

MARIA CRISTINA DO AMARAL WESTIN

**CÉLULAS GLANDULARES ATÍPICAS E ADENOCARCINOMA
"IN SITU" DE ACORDO COM A CLASSIFICAÇÃO DE
BETHESDA 2001: ASSOCIAÇÃO CITO-HISTOLÓGICA**

Dissertação de Mestrado

**ORIENTADOR: Prof. Dr. LUIZ CARLOS ZEFERINO
CO-ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. SILVIA HELENA RABELO DOS SANTOS**

**Unicamp
2009**

MARIA CRISTINA DO AMARAL WESTIN

**CÉLULAS GLANDULARES ATÍPICAS E ADENOCARCINOMA
"IN SITU" DE ACORDO COM A CLASSIFICAÇÃO DE
BETHESDA 2001: ASSOCIAÇÃO CITO-HISTOLÓGICA**

Dissertação de Mestrado apresentada à
Pós-Graduação da Faculdade de Ciências
Médicas da Universidade Estadual de
Campinas para obtenção do Título de
Mestre em Tocoginecologia, área de
Ciências Biomédicas

ORIENTADOR: Prof. Dr. LUIZ CARLOS ZEFERINO
CO-ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. SILVIA HELENA RABELO DOS SANTOS

**Unicamp
2009**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

W527c Westin, Maria Cristina do Amaral
Células glandulares atípicas e adenocarcinoma “in situ” de acordo com a classificação de Bethesda 2001: Associação cito-histológica / Maria Cristina do Amaral. Campinas, SP: [s.n.], 2009.

Orientadores: Luiz Carlos Zeferino, Sílvia Helena Rabelo dos Santos

Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Colo uterino. 2. Adenocarcinoma. 3. Neoplasia do colo uterino. 4. Neoplasia intra-epitelial cervical. 5. Carcinoma escamoso. 6. Esfregaço cervical. I. Zeferino, Luiz Carlos. II. Santos, Sílvia Helena Rabelo dos. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Título em inglês: Atypical glandular cells and adenocarcinoma in situ according to the Bethesda 2001 classification: Cytohistological correlation

Keywords:

- Uterine cervix
- Adenocarcinoma
- Uterine cervix, neoplasia
- Cervical intraepithelial neoplasia
- Carcinoma, squamous cell
- Cervical smear

Titulação: Mestre em Tocoginecologia
Área de concentração: Ciências Biomédicas

Banca examinadora:
Prof. Dr. Luiz Carlos Zeferino
Prof. Dr. Julio César Teixeira
Prof. Dr. Celso Di Loreto

Data da defesa: 10-06-2009

Diagramação e arte-final: Seção de Apoio Técnico e Científico do CAISM (ASTEC)

BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluna: MARIA CRISTINA DO AMARAL WESTIN

Orientador: Prof. Dr. LUIZ CARLOS ZEFERINO

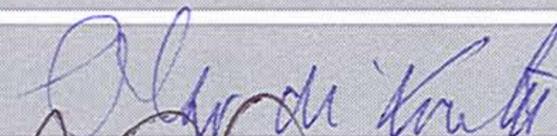
Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. SILVIA HELENA RABELO DOS SANTOS

Membros:

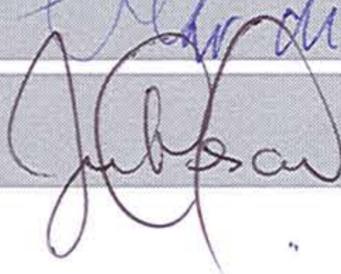
1.



2.



3.



Curso de Pós-Graduação em Tocoginecologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas

Data: 10/06/2009

200916694

Dedico este trabalho...

*Aos meus pais,
Lydia e Philippe.*

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Luiz Carlos Zeferino pelas oportunidades que me proporcionou, entre elas esta dissertação, acreditando em meu trabalho; pela orientação, ensinamentos, exemplos de conduta profissional e amizade.

À Profª. Drª. Silvia Helena Rabelo dos Santos pelo incentivo, apoio, entusiasmo, colaboração, disponibilidade, conhecimentos científicos, qualidades humanas, mas principalmente por ter-me aceito como sua amiga.

A todos os que me apontaram o caminho, minha gratidão.

Este trabalho não seria possível sem o esforço conjugado das pessoas que me apoiaram para além do esperado.

