderado demonstrou associação de grande magnitude ao AIS quando comparado à neoplasia intra-epitelial graus 2 ou 3. Isso significa que núcleos com volumes próximos ao normal ou apenas moderadamente aumentados elevam a chance do diagnóstico de AIS quando comparado à neoplasia intra-epitelial graus 2 ou 3. Isto talvez explique o sério, e não incomum problema dos resultados falso-negativos, quando células atípicas de AIS são confundidas com células benignas (CIBAS; DUCATMAN, 2003). Nestas lesões, 57,6% (15/26) dos casos apresentaram um leve a moderado *aumento da RNC*, enquanto nas neoplasias intra-epiteliais escamosas um acentuado *aumento da RNC* foi observado em 65,1% (41/63) dos casos.

Os resultados são semelhantes aos encontrados por Ruba *et al.* (2004) que observaram leve a moderado *aumento da RNC* em 77,7% (28/36) dos casos de uma série de 36 esfregaços de AIS confirmados pelo exame histopatológico. Isso leva a crer que a presença deste aspecto deve ser fortemente considerada na distinção entre os diagnósticos citológicos de AIS e lesões intra-epiteliais cervicais de alto grau.

A ausência de *espaço claro perinuclear*, embora não tenha atingido significância estatística, foi retida pelo modelo e pode ser considerada como uma significância limítrofe ($p = 0,058$).

Tem sido apontada, por alguns autores, uma diminuição nos erros diagnósticos das lesões glandulares através do exame citopatológico nos últimos anos. Isso sugere uma maior habilidade para diagnosticar AIS tendo em vista ser uma opção diagnóstica relativamente nova, introduzida nos últimos 10 a 15 anos (SCHOOLLAND *et al.*, 2002). Somente a partir de 2001 os critérios citomorfológicos para AIS têm sido mais intensivamente explorados e publicados na literatura médica. Outros estudos relatam declínio na incidência do adenocarcinoma endocervical durante a última década nos países europeus e apontam a possibilidade de ser o resultado do efeito protetor do rastreamento citológico (MITCHELL *et al.*, 2003; BRAY *et al.*, 2005).

Ruba *et al.* (2004) observaram diminuição da quantidade de erros nos últimos 3 anos do seu estudo e mostraram potencial de diminuição ainda maior através da intensificação de iniciativas educacionais. Zardo *et al.* (2008) mostram, em uma análise temporal de diagnósticos citopatológicos de AIS, que os casos cuja origem glandular é confirmada pelo exame histopatológico, predominam na segunda metade do período estudado. Os erros diagnósticos, que apontavam lesões escamosas no exame citopatológico, surgiram mais freqüentemente no início do período. Isso sugere uma melhor capacitação para o diagnóstico de AIS.

Este estudo tem limitações por ter incluído apenas 26 casos de AIS o que possibilita viés em seus resultados, porém, a exclusão de 30 casos de AIS associados a neoplasias intra-epiteliais escamosas visou minimizar a superposição dos critérios citomorfológicos dos dois tipos de lesão durante a análise microscópica e, com isso, fortalecer o estudo. Este tamanho de amostra fez com que alguns intervalos de confiança fossem maiores que o ideal desejado. Por outro lado, tendo em vista a baixa prevalência do AIS, o estudo poderá contribuir para aumentar a casuística publicada.

6. Conclusão

Como resultado da análise multivariada, nos dois modelos de regressão logística elaborados para identificar as variáveis associadas de maneira independente ao diagnóstico de AIS, 6 critérios citomorfológicos revelaram-se preditores de AIS. No modelo que utilizou adenocarcinoma invasor como grupo de comparação, os critérios foram: *fundo* e *nucléolo*. Já, no modelo que comparou AIS com neoplasia intra-epitelial grau 2 ou 3, os critérios foram: *plumagem*, *disceratose*, *aumento da RNC* e *espaço claro perinuclear*. A descrição e análise dos critérios citomorfológicos poderá contribuir para o aprimoramento do diagnóstico citopatológico de AIS, somando-se a casuísticas, em geral pouco numerosas, existentes na literatura científica.

As informações evidenciaram que além dos aspectos microscópicos encontrados no material citológico, informações como a idade da paciente, aliadas a outros aspectos clínicos, podem contribuir para um diagnóstico mais acurado. Através das experiências publicadas será possível colocar a questão do diagnóstico deste tipo de lesão em evidência, ampliando o conhecimento e chamando a atenção para esta possibilidade.

Por fim, o incremento da eficiência do diagnóstico precoce de uma lesão cuja incidência tem aumentado nas últimas décadas, independentemente dos programas de rastreamento, reforça o papel do exame citopatológico na prevenção e controle deste câncer e, conseqüentemente, deverá beneficiar as mulheres.

7. Referências bibliográficas

AYER, B.; PACEY, F.; GREENBERG, M.; BOUSFIELD, L. The cytologic diagnosis of adenocarcinoma *in situ* of the cervix uteri and related lesions. I. Adenocarcinoma *in situ*. **Acta Cytol**, 31:397-411, 1987.

BOSE, S.; KANNAN, V.; KLINE, T. S. Abnormal endocervical cells. Really abnormal? Really endocervical? **Am J Clin Pathol**, 101:708-13, 1994.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde – Resolução n° 196/96 sobre pesquisa envolvendo seres humanos. **Bioética**, 4(2): 15 – 25, 1996 (suplemento).

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Assistência à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância (Conprev). **Falando sobre câncer do colo do útero**. 59p. Rio de Janeiro: MS/INCA, 2002. Disponível em http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/inca/falando_cancer_colo_uterio.pdf. Acessado em 23/06/2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. **Nomenclatura brasileira para laudos citopatológicos cervicais e condutas clínicas preconizadas**. Rio de Janeiro: INCA, 2003. Disponível em http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/Nomenclatura_Internet.pdf. Acessado em 23/06/2008

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. **Nomenclatura brasileira para laudos cervicais e condutas preconizadas: recomendações para profissionais de saúde**. 2. ed. – Rio de Janeiro: INCA, 2006. Disponível em <http://www.inca.gov.br/inca/Arquivos/publicacoes/nomenclaturas.pdf>. Acessado em 24/05/2008.

BRAY, F.; CARSTENSEN, B.; MOLLER, H.; ZAPPA, M.; ZAKELJ, M. P.; LAWRENCE, G.; HAKAMA, M.; WEDERPASS, E. Incidence trends of adenocarcinoma of the cervix in 13 European countries. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, 14(9):2191-9, 2005.

BULK, S.; VISSER, O.; ROZENDAAL, L.; VERHEIJEN, R. H.; MEIJER, C. J. Cervical cancer in the Netherlands 1989-1998: Decrease of squamous cell carcinoma in older women, increase of adenocarcinoma in younger women. **Int J Cancer**, 113(6):1005-9, 2004.

CHIN, A. B.; BRISTOW, R. E.; KORST, L. M.; WALTS, A.; LAGASSE, L. D. The significance of atypical glandular cells on routine cervical cytologic testing in a community based population. **Am J Obstet Gynecol**, 182:1278-82, 2000.

CIBAS, E. S.; DUCATMAN, B. S. Cervical and vaginal cytology. In: **Cytology. Diagnostic principles and clinical correlates**. London. Saunders. 2nd ed, pp 1-59, 2003.

CURADO, M. P.; EDWARDS, B.; SHIN, H. R.; STORM, H.; FERLAY, J.; HEANUE, M.; BOYLE, P. eds (2007) **Cancer Incidence in Five Continents, Vol. IX** IARC Scientific Publications No. 160, Lyon, IARC. Acessado em 17/07/2008. Disponível em: <http://www-dep.iarc.fr/dephome.htm>

DeMAY, R.M. The Pap smear. In: DeMAY, R.M. **The art and science of cytopathology**. Chicago: IL: ASCP Press; 1996. p.39-205.

DeSIMONE, C. P.; DAY, M. E.; TOVAR, M. M.; DIETRICH III, C. S.; EASTHAM, M. L.; MODESITT, S.C. Rate of pathology from atypical glandular cell Pap tests classified by the Bethesda 2001 nomenclature. **Obstet Gynecol**, 107:1285–91, 2006.

DUSKA, L. R.; FLYNN, C. F.; CHEN, A.; WHALL-STROJWAS, D.; GOODMAN, A. Clinical evaluation of atypical glandular cells of undetermined significance on cervical cytology. **Obstet Gynecol**, 91:278-82, 1998.

FRIEDEL, G. H.; McKAY, D. G. Adenocarcinoma *in situ* of the endocervix . **Cancer**, 6:887-897, 1953.

GELDENHUYS, L.; MICHELLE, L. M. Sensitivity and specificity of the Pap smear for glandular lesions of the cervix and endometrium. **Acta Cytol**, 51:47-50, 2007.

GOLDSTEIN, N. S.; AHMAD, E.; HUSSAIN, M.; HANKIN, R. C.; PEREZ-REYES, N. Endocervical glandular atypia: does a preneoplastic lesion of adenocarcinoma *in situ* exist? **Am J Clin Pathol**, 110:200-9, 1998.

JAWORSKI, R. C.; PACEY, N. F.; GREENBERG, M. L.; OSBORN, R. A. The histologic diagnosis of adenocarcinoma *in situ* and related lesions of the cervix uteri. Adenocarcinoma *in situ*. **Cancer**, 61:1171-81, 1988.

KINNEY, W.; SAWAYA GF, SUNG H, KEARNEY KA, MILLER M, HIATT RA: Stage at diagnosis and mortality in patients with adenocarcinoma and adenosquamous

carcinoma of the uterine cervix diagnosed as a consequence of cytologic screening. **Acta Cytol**, 47:167-171, 2003.

KRANE, J. F.; GRANTER, S. R.; TRASK, C.E.; HOGAN, C. L.; LEE, K. R. Papanicolaou smear sensitivity for the detection of adenocarcinoma of the cervix. A study of 49 cases. **Cancer** (Cancer Cytopathology), 93:8-15, 2001.

KRANE, J. F.; LEE, K. R.; SUN, D.; YUAN, L.; CRUM, C. P. Atypical glandular cells of undetermined significance. Outcome predictions based on human papillomavirus testing. **Am J Clin Pathol**, 121:87-92, 2004.

KURMAN, R. J.; SOLOMON, D. **The Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytologic diagnosis**. 1st. ed. New York: Springer-Verlag, 72-4p, 1994.

LEE, K. R.; DARRAGH, T. M.; JOSTE, N. E.; KRANE, J. F.; SHERMAN, M. E.; HURLEY, L. B.; ALLRED, E. M.; MANOS, M. M. Atypical glandular cells of undetermined significance (AGUS). Interobserver reproducibility in cervical smears and corresponding Thin-Layer preparations. **Am J Clin Pathol**, 117:96-102, 2002.

LEE, K. R.; MINTER, L. J.; GRANTER, S. R. Papanicolaou smear sensitivity for adenocarcinoma in situ of the cervix. A study of 34 cases. **Am J Clin Pathol**, 107:30-35, 1997.

LEE, K. R.; ROSE, P. G., Glandular neoplasia of the cervix. In: CRUM, C.; LEE, K. R. **Diagnostic gynecologic and obstetric pathology**. 4ed. Elsevier-Saunders, 355-409, 2006.

MITCHELL, H.; HOCKING, J.; SAVILLE, M.: Cervical cytology screening history of women diagnosed with adenocarcinoma in situ of the cervix. A case-control study. **Acta Cytol**, 48:595-600, 2004.

NATIONAL CANCER INSTITUTE. The 1988 Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses. Bethesda, Maryland, USA: NCI, 1988. **J Reprod Med**, 34:779-85, 1989.

OZKAN, F.; RAMZY, I.; MODY, D. R. Glandular lesions of the cervix on Thin-layer Pap tests. Validity of cytologic criteria used in identifying significant lesions. **Acta Cytol**, 48:372-79, 2004.

PACEY, N. F.; NG A. B. Glandular neoplasms of the uterine cervix. In: BIBBO, M., editor. **Comprehensive cytopathology** (2nd edition). Philadelphia: WB Saunders, 231-250, 1997.

PARAZZINI, F.; VECCHIA, C. L. Epidemiology of adenocarcinoma of the cervix. **Gynecol Oncol**, 39:40-6, 1990.

PINTO, A. P.; COLLAÇO, L. M. Revisão das alterações citomorfológicas da infecção do vírus do papiloma humano (HPV) em citologia cervicovaginal. **Jornal Brasileiro de Patologia**, 37(1):57-61, 2001.

RABELO-SANTOS, S. H.; DERCHAIN, S. F. M.; AMARAL WESTIN, M. C.; ANGELO-ANDRADE, L. A. L.; SARIAN, L. O. Z.; OLIVEIRA, E. R. Z. M.; MORAIS, S. S.; ZEFERINO, L. C. Endocervical glandular cell abnormalities in conventional cervical smears: evaluation of the performance of cytomorphological criteria and HPV testing in predicting neoplasia. **Cytopathology**, 19(1):34-43, 2008.

RENSHAW, A. A.; MODY, D. R.; LOZANO, R. L.; VOLK, E. E.; WALSH, M. K.; DAVEY, D. D.; BIRDSONG, G. G. Detection of adenocarcinoma in situ of the cervix in Papanicolaou tests. Comparison of diagnostic accuracy with other high-grade lesions. **Arch Pathol Lab Med**, 128:153-7, 2004.

RIES, L.A.G.; MELBERT, D.; KRAPCHO, M.; STINCHCOMB, D.G.; HOWLADER, N.; HORNER, M.J.; MARIOTTO, A.; MILLER, B.A.; FEUER, E.J.; ALTEKRUSE, S.F.;

LEWIS, D.R.; CLEGG, L.; EISNER, M.P.; REICHMAN, M.; EDWARDS, B.K. (eds). **SEER Cancer Statistics Review**, 1975-2005, National Cancer Institute. Bethesda, MD, http://seer.cancer.gov/csr/1975_2005/, based on November 2007 SEER data submission, posted to the SEER web site, 2008.

RONNETT, B. M.; MANOS, M. M.; RANSLEY, J. E.; FETTERMAN, B. J.; KINNEY, W. K.; HURLEY, L. B.; NGAI, J. S.; KURMAN, R. J.; SHERMAN, M. E. Atypical glandular cells of undetermined significance (AGUS): cytopathologic features, histopathologic results, and human papillomavirus DNA detection. **Hum Pathol**, 30:816-25, 1999.

RUBA, S.; SCHOOLLAND, M.; ALLPRESS, S.; STERRETT, G. Adenocarcinoma in situ of the uterine cervix. Screening and diagnostic errors in Papanicolaou smears. **Cancer** (Cancer Cytopathol), 102:280–7, 2004.

SCHOOLLAND, M.; SEGAL, A; ALLPRESS, S.; MIRANDA, A.; FROST, F. A.; STERRETT, G. F. Adenocarcinoma in Situ of the Cervix. Sensitivity of Detection by Cervical Smear. **Cancer** (Cancer Cytopathol), 96 (6):330-37, 2002.

SIMSIR, A.; HWANG, S.; CANGIARELLA, J.; ELGERT, P.; LEVINE, P.; SHEFFIELD, M. V.; ROBERSON, J.; TALLEY, L.; CHHIENG, D. C. Glandular cell atypia on Papanicolaou smears. Interobserver variability in the diagnosis and prediction of the cell of origin. **Cancer** (Cancer Cytopathol), 99:323-30, 2003.

SMITH, H. O.; TIFFANY, M. F.; QUALLS, C. R.; KEY, C. R. The rising incidence of adenocarcinoma relative to squamous cell carcinoma of the uterine cervix in the United States — a 24-year population-based study. **Gynecol Oncol**, 78:97-105, 2000.

SMITH HO, PADILLA LA. Adenocarcinoma in situ of the cervix: sensitivity of detection by cervical smear: will cytologic screening for adenocarcinoma in situ reduce incidence rates for adenocarcinoma? **Cancer**. 96:319–322, 2002.

SOLOMON, D.; DAVEY, D.; KURMAN, R.; MORIARTY, A.; O'CONNOR, D.; PREY, M.; RAAB, S.; SHERMAN, M.; WILBUR, D.; WRIGHT, T.; YOUNG, N. The 2001 Bethesda system. Terminology for reporting results of cervical cytology. **Jama**, 287:2114-19, 2002.

SOLOMON, D.; NAYAR, R. **The Bethesda System for reporting cervical cytology**. 2nd ed. New York: Springer-Verlag, 191 p., 2004.

TAVASSOLI, F.A.; DEVILEE, P.: Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs. **World Health Organization Classification of Tumours**. 1st ed. IARC Press, Lyon, 2003.

WADDELL, C. Glandular prediction: the pride and the prejudice. **Cytopathology**, 15: 177-80, 2004.

WESTIN, M.; DERCHAIN, S.; RABELO-SANTOS, S.; ANGELO-ANDRADE, L.; SARIAN, L.; OLIVEIRA, E.; ZEFERINO, L. Atypical glandular cells and adenocarcinoma *in situ* according to the Bethesda 2001 classification: Cytohistological correlation and clinical implications. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol**, 139(1):79-85, 2007.

WMA, WORLD MEDICAL ASSOCIATION. **Declaration of Helsinki** (1964), 2004. Acesso em: 13 dez. 2004. Disponível em: <http://www.wma.net/e/policy/pdf/17c.pdf>

ZAINO, R. J. Symposium Part I: Adenocarcinoma *in situ*, glandular dysplasia, and early invasive adenocarcinoma of the uterine cervix. **Int J Gynecol Pathol**, 21(4):314-26, 2002.

ZARDO, L.M.G.; THULER, L.C.S.; ZEFERINO, L.C.; HORTA, N.M.S.R.; FONSECA, R.C.S.P. Performance of cytological examination for the diagnosis of endocervical adenocarcinoma in situ: cytologic-histologic correlation in 60 cases. **Acta Cytol**, Aceito para publicação em 16/06/2008.

Anexo 1

Quadro de critérios citomorfológicos

VARIÁVEL	DEFINIÇÃO	CATEGORIZAÇÃO
Quanto à qualidade da amostra:		
Fundo	Avaliação geral do esfregaço quanto ao aspecto do fundo	Limpo: fundo claro e translúcido com raras hemácias Hemorrágico: presença de hemácias em grande quantidade Necrótico: presença de material necrótico
Celularidade	Avaliação geral do esfregaço quanto à quantidade de células presentes	Insuficiente: raras células presentes na lâmina (≤ 10%) Discreta: poucas células presentes na lâmina (10 a 25%) Moderada: células presentes em vários campos da lâmina (25 a 50%) Grande: células presentes recobrimdo grande parte da lâmina (> 50%)
Quantidade de células atípicas	Avaliação geral do esfregaço quanto à quantidade de células atípicas presentes	Ausência: sem células atípicas Discreta: células atípicas presentes, mas difíceis de serem encontradas Moderada: células atípicas em vários campos Grande: células atípicas facilmente encontradas
Quanto ao arranjo arquitetural dos grupamentos:		
Células atípicas em grupamentos	Células dispostas predominantemente em grupamentos	Presente ou Ausente
Células atípicas isoladas	Discariose em células dispostas isoladamente em predomínio	Presente ou Ausente
Rosetas	Discariose em células dispostas em arranjo glandular (acinar)	Presente ou Ausente
Papilas	Discariose em células dispostas em arranjo papilar	Presente ou Ausente
Sincícios	Discariose em células dispostas em grupamentos sinciciais	Presente ou Ausente

Plumagem	Discariose em células dispostas como “penas de cocar”	Presente ou Ausente
Paliçadas pseudoestratificadas	Discariose em células dispostas em paliçada com núcleos em diferentes níveis de altura	Presente ou Ausente
Retalhos monocamada em	Discariose em células agrupadas em um mesmo nível, sem sobreposição	Presente ou Ausente
Sobreposição celular	Discariose em células sobrepostas agrupadas	Presente ou Ausente
Quanto às características celulares:		
Célula colunar atípica	Discariose em células de padrão glandular alto	Presente ou Ausente
Célula cuboidal atípica	Discariose em células de padrão glandular baixo	Presente ou Ausente
Célula parabasal atípica	Discariose em células do tamanho da parabasal	Presente ou Ausente
Célula intermediária atípica	Discariose em células do tamanho da intermediária	Presente ou Ausente
Célula superficial atípica	Discariose em células do tamanho da superficial	Presente ou Ausente
Célula metaplásica madura atípica	Discariose em células de padrão metaplásico maduro	Presente ou Ausente
Célula metaplásica imatura atípica	Discariose em células de padrão metaplásico imaturo	Presente ou Ausente
Perda da polaridade	Células atípicas sem a ordenação do arranjo arquitetural habitual	Presente ou Ausente
Quanto às características citoplasmáticas:		
Espaço claro perinuclear	Grandes halos claros, porém sem condensação citoplasmática periférica	Ausente leve: alterações presentes, mas difíceis de encontrar moderado: alterações em vários campos acentuado: alterações

		facilmente encontradas
Disceratose	Células superficiais em miniatura, com núcleos picnóticos e citoplasma orangeofílico, arranjadas sozinhas ou em pequenos grupos, com perda da polaridade nuclear	Presente ou Ausente
Borda citoplasmática espessa	Superfície periférica espessa e irregular de citoplasma denso	Presente ou Ausente
Limites citoplasmáticos definidos	Contornos citoplasmáticos contínuos e bem definidos	Presente ou Ausente
Limites citoplasmáticos indefinidos	Contornos citoplasmáticos descontínuos e mal definidos	Presente ou Ausente
Citoplasma fino e translúcido	Citoplasma com densidade e espessura fina e translúcida	Presente ou Ausente
Citoplasma moderadamente denso	Citoplasma com densidade e espessura moderada	Presente ou Ausente
Citoplasma denso e espesso	Citoplasma com acentuada densidade e espessura	Presente ou Ausente
Citoplasma vacuolado	Citoplasma cuja trama é fragmentada com vacúolos	Presente ou Ausente
Citoplasma homogêneo	Citoplasma com textura homogênea	Presente ou Ausente
Células escamosas atípicas com quantidade normal de citoplasma ou ausentes	Ausência de células escamosas atípicas ou o citoplasma é normal para o tipo celular	Presente ou Ausente
Células escamosas atípicas com escasso citoplasma	Citoplasma é escasso para o tipo celular	Presente ou Ausente
Células escamosas atípicas com amplo citoplasma	Citoplasma é amplo para o tipo celular	Presente ou Ausente
Células glandulares atípicas com quantidade normal de citoplasma ou	Ausência de células glandulares atípicas ou o citoplasma é normal para o	Presente ou Ausente

ausentes	tipo celular	
Células glandulares atípicas com escasso citoplasma	Citoplasma é escasso para o tipo celular	Presente ou Ausente
Células glandulares atípicas com amplo citoplasma	Citoplasma é amplo para o tipo celular	Presente ou Ausente
Quanto às características nucleares:		
Núcleos nús atípicos	Núcleos isolados discarióticos	Presente ou Ausente
Binucleação	Discariose em célula binucleada	Presente ou Ausente
Multinucleação	Discariose em célula multinucleada	Presente ou Ausente
Aumento da relação núcleo-citoplasmática (aumento da RNC)	A RNC em citologia reflete a maturidade celular. Quanto mais imatura uma célula, maior será a relação núcleo- citoplasmática.	Ausente Presente - leve Presente- moderado Presente- acentuado
Anisocariose	Varição do tamanho nuclear	Ausente Presente - leve Presente- moderada Presente- acentuada
Hiperchromasia	Aumento da afinidade tintorial basofílica do núcleo, comparada com o núcleo normal da célula intermediária.	Ausente Presente - leve Presente- moderada Presente- acentuada
Pleomorfismo	Discariose em células com formatos variados	Presente ou Ausente
Mitoses	Presença de figuras de mitose	Presente ou Ausente
Membrana nuclear irregular	Perfil nuclear com sulcos e indentações	Presente ou Ausente
Membrana nuclear espessada	Contorno nuclear espesso.	Presente ou Ausente
Cromatina grosseira granular	Cromatina distribuída de forma irregular, arranjada em grumos, quando o núcleo é dividido em quatro	Presente ou Ausente

	quadrantes	
Nucléolo	Valorizado quando anormalmente grande, de forma irregular ou múltipla e eosinofílico (objetiva de 40x)	Presente ou Ausente
Cromatina finamente granular	Cromatina distribuída de forma regular, arranjada como uma trama, quando o núcleo é dividido em quatro quadrantes	Presente ou Ausente
Volume do núcleo das células metaplásicas maior que uma vez e meia	Núcleo das células metaplásicas maior que uma vez e meia o núcleo normal da célula intermediária	Presente ou Ausente
Volume do núcleo das células maduras de 2,5 a 3 vezes	Núcleo das células intermediárias ou superficiais maior que duas e meia a três vezes o núcleo normal da célula intermediária	Presente ou Ausente
Volume do núcleo das células maduras maior que 3 vezes	Núcleo das células intermediárias ou superficiais maior que três vezes o núcleo normal da célula intermediária	Presente ou Ausente
Volume do núcleo das células endocervicais maior que uma vez e meia	Núcleo das células endocervicais maior que uma vez e meia o núcleo normal da célula endocervical	Presente ou Ausente
Volume do núcleo das células endocervicais maior que duas vezes	Núcleo das células endocervicais maior que duas vezes o núcleo normal da célula endocervical	Presente ou Ausente

(AYER, 1987; DEMAY, 1996; PACEY, 1997; RUBA, 2004)

Anexo 2 – Ficha de registro dos casos

Avaliador: _____ Caso n.º _____

DATA NASC: _____ IDADE: _____

Nº CITO: _____ DATA LIBERAÇÃO: ___ / ___ / ___

LAUDO CITO: _____

Nº HISTO 1: _____ DATA LIBERAÇÃO: ___ / ___ / ___

LAUDO HISTO 1: _____

PROCEDIMENTO 1: _____

Nº HISTO 2: _____ DATA LIBERAÇÃO: ___ / ___ / ___

LAUDO HISTO 2: _____

PROCEDIMENTO 2: _____

Observações: _____

Anexo 3 – Ficha de critérios citomorfológicos (frente)

Avaliador: _____

Caso n.º: _____

Quanto à qualidade da amostra:

Fundo () Limpo () Hemorrágico () Necrótico

Celularidade

() Insuficiente: (< ou =10%) () Discreta: (<10 a 25%) () Moderada: (25 a 50%)
 () Grande: (50 a 75% ou >)