André A. da Silva, Ângela P. Guarino, Denise R. Pita L. de Moraes, Douglas M. Montis, Eliana Borin L. Montemor, Eliane Zambelli, Elisabete A. Campos, Prof. Dr. Gustavo de Souza, Profª. Drª. Joana F. B. Bastos, Prof. Dr. José Antônio Simões (in memoriam), Prof. Dr. José Guilherme Cecatti, Prof. Dr. Luis Otávio Z. Sarian, Márcia Ávila, Márcia Iório, Margarete Donadon, Profª. Drª. Rita G Amaral, Sirlei Moraes, Profª. Drª. Sophie F. M. Derchain e todos os funcionários do Laboratório de Citopatologia do CAISM.

Às mulheres que, confiando em nosso trabalho, participaram deste estudo.

*“A mente que se abre a uma nova idéia jamais
voltará ao seu tamanho original”*

ALBERT EINSTEIN

Sumário

Símbolos, Siglas e Abreviaturas	viii
Resumo	x
Summary	xiii
1. Introdução	16
2. Objetivo	30
3. Publicação.....	31
4. Conclusões	55
5. Referências Bibliográficas.....	56
6. Anexos	64
6.1. Anexo 1 – Consentimento Informado.....	64
6.2. Anexo 2 – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa	67

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

DA DISSERTAÇÃO

- AGC** – Células glandulares atípicas
- AGC-FN** – Células glandulares atípicas favorecendo neoplasia
- AGC-SOE** – Células glandulares atípicas sem outras especificações
- AGUS** – Células glandulares atípicas de significado indeterminado
- AIS** – Adenocarcinoma *in situ*
- ASCUS** – Células escamosas atípicas de significado indeterminado
- CAISM** – Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher
- CH II** – Captura de híbridos tipo dois
- DNA** – Ácido desoxirribonucleico
- HPV** – *Papilomavírus humano*
- HSIL** – Lesão intraepitelial escamosa de alto grau
- IC** – Intervalo de confiança
- NIC** – Neoplasia intraepitelial cervical
- OR** – *Odds ratio*
- PCR** – Reação em cadeia da polimerase
- UNICAMP** – Universidade Estadual de Campinas

Formatado: Fonte: (Padrão)
Arial, Itálico

DA PUBLICAÇÃO

AGC-NOS – *Atypical glandular cells not otherwise specified*

AGC-FN – *Atypical glandular cells favor neoplastic*

AIS – *Adenocarcinoma in situ*

ASCCP – *American Society for Colposcopy and Cervical Pathology*

ASC-US – *Atypical squamous cells of undetermined significance*

CI – *Confidence interval*

CIN – *Cervical intraepithelial neoplasia*

HSIL – *High grade squamous intraepithelial lesions*

LSIL – *Low grade squamous intraepithelial lesions*

OR – *Odds ratio*

TBS – *The Bethesda System*

Resumo

Introdução: Há evidências de que a incidência do adenocarcinoma do colo do útero tem aumentado, apesar dos programas de rastreamento. Foi a classificação do Sistema de Bethesda, em 1988, que incluiu o diagnóstico citológico relativo às células glandulares atípicas, que não estava presente nas classificações anteriores. Em sua revisão de 2001, o Sistema de Bethesda propôs a subclassificação do diagnóstico citológico de Anormalidades em Células Glandulares em: células glandulares atípicas sem outras especificações (AGC-SOE), células glandulares atípicas favorecendo neoplasia (AGC-FN) e adenocarcinoma *in situ* (AIS). Os diagnósticos citológicos de AGC constituem um problema clínico em consequência da falta de critérios citomorfológicos bem definidos para sua interpretação, do alto grau de variabilidade interobservador e da falta de achados colposcópicos característicos. O diagnóstico citológico de AIS, embora preditivo de neoplasia glandular, não pode diferenciar de modo preciso entre as formas *in situ* e invasiva, as quais só podem ser confirmadas pela histologia. Há, na literatura, divergentes opiniões quanto à utilidade desta subclassificação e sua análise é de grande relevância para prática clínica. **Objetivo:** Analisar a associação entre a classificação citológica do Sistema de Bethesda 2001 para as anormalidades do epitélio