Quantidade de células atípicas

() Ausência () Discreta () Moderada () Grande

Quanto ao arranjo arquitetural dos grupamentos:

Células atípicas em grupamentos	() Presente	() Ausente
Células atípicas isoladas	() Presente	() Ausente
Rosetas	() Presente	() Ausente
Papilas	() Presente	() Ausente
Sincícios	() Presente	() Ausente
Plumagem	() Presente	() Ausente
Paliçadas pseudoestratificadas	() Presente	() Ausente
Retalhos em monocamada	() Presente	() Ausente
Sobreposição celular	() Presente	() Ausente

Quanto às características celulares:

Célula colunar atípica	() Presente	() Ausente
Célula cuboidal atípica	() Presente	() Ausente
Célula parabasal atípica	() Presente	() Ausente
Célula intermediária atípica	() Presente	() Ausente
Célula superficial atípica	() Presente	() Ausente
Célula metaplásica madura atípica	() Presente	() Ausente
Célula metaplásica imatura atípica	() Presente	() Ausente
Perda da polaridade	() Presente	() Ausente

Quanto às características citoplasmáticas:

Espaço claro perinuclear	() Ausente	() Presente/leve
	() Presente/moderado	() Presente/accentuado
Disceratose	() Presente	() Ausente
Borda citoplasmática espessa	() Presente	() Ausente
Limites citoplasmáticos definidos	() Presente	() Ausente
Limites citoplasmáticos indefinidos	() Presente	() Ausente
Densidade do citoplasma	() Fino e translúcido	() Moderadamente denso
	() Denso e espesso	

Textura do citoplasma () Vacuolado () Homogêneo
 Quantidade de citoplasma em células escamosas () Escasso () Amplo
 Quantidade de citoplasma em células glandulares () Escasso () Amplo

Quanto às características nucleares:

Núcleos nús atípicos () Presente () Ausente
 Binucleação () Presente () Ausente
 Multinucleação () Presente () Ausente

Aumento da relação núcleo-citoplasmática (aumento da RNC)
 () Ausente () Presente/discreto () Presente/moderado () Ausente/acentuado

Anisocariose
 () Atipia ausente () Atipia presente/discreta () Atipia presente/moderada
 () Atipia presente/acentuada

Hipercromasia
 () Atipia ausente () Atipia presente/discreta () Atipia presente/moderada
 () Atipia presente/acentuada

Pleomorfismo () Presente () Ausente
 Mitoses () Presente () Ausente
 Membrana nuclear irregular () Presente () Ausente
 Membrana nuclear espessada () Presente () Ausente
 Cromatina granular grosseira () Presente () Ausente
 Nucléolo () Presente () Ausente

Volume do núcleo das células metaplásicas maior que uma vez e meia
 () Presente () Ausente

Volume do núcleo das células maduras de 2,5 a 3 vezes
 () Presente () Ausente

Volume do núcleo das células maduras maior que 3 vezes
 () Presente () Ausente

Volume do núcleo das células endocervicais maior que uma vez e meia
 () Presente () Ausente

Volume do núcleo das células endocervicais maior que duas vezes
 () Presente () Ausente

Observações:

Anexo 4

Tabela 4.1 – Distribuição dos critérios citomorfológicos conforme o resultado histopatológico - características gerais

Critérios Citomorfológicos	Diagnóstico histopatológico					
	NIC2/NIC3		AIS		AI	
	n = 63	(%)	n = 26	(%)	n = 49	(%)
Fundo						
Limpo	49	(77,8)	13	(50,0)	9	(18,4)
Hemorrágico	14	(22,2)	11	(42,3)	22	(44,9)
Necrótico	0	(0)	2	(7,7)	18	(36,7)
Celularidade						
Insuficiente	0	(0)	0	(0)	1	(2,0)
Discreta	0	(0)	0	(0)	1	(2,0)
Moderada	17	(27,0)	8	(30,8)	15	(30,6)
Grande	46	(73,0)	18	(69,2)	32	(65,3)
Quantidade de células atípicas						
Ausência	1	(1,6)	0	(0)	1	(2,1)
Discreta	15	(23,8)	6	(23,1)	6	(12,2)
Moderada	15	(23,8)	4	(15,4)	6	(12,2)
Grande	32	(50,8)	16	(61,5)	36	(73,5)

NIC2/NIC3 = neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 ou 3; AIS = adenocarcinoma endocervical *in situ*; AI = adenocarcinoma endocervical invasor

Tabela 4.2 – Distribuição dos critérios citomorfológicos conforme o resultado histopatológico - quanto ao arranjo arquitetural dos grupamentos

Critérios Citomorfológicos	Diagnósticos histopatológicos					
	NIC2/NIC3		AIS		AI	
	n = 63	(%)	n = 26	(%)	n = 49	(%)
Células atípicas em grupamentos						
Ausente	31	(49,2)	3	(11,5)	3	(6,1)
Presente	32	(50,8)	23	(88,5)	46	(93,9)
Células atípicas isoladas						
Ausente	2	(3,2)	5	(19,2)	8	(16,3)
Presente	61	(96,8)	21	(80,8)	41	(83,7)
Rosetas						
Ausente	56	(88,9)	7	(26,9)	15	(30,6)
Presente	7	(11,1)	19	(73,1)	34	(69,4)
Papilas						
Ausente	61	(96,8)	14	(53,8)	23	(46,9)
Presente	2	(3,2)	12	(46,2)	26	(53,1)
Sincícios						
Ausente	58	(92,1)	24	(92,3)	42	(85,7)
Presente	5	(7,9)	2	(7,7)	7	(14,3)
Plumagem						
Ausente	62	(98,4)	7	(26,9)	29	(59,2)
Presente	1	(1,6)	19	(73,1)	20	(40,8)
Paliçada pseudoestratificada						
Ausente	56	(88,9)	7	(26,9)	23	(46,9)
Presente	7	(11,1)	19	(73,1)	26	(53,1)
Retalhos em monocamadas						
Ausente	56	(88,9)	7	(26,9)	23	(46,9)
Presente	7	(11,1)	19	(73,1)	26	(53,1)
Sobreposição celular						
Ausente	31	(49,2)	5	(19,2)	10	(20,4)
Presente	32	(50,8)	21	(80,8)	39	(79,6)

NIC2/NIC3 = neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 ou 3; AIS = adenocarcinoma endocervical *in situ*; AI = adenocarcinoma endocervical invasor

Tabela 4.3 – Distribuição dos critérios citomorfológicos conforme o resultado histopatológico - quanto às características celulares

Critérios Citomorfológicos	Diagnósticos histopatológicos					
	NIC2/NIC3		AIS		AI	
	n = 63	(%)	n = 26	(%)	n = 49	(%)
Célula colunar atípica						
Ausente	56	(88,9)	6	(23,1)	18	(36,7)
Presente	7	(11,1)	20	(76,9)	31	(63,3)
Célula cuboidal atípica						
Ausente	49	(77,8)	8	(30,8)	6	(12,2)
Presente	14	(22,2)	18	(69,2)	43	(87,8)
Célula parabasal atípica						
Ausente	10	(15,9)	22	(84,6)	39	(79,6)
Presente	53	(84,1)	4	(15,4)	10	(20,4)
Célula intermediária atípica						
Ausente	23	(36,5)	24	(92,3)	47	(95,9)
Presente	40	(63,5)	2	(07,7)	2	(04,1)
Célula superficial atípica						
Ausente	44	(69,8)	25	(96,2)	47	(95,9)
Presente	19	(30,2)	1	(03,8)	2	(04,1)
Célula metaplásica madura atípica						
Ausente	27	(42,9)	24	(92,3)	39	(79,6)
Presente	36	(57,1)	2	(07,7)	10	(20,4)
Célula metaplásica imatura atípica						
Ausente	14	(22,2)	22	(84,6)	30	(61,2)
Presente	49	(77,8)	4	(15,4)	19	(38,8)
Perda da polaridade						
Ausente	28	(44,4)	6	(23,1)	10	(20,4)
Presente	35	(55,6)	20	(76,9)	39	(79,6)

NIC2/NIC3 = neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 ou 3; AIS = adenocarcinoma endocervical *in situ*; AI = adenocarcinoma endocervical invasor

Tabela 4.4 – Distribuição dos critérios citomorfológicos conforme o resultado histopatológico - quanto às características citoplasmáticas

Critérios Citomorfológicos	Diagnósticos histopatológicos					
	NIC2/NIC3		AIS		AI	
	n = 63	(%)	n = 26	(%)	n = 49	(%)
Espaço claro perinuclear						
Ausente	27	(42,9)	25	(96,2)	45	(91,8)
Leve	25	(39,7)	1	(3,8)	3	(6,1)
Moderado	7	(11,1)	0	(0)	1	(2,0)
Acentuado	4	(6,3)	0	(0)	0	(0)
Disceratose						
Ausente	17	(27,0)	25	(96,2)	43	(87,8)
Presente	46	(73,0)	1	(3,8)	6	(12,2)
Borda citoplasmática espessa						
Ausente	53	(84,1)	23	(88,5)	46	(93,9)
Presente	10	(15,9)	3	(11,5)	3	(6,1)
Limites citoplasmáticos definidos						
Ausente	22	(34,9)	20	(76,9)	38	(77,6)
Presente	41	(65,1)	6	(23,1)	11	(22,4)
Limites citoplasmáticos indefinidos						
Ausente	39	(61,9)	5	(19,2)	10	(20,4)
Presente	24	(38,1)	21	(80,8)	39	(79,6)
Citoplasma fino e translúcido						
Ausente	42	(66,7)	5	(19,2)	14	(28,6)
Presente	21	(33,3)	21	(80,8)	35	(71,4)
Citoplasma moderadamente denso						
Ausente	26	(41,3)	22	(84,6)	35	(71,4)
Presente	37	(58,7)	4	(15,4)	14	(28,6)

NIC2/NIC3 = neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 ou 3; AIS = adenocarcinoma endocervical *in situ*; AI = adenocarcinoma endocervical invasor

Continuação da tabela 4.4 – Distribuição dos critérios citomorfológicos conforme o resultado histopatológico - quanto às características citoplasmáticas

Critérios Citomorfológicos	Diagnósticos histopatológicos					
	NIC2/NIC3		AIS		AI	
	n = 63	(%)	n = 26	(%)	n = 49	(%)
Citoplasma denso e espesso						
Ausente	56	(88,9)	25	(96,2)	46	(93,9)
Presente	7	(11,1)	1	(3,8)	3	(6,1)
Citoplasma vacuolado						
Ausente	47	(74,6)	7	(26,9)	17	(34,7)
Presente	16	(25,4)	19	(73,1)	32	(65,3)
Citoplasma homogêneo						
Ausente	11	(17,5)	19	(73,1)	30	(61,2)
Presente	52	(82,5)	7	(26,9)	19	(38,8)

NIC2/NIC3 = neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 ou 3; AIS = adenocarcinoma endocervical *in situ*; AI = adenocarcinoma endocervical invasor

Tabela 4.5 – Distribuição dos critérios citomorfológicos conforme o resultado histopatológico - quanto à quantidade de citoplasma

Critérios Citomorfológicos	Diagnósticos histopatológicos					
	NIC2/NIC3		AIS		AI	
	n = 63	(%)	n = 26	(%)	n = 49	(%)
Células escamosas atípicas: Células não observadas/quantidade normal de citoplasma						
Ausente	59	(93,7)	8	(30,8)	20	(40,8)
Presente	4	(6,3)	18	(69,2)	29	(59,2)
Células escamosas atípicas: Quantidade escassa de citoplasma						
Ausente	14	(22,2)	22	(84,6)	33	(67,3)
Presente	49	(77,8)	4	(15,4)	16	(32,7)
Células escamosas atípicas: Quantidade ampla de citoplasma						
Ausente	42	(66,7)	22	(84,6)	42	(85,7)
Presente	21	(33,3)	4	(15,4)	7	(14,3)
Células glandulares atípicas: Células não observadas/quantidade normal de citoplasma						
Ausente	8	(12,7)	20	(76,9)	40	(81,6)
Presente	55	(87,3)	6	(23,1)	9	(18,4)
Células glandulares atípicas: Quantidade escassa de citoplasma						
Ausente	59	(93,7)	9	(34,6)	13	(26,5)
Presente	4	(6,3)	17	(65,4)	36	(73,5)
Células glandulares atípicas: Quantidade ampla de citoplasma						
Ausente	59	(93,7)	23	(88,5)	44	(89,8)
Presente	4	(6,3)	3	(11,5)	5	(10,2)

NIC2/NIC3 = neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 ou 3; AIS = adenocarcinoma endocervical *in situ*; AI = adenocarcinoma endocervical invasor

Tabela 4.6 – Distribuição dos critérios citomorfológicos conforme o resultado histopatológico - quanto às características nucleares

Critérios Citomorfológicos	Diagnósticos histopatológicos					
	NIC2/NIC3		AIS		AI	
	n = 63	(%)	n = 26	(%)	n = 49	(%)
Núcleos nus atípicos						
Ausente	27	(42,9)	8	(30,8)	14	(28,6)
Presente	36	(57,1)	18	(69,2)	35	(71,4)
Binucleação						
Ausente	15	(23,8)	16	(61,5)	19	(38,8)
Presente	48	(76,2)	10	(38,5)	30	(61,2)
Multinucleação						
Ausente	38	(60,3)	18	(69,2)	25	(51,0)
Presente	25	(39,7)	8	(30,8)	24	(49,0)
Aumento da RNC*						
Ausente	2	(3,2)	0	(0)	1	(2,0)
Leve	0	(0)	1	(3,8)	4	(8,2)
Moderado	20	(31,7)	14	(53,8)	18	(36,7)
Acentuado	41	(65,1)	11	(42,3)	26	(53,1)
Anisocariose						
Ausente	1	(1,6)	0	(0)	1	(2,0)
Leve	13	(20,6)	14	(53,8)	16	(32,7)
Moderado	22	(34,9)	7	(26,9)	15	(30,6)
Acentuado	27	(42,9)	5	(19,2)	17	(34,7)
Hipercromasia						
Ausente	3	(4,8)	0	(0)	5	(10,2)
Leve	10	(15,9)	6	(23,1)	9	(18,4)
Moderado	15	(23,8)	10	(38,5)	19	(38,8)
Acentuado	35	(55,6)	10	(38,5)	16	(32,7)

* RNC = relação núcleo-citoplasmática; NIC2/NIC3 = neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 ou 3; AIS = adenocarcinoma endocervical *in situ*; AI = adenocarcinoma endocervical invasor

Continuação da tabela 4.6 – Distribuição dos critérios citomorfológicos conforme o resultado histopatológico - quanto às características nucleares

Critérios Citomorfológicos	Diagnósticos histopatológicos					
	NIC2/NIC3		AIS		AI	
	n = 63	(%)	n = 26	(%)	n = 49	(%)
Pleomorfismo						
Ausente	20	(31,7)	7	(26,9)	7	(14,3)
Presente	43	(68,3)	19	(73,1)	42	(85,7)
Mitoses						
Ausente	60	(95,2)	21	(80,8)	35	(71,4)
Presente	3	(4,8)	5	(19,2)	14	(28,6)
Membrana nuclear irregular						
Ausente	2	(3,2)	6	(23,1)	8	(16,3)
Presente	61	(96,8)	20	(76,9)	41	(83,7)
Membrana nuclear espessada						
Ausente	37	(58,7)	12	(46,2)	20	(40,8)
Presente	26	(41,3)	14	(53,8)	29	(59,2)
Cromatina granular grosseira						
Ausente	36	(57,1)	19	(73,1)	34	(69,4)
Presente	27	(42,9)	7	(26,9)	15	(30,6)
Nucléolo						
Ausente	56	(88,9)	21	(80,8)	23	(46,9)
Presente	7	(11,1)	5	(19,2)	26	(53,1)
Cromatina finamente granular						
Ausente	24	(38,1)	6	(23,1)	16	(32,7)
Presente	39	(61,9)	20	(76,9)	33	(67,3)
Volume do núcleo das células metaplásicas > 1,5 vez						
Ausente	8	(12,7)	19	(73,1)	31	(63,3)
Presente	55	(87,3)	7	(26,9)	18	(36,7)
Volume do núcleo das células maduras > de 2,5 a 3 vezes						
Ausente	17	(27,0)	23	(88,5)	41	(83,7)
Presente	46	(73,0)	3	(11,5)	8	(16,3)

* RNC = relação núcleo-citoplasmática; NIC2/NIC3 = neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 ou 3; AIS = adenocarcinoma endocervical *in situ*; AI = adenocarcinoma endocervical invasor

Continuação da tabela 4.6 – Distribuição dos critérios citomorfológicos conforme o resultado histopatológico - quanto às características nucleares

Critérios Citomorfológicos	Diagnósticos histopatológicos					
	NIC2/NIC3		AIS		AI	
	n = 63	(%)	n = 26	(%)	n = 49	(%)
Volume do núcleo das células maduras maior que 3 vezes						
Ausente	45	(71,4)	26	(100,0)	47	(95,9)
Presente	18	(28,6)	0	(0)	2	(4,1)
Volume do núcleo das células endocervicais > 1,5 vez						
Ausente	57	(90,5)	6	(23,1)	11	(22,4)
Presente	6	(9,5)	20	(76,9)	38	(77,6)
Volume do núcleo das células endocervicais > 2 vezes						
Ausente	59	(93,7)	19	(73,1)	28	(57,1)
Presente	4	(6,3)	7	(26,9)	21	(42,9)

* RNC = relação núcleo-citoplasmática; NIC2/NIC3 = neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 ou 3; AIS = adenocarcinoma endocervical *in situ*; AI = adenocarcinoma endocervical invasor

Anexo 5

Tabela 5.1 - Distribuição dos critérios citomorfológicos conforme o resultado histopatológico - características gerais

Critérios citomorfológicos	Diagnóstico histopatológico				OR (IC 95%)	Valor de <i>p</i>
	AIS		AI			
	n = 26	(%)	n = 49	(%)		
Fundo						
Não necrótico	24	(92,3)	31	(63,3)	6,97 (1,34-48,22)	0,006
Necrótico	2	(07,7)	18	(36,7)		
Celularidade						
Grande	18	(69,2)	32	(65,3)	1,20 (0,39-3,75)	0,731
Insuf/Disc/Mod	8	(30,8)	17	(34,7)		
Quantidade de células atípicas						
Aus/Disc/Mod	10	(38,5)	13	(26,5)	1,73 (0,56-5,37)	0,286
Grande	16	(61,5)	36	(73,5)		

AIS = adenocarcinoma endocervical *in situ*; AI = adenocarcinoma endocervical invasor

Tabela 5.2 - Distribuição dos critérios citomorfológicos conforme o resultado histopatológico - quanto ao arranjo arquitetural dos grupamentos

Critérios citomorfológicos	Diagnóstico histopatológico				OR (IC 95%)	Valor de <i>p</i>
	AIS		AI			
	n = 26	(%)	n = 49	(%)		
Células atípicas em grupamentos						
Ausente	3	(11,5)	3	(6,1)	2,00 (0,29-13,80)	0,410
Presente	23	(88,5)	46	(93,9)		
Células atípicas isoladas						
Ausente	5	(19,2)	8	(16,3)	1,22 (0,30-4,85)	0,751
Presente	21	(80,8)	41	(83,7)		
Rosetas						
Presente	19	(73,1)	34	(69,4)	1,20 (0,37-3,94)	0,738
Ausente	7	(26,9)	15	(30,6)		
Papilas						
Ausente	14	(53,8)	23	(46,9)	1,32 (0,46-3,82)	0,569
Presente	12	(46,2)	26	(53,1)		
Sincícios						
Ausente	24	(92,3)	42	(85,7)	2,00 (0,34-15,24)	0,403
Presente	2	(07,7)	7	(14,3)		
Plumagem						
Presente	19	(73,1)	20	(40,8)	3,94 (1,25-12,74)	0,007
Ausente	7	(26,9)	29	(59,2)		
Paliçada pseudoestratificada						
Presente	19	(73,1)	26	(53,1)	2,40 (0,77-7,70)	0,092
Ausente	7	(26,9)	23	(46,9)		
Retalhos em monocamadas						
Presente	19	(73,1)	26	(53,1)	2,40 (0,77-7,70)	0,092
Ausente	7	(26,9)	23	(46,9)		
Sobreposição celular						
Presente	21	(80,8)	39	(79,6)	1,08 (0,28-4,22)	0,903
Ausente	5	(19,2)	10	(20,4)		

AIS = adenocarcinoma endocervical *in situ*; AI = adenocarcinoma endocervical invasor

Tabela 5.3 - Distribuição dos critérios citomorfológicos conforme o resultado histopatológico - quanto às características celulares

Critérios citomorfológicos	Diagnóstico histopatológico				OR (IC 95%)	Valor de p
	AIS		AI			
	n = 26	(%)	n = 49	(%)		
Célula colunar atípica						
Presente	20	(76,9)	31	(63,3)	1,94 (0,59-6,59)	0,227
Ausente	6	(23,1)	18	(36,7)		
Célula cuboidal atípica						
Ausente	8	(30,8)	6	(12,2)	3,19 (0,84-12,37)	0,050
Presente	18	(69,2)	43	(87,8)		
Célula parabasal atípica						
Ausente	22	(84,6)	39	(79,6)	1,41 (0,35-6,12)	0,595
Presente	4	(15,4)	10	(20,4)		
Célula intermediária atípica						
Presente	2	(07,7)	2	(04,1)	1,96 (0,18-21,14)	0,507
Ausente	24	(92,3)	47	(95,9)		
Célula superficial atípica						
Ausente	25	(96,2)	47	(95,9)	1,06 (0,07-31,26)	0,960
Presente	1	(03,8)	2	(04,1)		
Célula metaplásica madura atípica						
Ausente	24	(92,3)	39	(79,6)	3,08 (0,55-22,32)	0,152
Presente	2	(07,7)	10	(20,4)		
Célula metaplásica imatura atípica						
Ausente	22	(84,6)	30	(61,2)	3,48 (0,93-14,14)	0,036
Presente	4	(15,4)	19	(38,8)		
Perda da polaridade						
Ausente	6	(23,1)	10	(20,4)	1,17 (0,32-4,20)	0,788
Presente	20	(76,9)	39	(79,6)		

AIS = adenocarcinoma endocervical *in situ*; AI = adenocarcinoma endocervical invasor

Tabela 5.4 - Distribuição dos critérios citomorfológicos conforme o resultado histopatológico - quanto às características citoplasmáticas

Critérios citomorfológicos	Diagnóstico histopatológico				OR (IC 95%)	Valor de p
	AIS		AI			
	n = 26	(%)	n = 49	(%)		
Espaço claro perinuclear						
Ausente	25	(96,2)	45	(91,8)	2,22 (0,21-55,18)	0,475
Presente	1	(03,8)	4	(08,1)		
Disceratose						
Ausente	25	(96,2)	43	(87,8)	3,49 (0,37-81,38)	0,234
Presente	1	(03,8)	6	(12,2)		
Borda citoplasmática espessa						
Presente	3	(11,5)	3	(06,1)	2,00 (0,29-13,80)	0,410
Ausente	23	(88,5)	46	(93,9)		
Limites citoplasmáticos definidos						
Presente	6	(23,1)	11	(22,4)	1,04 (0,29-3,65)	0,950
Ausente	20	(76,9)	38	(77,6)		
Limites citoplasmáticos indefinidos						
Presente	21	(80,8)	39	(79,6)	1,08 (0,28-4,22)	0,903
Ausente	5	(19,2)	10	(20,4)		
Citoplasma fino e translúcido						
Presente	21	(80,8)	35	(71,4)	1,68 (0,47-6,28)	0,376
Ausente	5	(19,2)	14	(28,6)		
Citoplasma moderadamente denso						
Ausente	22	(84,6)	35	(71,4)	2,20 (0,57-9,15)	0,203
Presente	4	(15,4)	14	(28,6)		
Citoplasma denso e espesso						
Ausente	25	(96,2)	46	(93,9)	1,63 (0,14-42,96)	1,000
Presente	1	(03,8)	3	(06,1)		
Citoplasma vacuolado						
Presente	19	(73,1)	32	(65,3)	1,44 (0,45-4,69)	0,492
Ausente	7	(26,9)	17	(34,7)		
Citoplasma homogêneo						

Ausente	19	(73,1)	30	(61,2)	1,72 (0,54-5,55)	0,304
Presente	7	(26,9)	19	(38,8)		

AIS = adenocarcinoma endocervical *in situ*; AI = adenocarcinoma endocervical invasor

Tabela 5.5 - Distribuição dos critérios citomorfológicos conforme o resultado histopatológico - quanto à quantidade de citoplasma

Critérios citomorfológicos	Diagnóstico histopatológico				OR (IC 95%)	Valor de p
	AIS		AI			
	n = 26	(%)	n = 49	(%)		
Células escamosas atípicas:						
Células não observadas/quantidade normal de citoplasma						
Presente	18	(69,2)	29	(59,2)	1,55 (0,51-4,82)	0,391
Ausente	8	(30,8)	20	(40,8)		
Células escamosas atípicas:						
Quantidade escassa de citoplasma						
Ausente	22	(84,6)	33	(67,3)	2,67 (0,70-10,95)	0,107
Presente	4	(15,4)	16	(32,7)		
Células escamosas atípicas:						
Quantidade ampla de citoplasma						
Presente	4	(15,4)	7	(14,3)	1,09 (0,24-4,82)	0,898
Ausente	22	(84,6)	42	(85,7)		
Células glandulares atípicas:						
Células não observadas/quantidade normal de citoplasma						
Presente	6	(23,1)	9	(18,4)	1,33 (0,36-4,90)	0,627
Ausente	20	(76,9)	40	(81,6)		
Células glandulares atípicas:						
Quantidade escassa de citoplasma						
Ausente	9	(34,6)	13	(26,5)	1,47 (0,46-4,61)	0,464
Presente	17	(65,4)	36	(73,5)		
Células glandulares atípicas:						
Quantidade ampla de citoplasma						
Presente	3	(11,5)	5	(10,2)	1,15 (0,20-6,26)	0,858
Ausente	23	(88,5)	44	(89,8)		

AIS = adenocarcinoma endocervical *in situ*; AI = adenocarcinoma endocervical invasor

Tabela 5.6 - Distribuição dos critérios citomorfológicos conforme o resultado histopatológico - quanto às características nucleares

Critérios citomorfológicos	Diagnóstico histopatológico				OR (IC 95%)	Valor de <i>p</i>
	AIS		AI			
	n = 26	(%)	n = 49	(%)		
Núcleos nús atípicos						
Ausente	8	(30,8)	14	(28,6)	1,11 (0,35-3,53)	0,842
Presente	18	(69,2)	35	(71,4)		
Binucleação						
Ausente	16	(61,5)	19	(38,8)	2,53 (0,86-7,56)	0,060
Presente	10	(38,5)	30	(61,2)		
Multinucleação						
Ausente	18	(69,2)	25	(51,0)	2,16 (0,71-6,68)	0,129
Presente	8	(30,8)	24	(49,0)		
Aumento da RNC						
Norm/lev/mod	15	(57,7)	23	(46,9)	1,54 (0,53-4,50)	0,375
Acentuado	11	(42,3)	26	(53,1)		
Anisocariose						
Discreta	14	(53,8)	17	(34,7)	2,20 (0,75-6,51)	0,108
Moder/acent	12	(46,2)	32	(65,3)		
Hipercromasia						
Moder/acent	20	(76,9)	35	(71,4)	1,33 (0,39-4,65)	0,608
Ausente/leve	6	(23,1)	14	(28,6)		
Pleomorfismo						
Ausente	7	(26,9)	7	(14,3)	2,21 (0,59-8,37)	0,181
Presente	19	(73,1)	42	(85,7)		
Mitoses						
Ausente	21	(80,8)	35	(71,4)	1,68 (0,47-6,28)	0,376
Presente	5	(19,2)	14	(28,6)		
Membrana nuclear irregular						
Ausente	6	(23,1)	8	(16,3)	1,54 (0,40-5,81)	0,475
Presente	20	(76,9)	41	(83,7)		
Membrana nuclear espessada						

Ausente	12	(46,2)	20	(40,8)	1,24 (0,43-3,61)	0,656
Presente	14	(53,8)	29	(59,2)		
Cromatina granular grosseira						
Ausente	19	(73,1)	34	(69,4)	1,20 (0,37-3,94)	0,738
Presente	7	(26,9)	15	(30,6)		
Nucléolo						
Ausente	21	(80,8)	23	(46,9)	4,75 (1,38-17,23)	0,004
Presente	5	(19,2)	26	(53,1)		
Cromatina finamente granular						
Presente	20	(76,9)	33	(67,3)	1,62 (0,48-5,56)	0,386
Ausente	6	(23,1)	16	(32,7)		
Volume do núcleo das células metaplásicas > 1,5 vez						
Ausente	19	(73,1)	31	(63,3)	1,58 (0,50-5,11)	0,390
Presente	7	(26,9)	18	(36,7)		
Volume do núcleo das células maduras > de 2,5 a 3 vezes						
Ausente	23	(88,5)	41	(83,7)	1,50 (0,31-7,97)	0,737
Presente	3	(11,5)	8	(16,3)		
Volume do núcleo das células maduras maior que 3 vezes						
Ausente	26	(100,0)	47	(95,9)	Undefined	0,540
Presente	0	(00,0)	2	(04,1)		
Volume do núcleo das células endocervicais > 1,5 vez						
Ausente	6	(23,1)	11	(22,4)	1,04 (0,29-3,65)	0,950
Presente	20	(76,9)	38	(77,6)		
Volume do núcleo das células endocervicais > 2 vezes						
Ausente	19	(73,1)	28	(57,1)	2,04 (0,65-6,54)	0,174
Presente	7	(26,9)	21	(42,9)		

AIS = adenocarcinoma endocervical *in situ*; AI = adenocarcinoma endocervical invasor

Anexo 6

Tabela 6.1 - Distribuição dos critérios citomorfológicos conforme o resultado histopatológico - características gerais

Critérios citomorfológicos	Diagnóstico histopatológico				OR (IC 95%)	Valor de <i>p</i>
	AIS		NIC2/NIC3			
	n = 26	(%)	n = 63	(%)		
Fundo						
Não necrótico	24	(92,3)	63	(100,0)	Undefined	0,082
Necrótico	2	(07,7)	0	(00,0)		
Celularidade						
Insuf/Disc/Mod	8	(30,8)	17	(27,0)	1,20 (0,39-3,64)	0,717
Grande	18	(69,2)	46	(73,0)		
Quantidade de células atípicas						
Grande	16	(61,5)	32	(50,8)	1,55 (0,56-4,37)	0,355
Aus/Disc/Mod	10	(38,5)	31	(49,2)		

AIS = adenocarcinoma *in situ*; NIC2/NIC3 = neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 ou 3

Tabela 6.2 - Distribuição dos critérios citomorfológicos conforme o resultado histopatológico - quanto ao arranjo arquitetural dos grupamentos

Critérios citomorfológicos	Diagnóstico histopatológico				OR (IC 95%)	Valor de <i>p</i>
	AIS		NIC2/NIC3			
	n = 26	(%)	n = 63	(%)		
Células atípicas em grupamentos						
Presente	23	(88,5)	32	(50,8)	7,43 (1,84-34,72)	<0,001
Ausente	3	(11,5)	31	(49,2)		
Células atípicas isoladas						
Ausente	5	(19,2)	2	(03,2)	7,26 (1,12-59,11)	0,010
Presente	21	(80,8)	61	(96,8)		
Rosetas						
Presente	19	(73,1)	7	(11,1)	21,71 (5,93-85,27)	<0,001
Ausente	7	(26,9)	56	(88,9)		
Papilas						
Presente	12	(46,2)	2	(03,2)	26,14 (4,67-192,32)	<0,001
Ausente	14	(53,8)	61	(96,8)		
Sincícios						
Ausente	24	(92,3)	58	(92,1)	1,03 (0,16-8,33)	0,968
Presente	2	(07,7)	5	(07,9)		
Plumagem						
Presente	19	(73,1)	1	(01,6)	168,29 (18,24-3934,05)	<0,001
Ausente	7	(26,9)	62	(98,4)		
Paliçada pseudoestratificada						
Presente	19	(73,1)	7	(11,1)	21,71 (5,93-85,27)	<0,001
Ausente	7	(26,9)	56	(88,9)		
Retalhos em monocamadas						
Presente	19	(73,1)	7	(11,1)	21,71 (5,93-85,27)	<0,001
Ausente	7	(26,9)	56	(88,9)		
Sobreposição celular						
Presente	21	(80,8)	32	(50,8)	4,07 (1,24-14,17)	0,008
Ausente	5	(19,2)	31	(49,2)		

AIS = adenocarcinoma *in situ*; NIC2/NIC3 = neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 ou 3

Tabela 6.3 - Distribuição dos critérios citomorfológicos conforme o resultado histopatológico - quanto às características celulares

Critérios citomorfológicos	Diagnóstico histopatológico				OR (IC 95%)	Valor de <i>p</i>
	AIS		NIC2/NIC3			
	n = 26	(%)	n = 63	(%)		
Célula colunar atípica						
Presente	20	(76,9)	7	(11,1)	26,67 (7,01-109,97)	<0,001
Ausente	6	(23,1)	56	(88,9)		
Célula cuboidal atípica						
Presente	18	(69,2)	14	(22,2)	7,88 (2,55-25,17)	<0,001
Ausente	8	(30,8)	49	(77,8)		
Célula parabasal atípica						
Ausente	22	(84,6)	10	(15,9)	29,15 (7,29-128,81)	<0,001
Presente	4	(15,4)	53	(84,1)		
Célula intermediária atípica						
Ausente	24	(92,3)	23	(36,5)	20,87 (4,17-140,95)	<0,001
Presente	2	(07,7)	40	(63,5)		
Célula superficial atípica						
Ausente	25	(96,2)	44	(69,8)	10,80 (1,38-229,15)	0,006
Presente	1	(03,8)	19	(30,2)		
Célula metaplásica madura atípica						
Ausente	24	(92,3)	27	(42,9)	16,00 (3,22-107,43)	<0,001
Presente	2	(07,7)	36	(57,1)		
Célula metaplásica imatura atípica						
Ausente	22	(84,6)	14	(22,2)	19,25 (5,08-79,98)	<0,001
Presente	4	(15,4)	49	(77,8)		
Perda da polaridade						
Presente	20	(76,9)	35	(55,6)	2,67 (0,86-8,63)	0,059
Ausente	6	(23,1)	28	(44,4)		

AIS = adenocarcinoma *in situ*; NIC2/NIC3 = neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 ou 3

Tabela 6.4 - Distribuição dos critérios citomorfológicos conforme o resultado histopatológico - quanto às características citoplasmáticas

Critérios citomorfológicos	Diagnóstico histopatológico				OR (IC 95%)	Valor de <i>p</i>
	AIS		NIC2/NIC3			
	n = 26	(%)	n = 63	(%)		
Espaço claro perinuclear						
Ausente	25	(96,2)	27	(42,9)	33,33 (4,31-701,64)	<0,001
Presente	1	(03,8)	36	(57,1)		
Disceratose						
Ausente	25	(96,2)	17	(27,0)	67,65 (8,51-1445,81)	<0,001
Presente	1	(03,8)	46	(73,0)		
Borda citoplasmática espessa						
Ausente	23	(88,5)	53	(84,1)	1,45 (0,32-7,36)	0,598
Presente	3	(11,5)	10	(15,9)		
Limites citoplasmáticos definidos						
Ausente	20	(76,9)	22	(34,9)	6,21 (1,97-20,45)	<0,001
Presente	6	(23,1)	41	(65,1)		
Limites citoplasmáticos indefinidos						
Presente	21	(80,8)	24	(38,1)	6,82 (2,06-24,03)	<0,001
Ausente	5	(19,2)	39	(61,9)		
Citoplasma fino e translúcido						
Presente	21	(80,8)	21	(33,3)	8,40 (2,51-29,87)	<0,001
Ausente	5	(19,2)	42	(66,7)		
Citoplasma moderadamente denso						
Ausente	22	(84,6)	26	(41,3)	7,83 (2,19-30,64)	<0,001
Presente	4	(15,4)	37	(58,7)		
Citoplasma denso e espesso						
Ausente	25	(96,2)	56	(88,9)	3,13 (0,35-71,18)	0,275
Presente	1	(03,8)	7	(11,1)		
Citoplasma vacuolado						
Presente	19	(73,1)	16	(25,4)	7,97 (2,55-25,87)	<0,001
Ausente	7	(26,9)	47	(74,6)		

Citoplasma homogêneo

Ausente	19	(73,1)	11	(17,5)	12,83 (3,88-44,56)	<0,001
Presente	7	(26,9)	52	(82,5)		

AIS = adenocarcinoma *in situ*; NIC2/NIC3 = neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 ou 3

Tabela 6.5 - Distribuição dos critérios citomorfológicos conforme o resultado histopatológico - quanto à quantidade de citoplasma

Critérios citomorfológicos	Diagnóstico histopatológico				OR (IC 95%)	Valor de <i>p</i>
	AIS		NIC2/NIC3			
	n = 26	(%)	n = 63	(%)		
Células escamosas atípicas:						
Células não observadas/quantidade normal de citoplasma						
Presente	18	(69,2)	4	(06,3)	33,19 (7,79-157,49)	<0,001
Ausente	8	(30,8)	59	(93,7)		
Células escamosas atípicas:						
Quantidade escassa de citoplasma						
Ausente	22	(84,6)	14	(22,2)	19,25 (5,08-79,98)	<0,001
Presente	4	(15,4)	49	(77,8)		
Células escamosas atípicas:						
Quantidade ampla de citoplasma						
Ausente	22	(84,6)	42	(66,7)	2,75 (0,76-10,85)	0,086
Presente	4	(15,4)	21	(33,3)		
Células glandulares atípicas:						
Células não observadas/quantidade normal de citoplasma						
Ausente	20	(76,9)	8	(12,7)	22,92 (6,23-90,66)	<0,001
Presente	6	(23,1)	55	(87,3)		
Células glandulares atípicas:						
Quantidade escassa de citoplasma						
Presente	17	(65,4)	4	(06,3)	27,86 (6,66-128,80)	<0,001
Ausente	9	(34,6)	59	(93,7)		
Células glandulares atípicas:						
Quantidade ampla de citoplasma						
Presente	3	(11,5)	4	(06,3)	1,92 (0,31-11,35)	0,408
Ausente	23	(88,5)	59	(93,7)		

AIS = adenocarcinoma *in situ*; NIC2/NIC3 = neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 ou 3

Tabela 6.6 - Distribuição dos critérios citomorfológicos conforme o resultado histopatológico - quanto às características nucleares

Critérios citomorfológicos	Diagnóstico histopatológico				OR (IC 95%)	Valor de <i>p</i>
	AIS		NIC2/NIC3			
	n = 26	(%)	n = 63	(%)		
Núcleos nú atípicos						
Presente	18	(69,2)	36	(57,1)	1,69 (0,58-5,00)	0,288
Ausente	8	(30,8)	27	(42,9)		
Binucleação						
Ausente	16	(61,5)	15	(23,8)	5,12 (1,74-15,44)	<0,001
Presente	10	(38,5)	48	(76,2)		
Multinucleação						
Ausente	18	(69,2)	38	(60,3)	1,48 (0,51-4,40)	0,428
Presente	8	(30,8)	25	(39,7)		
Aumento da RNC						
Norm/lev/mod	15	(57,7)	22	(34,9)	2,54 (0,91-7,21)	0,047
Acentuado	11	(42,3)	41	(65,1)		
Anisocariose						
Discreta	14	(53,8)	14	(22,2)	4,08 (1,39-12,18)	0,003
Moder/acent	12	(46,2)	49	(77,8)		
Hiperchromasia						
Ausente/leve	6	(23,1)	13	(20,6)	1,15 (0,33-3,89)	0,798
Moder/acent	20	(76,9)	50	(79,4)		
Pleomorfismo						
Presente	19	(73,1)	43	(68,3)	1,26 (0,41-3,95)	0,652
Ausente	7	(26,9)	20	(31,7)		
Mitoses						
Presente	5	(19,2)	3	(04,8)	4,76 (0,88-28,05)	0,029
Ausente	21	(80,8)	60	(95,2)		
Membrana nuclear irregular						
Ausente	6	(23,1)	2	(03,2)	9,15 (1,48-72,00)	0,006
Presente	20	(76,9)	61	(96,8)		
Membrana nuclear espessada						

Presente	14	(53,8)	26	(41,3)	1,66 (0,60-4,61)	0,278
Ausente	12	(46,2)	37	(58,7)		
Cromatina granular grosseira						
Ausente	19	(73,1)	36	(57,1)	2,04 (0,68-6,26)	0,159
Presente	7	(26,9)	27	(2,9)		
Nucléolo						
Presente	5	(19,2)	7	(11,1)	1,90 (0,46-7,74)	0,321
Ausente	21	(80,8)	56	(88,9)		
Cromatina finamente granular						
Presente	20	(76,9)	39	(61,9)	2,05 (0,65-6,68)	0,172
Ausente	6	(23,1)	24	(38,1)		
Volume do núcleo das células metaplásicas > 1,5 vez						
Ausente	19	(73,1)	8	(12,7)	18,66 (5,27-70,31)	<0,001
Presente	7	(26,9)	55	(87,3)		
Volume do núcleo das células maduras > de 2,5 a 3 vezes						
Ausente	23	(88,5)	17	(27,0)	20,75 (4,97-100,40)	<0,001
Presente	3	(11,5)	46	(73,0)		
Volume do núcleo das células maduras maior que 3 vezes						
Ausente	26	(100,0)	45	(71,4)	Undefined	0,002
Presente	0	(00,0)	18	(28,6)		
Volume do núcleo das células endocervicais > 1,5 vez						
Presente	20	(76,9)	6	(9,5)	31,67 (7,98-137,82)	<0,001
Ausente	6	(23,1)	57	(90,5)		
Volume do núcleo das células endocervicais > 2 vezes						
Ausente	19	(73,1)	59	(93,7)	5,43 (1,24-25,33)	0,012
Presente	7	(26,9)	4	(06,3)		

AIS = adenocarcinoma *in situ*; NIC2/NIC3 = neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 ou 3

Anexo 7 - Carta de aprovação do CEP



MINISTÉRIO DA SAÚDE
Comitê de Ética em Pesquisa-INCA

Rio de Janeiro, 31 de março de 2005

Dra. Lucilia Maria Gama Zardo
Pesquisadora Principal

Ref. Prot. nº 16/05 – Critérios citomorfológicos preditivos de adenocarcinoma *in situ* de endocérvice em esfregaços cervicovaginais

Prezada Doutora,

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Nacional de Câncer após análise decidiu por **aprovar** o Protocolo intitulado: Critérios citomorfológicos preditivos de adenocarcinoma *in situ* de endocérvice em esfregaços cervicovaginais em sua reunião de 28 de março de 2005.

Estamos encaminhando a documentação pertinente para o CONEP, com vistas a registro e arquivamento.

Atenciosamente,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Luis Otávio Olivatto', is written over the typed name and title.

Dr. Luis Otávio Olivatto
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
CEP-INCA

CC: Dr. Paulo Antonio S Faria
DIPAT

Anexo 8 – E-mail de aceitação de publicação de trabalho

Page 1 of 1

Lucilia Zardo

From: <editassist@acta-cytol.com>
To: <zardo@superig.com.br>
Sent: segunda-feira, 16 de junho de 2008 14:50
Subject: Manuscript AC-03733-08 Version 3

Dear Dr. Zardo:

It is a pleasure to inform you that your manuscript "Performance of Cytological Examination for the Diagnosis of Endocervical Adenocarcinoma in Situ: Cytologic-Histologic Correlation in 60 Cases" (MS # AC-03733-08 Version 3) is now acceptable for publication in "Acta Cytologica," subject to any editorial changes that may be necessary.

Please download the available copyright and financial disclosure forms from:
<http://www.acta-cytol.com/admin/copyright.pdf>

Sign and return the copyright and financial disclosure forms. You will receive galley proofs and a reprint order form from the publisher before publication.

We assume that no part of this work—text, tables or illustrations—has been published previously and that no portion will be submitted elsewhere without our permission. Thank you for your continued interest in the journal.

Sincerely,

Marluce Bibbo, M.D., Sc.D.
Editor-in-Chief

23/7/2008

Anexo 9 - Trabalho aceito para publicação

Performance of cytological examination for the diagnosis of endocervical adenocarcinoma *in situ*: cytologic-histologic correlation in 60 cases

Authors:

Lucilia Maria Gama Zardo, M.D., Integrated Cytopathology Technology Section (SITEC), of the Pathology Division (DIPAT) and student at the Master Course in Oncology - National Cancer Institute (INCA), Rio de Janeiro, Brasil.

Luiz Claudio Santos Thuler, Ph.D., Associate Professor at the Federal University of the State of Rio de Janeiro (UNIRIO) and Professor at the Master Course in Oncology - National Cancer Institute (INCA), Rio de Janeiro, Brasil.

Luiz Carlos Zeferino, Ph.D., Associate Professor at the Gynecology Department of the Faculty of Medical Sciences of the Campinas State University (UNICAMP), São Paulo, Brasil.

Nilza Maria Sobral Rebelo Horta, M.D., Integrated Cytopathology Technology Section (SITEC), of the Pathology Division (DIPAT) - National Cancer Institute (INCA), Rio de Janeiro, Brasil.

Rachel de Carvalho Silveira de Paula Fonseca, M.D., Integrated Cytopathology Technology Section (SITEC), of the Pathology Division (DIPAT) - National Cancer Institute (INCA), Rio de Janeiro, Brasil.

Department:

Work carried out at the Integrated Cytopathology Technology Section (SITEC), of the Pathology Division (DIPAT), National Cancer Institute (INCA), Rio de Janeiro, Brasil.

Mail to:

Lucilia Maria Gama Zardo
Seção Integrada de Tecnologia em Citopatologia – SITEC
Divisão de Patologia – DIPAT / Instituto Nacional de Câncer - INCA
Rua Cordeiro da Graça, 156 – Santo Cristo
CEP 20220-400 – Rio de Janeiro – RJ – Brasil
Tel: (21) 2510-6366
Fax: (21) 2510-6379
E.mail: lzardo@inca.gov.br

Abstract:**Performance of cytological examination for the diagnosis of endocervical adenocarcinoma *in situ*: cytologic-histologic correlation in 60 cases**

Objective: The cytomorphologic diagnosis of adenocarcinoma in situ (AIS) is difficult and it uses low reproducibility criteria. This paper analyzes the performance of cytological exams for the diagnosis of AIS, through the correlation between the cytological and histological findings.

Study design: This study included 60 patients followed-up in the Brazilian National Cancer Institute from November 1998 to December 2007 with the cytopathological diagnosis of AIS. The percentage of agreement between cytological and histological findings was evaluated.

Results: The histological study confirmed AIS in 28.3% (17/60) and invasive endocervical adenocarcinoma in 38.3% (23/60) of the cases. In 21.7% (13/60) of the patients, the histological examination revealed CIN 2/CIN 3, in 5.0% (3/60) squamous invasive carcinoma, in the remaining 5.0% (3/60) the diagnosis pointed to other neoplasms and 1.7% (1/60) showed exclusively benign squamous cell lesion. Cytology identified lesions in 98.3% of the patients, of which 51% was intraepithelial.

Conclusion: Although cytomorphologic criteria for diagnosis of AIS have been published, there was a significant difficulty in interpreting glandular lesions. However, despite the cytology has shown a poor performance to identify glandular lesions, in almost all cases (98.3%) the presence of a clinically significant injury was detected. As the knowledge with this diagnosis increases a better performance is expected in the future.

Keywords: cytodiagnosis, cervical smears, cervical cancer, adenocarcinoma, early diagnosis, uterine cervix.

Introduction

Glandular lesions of the cervix are considerably less frequent than those of squamous epithelial origin, however, the incidence of adenocarcinoma of the cervix has increased gradually in the last two decades, especially in younger women.^{1,2,3} In the United States from 1973-1976, squamous cell carcinoma accounted for 87.6% of all cervical cancers, and adenocarcinoma accounted for 12.4%.⁴ Information from the Surveillance Epidemiology and End Results (SEER) database from 2001-2005 indicates that 69.4% of histologically confirmed cases of cervical cancer were squamous cell carcinoma and that 24.6% were adenocarcinoma.⁵

In general, prognosis is poor in advanced stage diagnosis of endocervical adenocarcinoma. In its original stage, still as cervical adenocarcinoma in situ (AIS), it habitually has no clinical or colposcopic expression, which makes its detection difficult. AYER et al inform that 97% of the AIS cases studied were identified by routine screening, and only 3% of the cases showed abnormal bleeding symptoms.⁶ Therefore, in most cases the cytopathologic examination is the only opportunity to identify these lesions before they evolve into an invasive adenocarcinoma. In this context, studies show that cervical adenocarcinoma cytological diagnosis, specially in the in situ form, is challenging^{7,8,9,10,11} though the Pap screening can, potentially, lead to earlier detection and improved outcome of endocervical adenocarcinoma.¹² This is because the cytomorphological criteria used are of low reproducibility, and the detection capacity of the Pap test is controversial. While some studies confirm the good specificity for glandular lesions in general, other studies suggest that adenocarcinoma in situ cannot be routinely recognized or precisely subcategorized in routine practice.^{11,13}

It was only in 2001, with the revision of the Bethesda System, that the endocervical AIS was classified as a distinct diagnostic category.¹⁴ Reasonable experience in the diagnosis of AIS has therefore only been acquired for little over a decade, which can be too short a period to show significant effect on epidemiological indicators of incidence and mortality. Also, even though the incidence of cervical

adenocarcinomas is increasing, the atypical glandular cell cytological diagnoses are infrequent, so that only large services or multicenter groups have the necessary conditions to carry out wider studies on this diagnosis.

The objective of this study is to evaluate the performance of cytological examination for the diagnosis of AIS, through its correlation with the histopathological results.

Materials and methods

Between November 1998 and December 2007, the Integrated Cytopathology Technology Section (SITEC), of the Pathology Division (DIPAT) of the National Cancer Institute (INCA) carried out over 2 million cytopathological examinations. In this universe, 164 cases (0.006%) of cytopathological diagnosis compatible with AIS were identified. A part of these patients were directed to INCA's Cancer Hospital II (HC II), where they underwent colposcopic examination and surgical procedures for diagnostic investigation and/or treatment.

The cases whose specimens were sent for histopathological evaluation to SITEC/DIPAT to a total of sixty patients, were included in this study. The cytopathological examinations were reviewed, based on the guidelines established by the Brazilian Ministry of Health and Brazilian Society of Cytology.¹⁵ Where there was more than one altered histopathological examination for the same woman, obtained by biopsy, loop electrosurgical excision procedure (LEEP), conization or hysterectomy, the more serious diagnosis was considered. Patients with coexistent glandular and squamous lesions were kept in the study.

The cytopathological examinations considered for this study were those that originated the diagnostic investigation or treatment and, therefore, was always prior to colposcopic and histopathological evaluation. The results of the cytopathological and histopathological assessment were blind to each other. The material was represented by ecto and endocervical samples, as is standardized nationally by the Ministry of Health, through the National Program for the Control of Cervical and Breast Cancer.¹⁶

The histopathological diagnosis was considered the gold standard exam, and attributed according to the World Health Organization Classification of Tumours.¹⁷

The percent agreement between the cytopathologic and the histopathologic findings was evaluated in two ways. In the first those tests with histopathological AIS diagnosis, associated or not to squamous lesions, were considered concordant. In a second analysis the cases were those with intraepithelial squamous neoplasia grade 2 (CIN 2) or grade 3 (CIN 3), AIS and glandular or squamous invasive carcinoma considered together as a group of clinically relevant cases.

Specificity and sensitivity were not evaluated, as only cases with AIS cytopathological diagnosis were included and, therefore, tests with false-negative and true-negative results were not included in the analysis.

The temporal distribution of AIS cytological diagnoses was analyzed, as was the age of the patients at the time of the histopathological test, by means of comparison between the median age of the three types of lesions found most frequently (AIS, CIN and invasive adenocarcinoma). Nine women had coexistent lesions of different origins (squamous and glandular) and their age data was considered once in each category.

The data was stored in Excel 2002 and analyzed using Excel 2002 and GraphPad Prism version 4.00 for Windows (GraphPad Software, San Diego California USA) programs. Categorical variables were shown as percentages, and for continuous variables the medians values and the 25 and 75 percentiles were calculated. For age comparison the Kruskal-Wallis test was used. The P value ≤ 0.05 was considered statistically significant.

This study is part of the research project approved by the Ethics Committee of the National Cancer under Nr. 1605.

Results

Sixty patients with cytopathological diagnosis of AIS were studied. Of these, six showed association with ASCUS and nine with a high degree of squamous intraepithelial lesion (table I). The material for the histopathological study had been

collected by: conization (55.0%), biopsy (36.7%) and hysterectomy (8.3%). Its analysis confirmed AIS in 28.3% (17/60) of the cases; of which 10% (6/60) were associated to CIN2/CIN3. In 38.3% (23/60) of the patients, the histopathological examination revealed invasive adenocarcinoma, in 21.7% (13/60) CIN 2/CIN3, in 5% (3/60) invasive squamous carcinoma and in the remaining 5% (3/60) the diagnosis indicated other neoplasia. Only 1 of the 60 cases (1.7%) included in this study showed exclusively benign squamous cell lesion in the histopathological study.

Among the CIN2/CIN3, considering those associated with AIS (6/60), as well as the pure (13/60), glandular occupation was observed in five cases (26.3%). HPV cytopathic alterations were also observed in six cases, four being CIN2/CIN3 isolated, one case of CIN associated to AIS and another showing cervicitis with HPV.

The percentage of agreement between the cytopathologic and the histopathologic findings was 28.3% when the cases considered concordant were restricted to those with histopathological AIS diagnosis, whether or not associated to a squamous lesion. The majority (66.7%) of histopathological lesions detected were of glandular origin. When those tests with intraepithelial squamous neoplasia, grade 2 (CIN 2) or grade 3 (CIN 3), AIS and invasive glandular or squamous carcinoma were considered together as a group of clinically relevant cases, 98.3% (59/60) were revealed and 50% of cases was intraepithelial lesion. The temporal distribution of cytopathological diagnoses of AIS as the date of results release showed that histopathological lesions from glandular origin was more frequent in the second half of the period (figure 1).

The average age of the women was 43.3 years (median 41.8 years). Considering the three most frequently found categories of histopathological diagnosis (CIN2/CIN3, AIS and invasive adenocarcinoma), it was seen that among patients with CIN2/CIN3 the average age was 40.1 years (median 39 years); among the patients with histological AIS the average was 39.8 years (median 39 years) and in the patients with invasive lesions the average was 47.4 years (median 45 years). The comparison between the medians was carried out using the Kruskal-Wallis test, which showed a statistically significant difference ($P= 0.007$) between the age medians of the three types of lesions (figure 2).

Discussion

The failures in the prevention of cervical cancer must be analyzed from the whole perspective of the process, where the various components of the care are of extreme importance, from the initial recruiting of the patients, and the laboratory tracking to the patient treatment and follow-up.

Among the instruments available for monitoring the laboratory stage, correlation between the cyto and histopathologic diagnoses has been judged one of the most efficient ways to refine the quality of the cytopathology laboratories involved with cervical cancer prevention programs.^{18,19,20,21}

Through cyto-histopathological correlation it was possible to verify the percent agreement between the cytopathologic and the histopathologic findings. When cases were considered concordant only with histopathologic AIS diagnosis, associated or not to squamous lesion, the agreement was 28.3% (17/60), which reflects the difficulty of a specific diagnosis by cytopathological examination, in this type of lesion (figure 3 a, b). Histological diagnosis of glandular neoplasia was found more frequently (66.6%), being in 38.3% (23/60) of these invasive endocervical adenocarcinoma. Renshaw et al verify that AIS was specifically recognized in 46.5% of 213 reviews.¹¹

It was possible to verify glandular or squamous lesion, high grade or invasive lesion, in the histopathological examination of 98.3% (59/60) of the patients whose cytopathologic examination had indicated AIS and 50% of these was intraepithelial lesion. This datum emphasizes the importance of investigating, systematically, the cases where the cytopathological diagnosis is AIS. Geldenhuys and Murray observed that 100% (30 cases) of the patients whose Papanicolaou tests revealed suspected or positive AIS or adenocarcinoma, in the histological follow-up showed the presence of some lesion: 13% AIS, 13% endocervical adenocarcinoma, 37% endometrial adenocarcinoma, 23% other adenocarcinomas, 10% high grade squamous lesion and 0.3% low grade squamous lesion.¹³

In an expressive number of cases histopathological examination revealed lesions of squamous epithelial origin, being 13 cases of CIN2/CIN3 (21.7%) and 3

cases of invasive squamous carcinoma (5%). In these cases the cellular groups had overlapping and disorganization, with rounded nuclei rather than elongated, and the central cell polarity was not as clear as in AIS. The authors noted some cases of high-grade intraepithelial lesions showed non-differentiated feature, without characteristics defining their origin as squamous. At times, their pale nuclear appearance and presence of fine cytoplasmic vacuoles, can mime glandular origin (figure 3 c, d).²²

Some authors found similar results in their studies, indicating that intraepithelial squamous lesions, specially the high grade ones, are frequently diagnosed in the histopathological examinations that follow cytological tests giving atypical glandular indications. Renshaw et al observe that 11.3% of the interpretations of AIS case revisions were high-grade squamous intraepithelial lesions or squamous cell carcinomas.¹¹ Davey et al analyzed cases of cytopathological AGUS diagnosis and verified that a significant part of what is diagnosed as AGUS is revealed as an intraepithelial squamous or carcinoma lesion in a subsequent histopathological examination.²⁰ The same text cites ten studies where an average of 29% of the patients with AGUS had squamous intraepithelial lesion when investigated by biopsy.²¹ Bose et al found high grade squamous lesions in 41% of patients whose cytological diagnosis had indicated AGUS.² Lee et al relate that in 678 readings of 12 cases histologically diagnosed as CIN2/CIN3, 41% of the cytological revision diagnoses pointed to AGUS, and of those 17% neoplastic/AIS.¹⁰ Oskan et al analyzed 12 cases of Thin Prep tests with cytological AIS diagnosis where the histopathological test revealed squamous epithelial lesion in four of them.²³ These experiments evidence the difficulty of recognition and AIS diagnosis.

Within the CIN2/CIN3, considering those associated to AIS (6/60) as well as isolated lesion (13/60), glandular extension was observed in five cases. This aspect could mean difficulties in interpretation, as it presents an appearance very similar to that of AIS, with dense cell grouping, causing erroneous interpretation of the material (figure 3 e, f).^{24,11} The authors noted the central cell polarity in cellular groupings of AIS a consistent finding to differentiate from HSIL involving glands.

The cytological distinction between AIS and invasive adenocarcinoma is problematic; 38.3% (23/60) of the cases with cytopathological AIS diagnosis were

revealed as invasive adenocarcinomas in the histopathological study. The morphological characteristics typical of the invasive lesion are not always present, so there is, therefore, a significant morphological superposition between AIS and adenocarcinoma endocervical. Also, the hemorrhagic or necrotic background is frequently absent, especially in initial lesions, and cannot be invoked to confirm invasion.²³ From the 23 cases with histological diagnostic of invasive adenocarcinoma, 13 (56.5%) showed no necrotic background, despite the abundant cellularity. The authors observed that among the criteria established for these two diagnoses the concurrent presence of feathering, absent or inconspicuous nucleoli and the absence of necrosis, suggest the diagnosis of AIS.

Amaral Westin et al reported among 14 women with cytological AIS, 50% (7/14) had invasive adenocarcinoma confirmed by histology, 29% (4/14) had AIS, 14% (2/14) squamous neoplasia and 7% (1/14) was diagnosed negative (adenomyosis).²⁵ Here the cytology can help as revealed the results of Kinney et al that invasive adenocarcinomas and adenosquamous carcinomas of the cervix detected by screening are found at an earlier stage and are associated with lower disease-specific mortality than those not detected by screening.¹²

It was possible to observe that in the group of patients with CIN2/CIN3 the age span was inferior to that of the group with AIS. In its turn, the patients with AIS are in a lower age group than those with adenocarcinoma. It was found however, that the median age of the two groups of patients with intraepithelial lesions was identical, at 39 years, while in the group with adenocarcinoma the median was higher, at 45 years. In his study Mitchell²⁶ observes that the average age of women with CIN2/CIN3 was 33.2 years, and those with AIS 36.8 years. In the present study it was observed that the average age in the three most frequent diagnostic categories was always higher than what was described by these authors. It can also be noted that there is an expressive difference between ages of intraepithelial lesions and invasive adenocarcinoma cases.

The low average age of patients with AIS corroborates the data found in literature, which points to greater incidence in younger women.^{1,2,3,27} Also, this

observation reinforces the hypothesis that places AIS as a precursor lesion to invasive adenocarcinoma in the spectrum of endocervical glandular lesions.²⁸

Using the definition of discrepancy as being a difference of interpretation that can cause an impact on the decisions of therapeutic conduct, it must be recognized that in the near totality of the cases (98.3%) the presence of a clinically important lesion was detected. All the patients were directed to colposcopy and histopathological tests, as per the guidelines of the National Cancer Institute/Ministry of Health.¹⁶ Only one of the 60 patients (1.7%) included in the study proved to have exclusively benign squamous cell lesion with morphological changes suggestive of HPV infection, which by itself does not justify directing the patient to colposcopy and histopathological evaluation.

The temporal distribution of cytopathological diagnoses of AIS as the date of results release showed that histopathological lesions from glandular origin predominate in the second half of the period. The missing diagnoses of squamous lesions frequently appeared in the early of the studied period. This suggests an increasing ability to diagnose AIS in view that it is a relatively new diagnostic option, introduced in the past 10-15 years.²⁹ Only from 2001 the cytomorphic criteria for AIS diagnosis have been more intensively explored and published in the medical literature. There are studies reporting decline endocervical adenocarcinoma incidence rates during the last decade in European countries and this can be reflex of a protective effect of cytologic screening.^{30,31}

Conclusions

Although cytomorphic criteria for specific diagnosis of AIS have been published, there was a significant difficulty in interpreting glandular lesions. However, despite the cytology has shown a poor performance to identify glandular lesions, in almost all cases (98.3%) the presence of a clinically significant injury was detected and it was possible to identify intraepithelial lesions in 50% of cases.

As the knowledge with this diagnosis increases a better performance is expected in the future. Refining the cytopathologic diagnosis can increase the

performance of this test in the identification of initial endocervical glandular lesions, reinforcing the role of the cytopathological test in the prevention of cancer of the cervix.

Conflict of interest: There is no conflict of interest on the part of any of the authors.

Lucilia Maria Gama Zardo: lzardo@inca.gov.br

Luiz Claudio Santos Thuler: lthuler@inca.gov.br

Luiz Carlos Zeferino: zeferino@hc.unicamp.br

Nilza Maria Sobral Rebelo Horta: nilzahorta@yahoo.com

Rachel de Carvalho Silveira de Paula Fonseca: rachelsilveira@mls.com.br

Acknowledgments:

The authors acknowledge the collaboration of the cytopathologists, cytotechnologists and other co-workers of the Integrated Cytopathology Technology Section laboratory (SITEC), Pathology Division (DIPAT), National Cancer Institute (INCA).

Bibliographic References

1. Parazzini F, Vecchia CL: Epidemiology of adenocarcinoma of the cervix. *Gynecol Oncol* 1990;39:40-6
2. Bose S, Kannan V, Kline TS: Abnormal endocervical cells. Really abnormal? Really endocervical? *Am J Clin Pathol* 1994;101:708-13
3. Waddell C: Glandular prediction: the pride and the prejudice. *Cytopathology* 2004;15:177-80

4. Smith HO, Tiffany MF, Qualls CR, Key CR. The rising incidence of adenocarcinoma relative to squamous cell carcinoma of the uterine cervix in the United States — a 24-year population-based study. *Gynecol Oncol* 2000 ; 78 : 97 – 105
5. Ries LAG, Melbert D, Krapcho M, Stinchcomb DG, Howlader N, Horner MJ, Mariotto A, Miller BA, Feuer EJ, Altekruse SF, Lewis DR, Clegg L, Eisner MP, Reichman M, Edwards BK (eds). SEER Cancer Statistics Review, 1975-2005, National Cancer Institute. Bethesda, MD, http://seer.cancer.gov/csr/1975_2005/, based on November 2007 SEER data submission, posted to the SEER web site, 2008.
6. Ayer B, Pacey F, Greenberg M, Bousfield L: The cytologic diagnosis of adenocarcinoma in situ of the cervix uteri and related lesions. I. Adenocarcinoma in situ. *Acta Cytol* 1987;31:397-411
7. Ronnett BM, Manos MM, Ransley JE, Fetterman BJ, Kinney WK, Hurley LB, Ngai JS, Kurman RJ, Sherman ME: Atypical glandular cells of undetermined significance (AGUS): cytopathologic features, histopathologic results, and human papillomavirus DNA detection. *Hum Pathol* 1999;30:816-25
8. Krane JF, Granter SR, Trask CE, Hogan CL, Lee KR: Papanicolaou smear sensitivity for the detection of adenocarcinoma of the cervix. A study of 49 cases. *Cancer (Cancer Cytopathology)* 2001;93:8-15
9. Krane JF, Lee KR, Sun D, Yuan L, Crum CP: Atypical glandular cells of undetermined significance. Outcome predictions based on human papillomavirus testing. *Am J Clin Pathol* 2004;121:87-92
10. Lee KR, Darragh TM, Joste NE, Krane JF, Sherman ME, Hurley LB, Allred EM, Manos MM: Atypical glandular cells of undetermined significance (AGUS).

Interobserver reproducibility in cervical smears and corresponding Thin-Layer preparations. *Am J Clin Pathol* 2002;117:96-102

11. Renshaw AA, Mody DR, Lozano RL, Volk EE, Walsh MK, Davey DD, Birdsong GG: Detection of adenocarcinoma in situ of the cervix in Papanicolaou tests. Comparison of diagnostic accuracy with other high-grade lesions. *Arch Pathol Lab Med* 2004; 128:153-7
12. Kinney W, Sawaya GF, Sung H, Kearney KA, Miller M, Hiatt RA: Stage at diagnosis and mortality in patients with adenocarcinoma and adenosquamous carcinoma of the uterine cervix diagnosed as a consequence of cytologic screening. *Acta Cytol* 2003;47:167-171
13. Geldenhuys L, Murray ML. Sensitivity and specificity of the Pap smear for glandular lesions of the cervix and endometrium. *Acta Cytol* 2007;51:47-50
14. Solomon D, Nayar R: Chapter 6: Epithelial abnormalities: Glandular. *In* The Bethesda System for reporting cervical cytology. Springer-Verlag. New York 2004;2nd ed 191 p
15. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Nomenclatura brasileira para laudos cervicais e condutas preconizadas: recomendações para profissionais de saúde. Rio de Janeiro. INCA 2006; 2nd ed: 56 p
16. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Programa Nacional de Controle do Câncer do Colo do Útero e de Mama - Viva Mulher. Available at: http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=140. Access in 5 dez. 2007.

17. Tavassoli FA, Devilee P: Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs. World Health Organization Classification of Tumours. 1st ed. IARC Press, Lyon, 2003.
18. Jones BA, Novis DA: Cervical biopsy–cytology correlation: a College of American Pathologists Q-Probes study of 22 439 correlations in 348 laboratories. *Arch Pathol Lab Med* 1996;120:523-531
19. Di Loreto C, Maeda MYS, Utagawa ML, Longatto Filho A, Alves VAF: Garantia de qualidade em citopatologia: aspectos da correlação cito-histopatológica. *Rev Ass Med Brasil* 1997;43(3):195-8
20. Davey D, Woodhouse S, Styer P, Stasty J, Mody D: Atypical epithelial cells and specimen adequacy: Current laboratory practices of participants in the College of American Pathologists Interlaboratory comparison Program in Cervicovaginal Cytology. *Arch Pathol Lab Med* 2000;124:203-211
21. Vrbin CM, Grzybicki DM, Zaleski MS, Raab SS: Variability in cytologic-histologic correlation practices and implications for patient safety. *Arch Pathol Lab Med* 2005;129:893-898
22. Cibas ES, Ducatman BS: Cervical and vaginal cytology. *In Cytology. Diagnostic principles and clinical correlates.* London. Saunders 2003; 2nd ed: pp 1-59.
23. Ozkan F, Ramzy I, Mody DR: Glandular lesions of the cervix on Thin-Layer Pap tests. Validity of cytologic criteria used in identifying significant lesions. *Acta Cytol* 2004;48:372-9
24. Bibbo M: Glandular neoplasms of the uterine cervix. *In Comprehensive Cytopathology.* 2nd ed, edited by Marluce Bibbo, 1.122 pp. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1997; 231-56

25. Amaral Westin MC, Derchain SFM, Rabelo-Santos SH, Andrade LAL, Sarian LOZ, Oliveira ER, Zeferino LC: Atypical glandular cells and adenocarcinoma in situ according to the Bethesda 2001 classification: Cytohistological correlation and clinical implications. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2007;12:2-6
26. Mitchell H, Hocking J, Saville M: Cervical cytology screening history of women diagnosed with adenocarcinoma in situ of the cervix. A case-control study. *Acta Cytol* 2004;48:595-600
27. Bulk S, Visser O, Rozendaal L, Verheijen RH, Meijer CJ: Cervical cancer in the Netherlands 1989-1998: Decrease of squamous cell carcinoma in older women, increase of adenocarcinoma in younger women. *Int J Cancer* 2004;113(6):1005-9
28. Zaino RJ: Symposium Part I: Adenocarcinoma in situ, glandular dysplasia, and early invasive adenocarcinoma of the uterine cervix. *Int J Gynecol Pathol* 2002;21(4):314-26
29. Schoolland M, Segal A, Allpress S, Miranda A, Frost FA, Sterrett GF: Adenocarcinoma in situ of the cervix. Sensitivity of detection by cervical smear. *Cancer (Cancer Cytopathol)* 2002;96(6):330-37
30. Bray F, Carstensen B, Moller H, Zappa M, Zakelj MP, Lawrence G, Hakama M, Weiderpass E: Incidence trends of adenocarcinoma of the cervix in 13 European countries. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14(9):2191-99
31. Mitchell H, Hocking J, Saville M: Improvement in protection against adenocarcinoma of the cervix resulting from participation in cervical screening. *Cancer (Cancer Cytopathol)* 2003;99(6):336-41

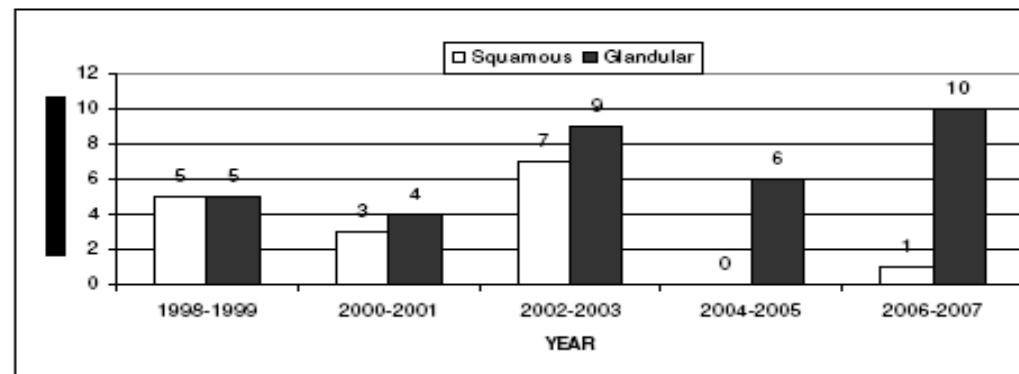
Table I – Distribution of the 60 women with the histopathological result according to the cytopathology result

Cytopathologic Diagnosis	Histopathological Diagnosis							Total
	BSCL	CIN2/CIN3	AIS + CIN2/CIN3	AIS	Invasive Endocervical Adenocarcinoma	Invasive Squamous Cell Carcinoma	Other neoplasia*	
AIS	0	10	4	9	17	3	2	45 (75%)
AIS + ASCUS	1	2	0	1	2	0	0	6 (10%)
AIS + HSIL	0	1	2	1	4	0	1	9 (15%)
Total	1 (1,7%)	13 (21,7%)	6 (10,0%)	11 (18,3%)	23 (38,3%)	3 (5,0%)	3 (5,0%)	60 (100%)

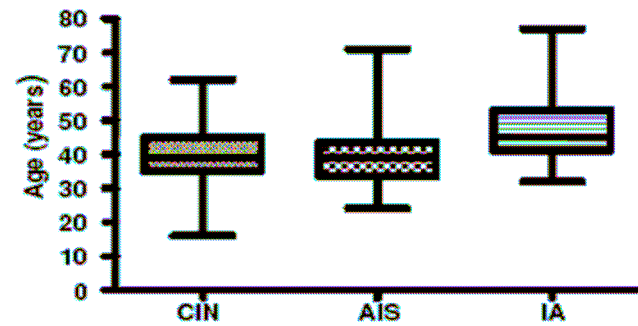
ASCUS = atypical squamous cells of undetermined significance; BSCL = benign squamous cell lesion; CIN2/CIN3 = cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3, AIS = adenocarcinoma in situ; HSIL = high grade squamous intraepithelial lesion

*Other neoplasia: undifferentiated carcinoma (1), invasive adenosquamous carcinoma (1) and malignant mullerian mixed tumor (1).

Figure 1 - Temporal distribution of cytopathological diagnoses of AIS according to the histopathological epithelial origin. INCA, 1998 to 2007 *



*Excluded from this analysis 10 cases: AIS + NIC2/NIC3 (6), benign squamous cell lesion (1) and other cancers (3)



Value of $p=0,0067$

Figure 2 – Values median, maximum, minimum and percentiles 25 and 75 of the age of the women included in the study

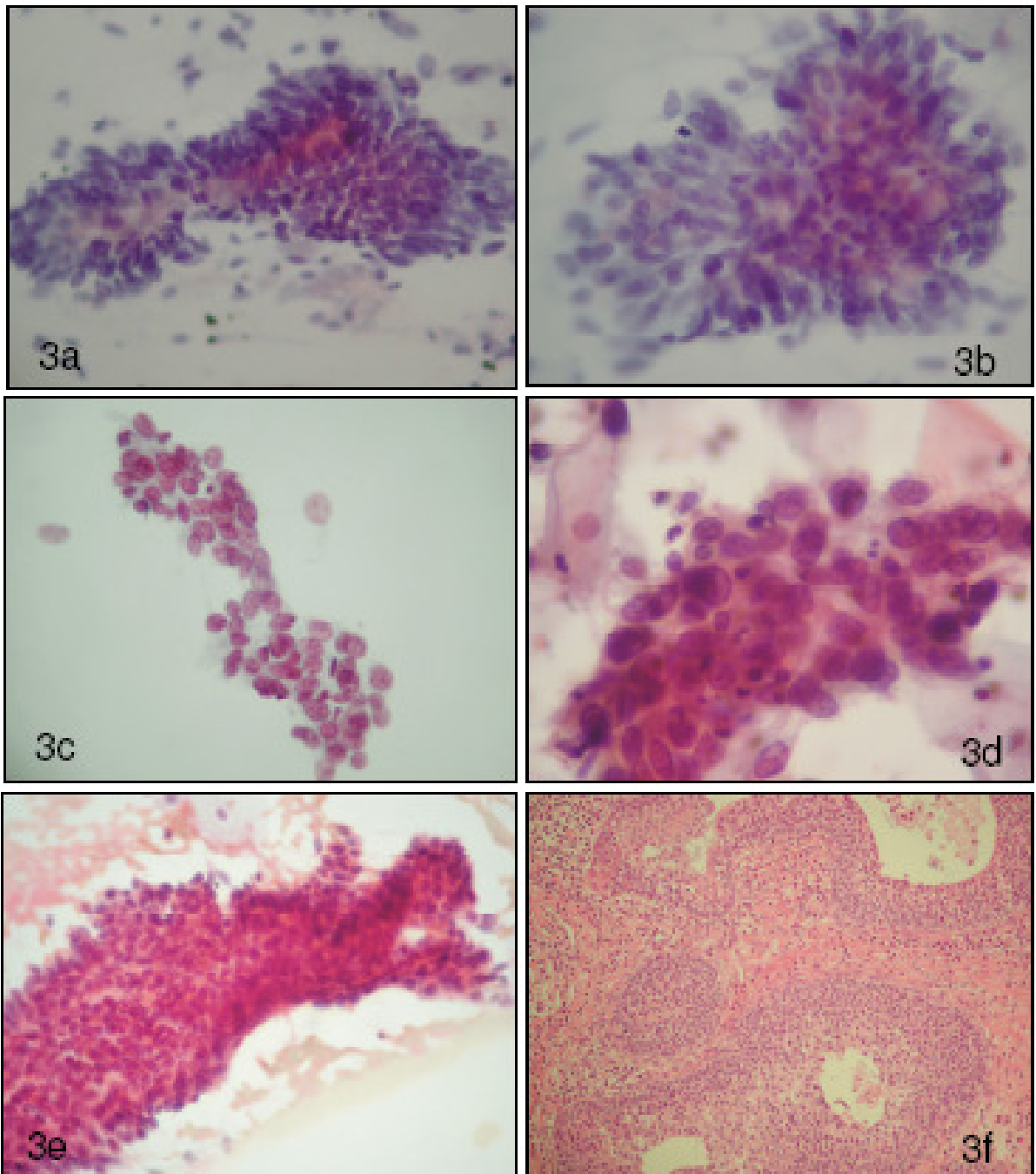


Figure 3 – a) Cytology: AIS; Histology: AIS (Papanicolaou 200X). Feathering and cells showing elongated nuclei. b) Cytology: AIS; Histology: AIS (Papanicolaou 200X). Central cell polarity in cellular groupings. c) Cytology: AIS + NIC 2; Histology: NIC 3 (Papanicolaou 200X). Pale nuclear appearance and architectural groups interpreted as rosettes. d) Cytology: AIS ; Histology: NIC 3 (Papanicolaou 400X). Pale nuclear appearance and presence of fine cytoplasmic vacuoles mime glandular origin. e) Cytology: AIS + ASCUS; Histology: NIC 3 with glandular extension. (Papanicolaou 200X). Dense cell grouping. f) Histology: NIC 3 with glandular extension (Papanicolaou 100X).