glandular cervical e o resultado histológico. **Métodos:** O estudo foi do tipo corte transversal analítico, prospectivo, realizado no Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher (CAISM), UNICAMP, entre 2002 e 2005, e incluiu uma série consecutiva de 155 mulheres com anormalidades glandulares endocervicais no exame citológico. Destas, 91 mulheres foram incluídas por AGC-SOE, 15 por AGC-FN; 14 por AIS e 35 por diagnóstico combinado de AGC associada à lesão escamosa intraepitelial de alto grau (HSIL). Os diagnósticos de AGC e AIS foram confirmados por dois observadores, de acordo com Sistema de Bethesda 2001. As mulheres com alterações glandulares, de origens outras que não endocervical, não foram incluídas no estudo. No primeiro atendimento foi colhido um segundo esfregaço cervical e realizada colposcopia em todas as mulheres. Foi realizada biópsia ou conização naquelas pacientes que tinham indicação, de acordo com a rotina assistencial do serviço. Todas as mulheres incluídas foram submetidas à ecografia pélvica. A magnitude da associação entre o diagnóstico citológico das anormalidades glandulares e o diagnóstico histológico foi estimada utilizando-se *Odds ratio* (OR), com respectivo intervalo de confiança (IC) de 95%.

Resultados: Das 155 mulheres admitidas no estudo, 126 tiveram avaliação histológica. Tomando-se como referência AGC-SOE, os diagnósticos citológicos de AGC-FN e AIS foram significativamente associados com os resultados histológicos de neoplasia escamosa (NIC 2 ou pior diagnóstico) ou adenocarcinoma (*in situ* ou invasivo) com valores de *odds ratio* respectivamente de 10,50 (95% IC: 2,94–37,55) e 156,00 (95% IC: 17,72–1373,46). Tomando-se como referência AGC-FN, o diagnóstico citológico de AIS foi significativamente associado com os resultados histológicos de neoplasia escamosa ou adenocarcinoma (OR=14,86; 95% IC:

1,53-144,23). Uma associação similar foi observada considerando-se os resultados histológicos de adenocarcinoma (*in situ* ou invasivo). Nenhuma associação foi observada para neoplasia escamosa analisada isoladamente. Os resultados histológicos de NIC 2 ou pior diagnóstico foram fortemente associados com AGC quando a lesão de alto grau (HSIL) também estava presente (OR=57,60; 95%IC: 18,25–181,76), mas nenhuma associação foi observada com resultado histológico de adenocarcinoma. **Conclusões:** Há uma associação significativa entre as subclassificações da categoria de anormalidades em células glandulares de origem endocervical, propostas pelo Sistema de Bethesda 2001, e diagnósticos histológicos significativos, pois os diagnósticos citológicos de AGC-SOE, AGC-FN e AIS indicam um aumento progressivo de risco para adenocarcinoma. A presença de HSIL associada à AGC representa maior probabilidade de neoplasia escamosa, mas não de adenocarcinoma.

Summary

Introduction: There is evidence indicating that incidence of cervical adenocarcinoma has been increasing, despite the screening programs. The cytological diagnosis of atypical glandular cells, absent from previous versions, was included in the 1988 edition of the Bethesda System (TBS). In its review of 2001, the TBS has proposed the sub-classification of the cytological diagnosis of glandular cells abnormalities as: atypical glandular cells not otherwise specified (AGC-NOS), atypical glandular cells favor neoplastic (AGC-FN) and adenocarcinoma in situ (AIS). The usefulness of the sub-classification of cytological diagnosis as atypical glandular cells not otherwise specified (AGC-NOS), atypical glandular cells favor neoplastic (AGC-FN) and adenocarcinoma in situ (AIS), as proposed in the 2001 TBS, is a controversial issue, but of great importance in clinical practice. AGC in cervical smears constitutes a clinical problem due to the lack of well-defined cytomorphological criteria for the interpretation of this finding, the high degree of interobserver variability and the lack of characteristic colposcopic features. Moreover, cytological AIS cannot specifically differentiate between AIS and invasive adenocarcinoma, which can only be confirmed by histology. **Objective:** to analyze the association between the 2001 TBS classification of glandular abnormalities

and the histological outcome. **Method:** This cross-sectional and prospective study was conducted at the Center of Health Care of Women (CAISM), UNICAMP, between 2002 and 2005. The sample comprises a series of 155 women with glandular abnormalities in cervical smear. Of those, 91 women were included due to AGC-SOE, 15 due to AGC-FN, 14 due to AIS and 35 for AGC combined with high grade squamous intraepithelial lesions (HSIL). The diagnoses of AGC and AIS were confirmed by two observers according to the TBS 2001. Women with changes of glandular origin other than endocervical were excluded. In their first visit, a second cervical sample was collected from all women, and colposcopy was performed. A biopsy or a conization was performed when necessary, according to CAISM's protocols. All women underwent pelvic ultrasonography. Odds ratios (OR) with 95% confidence interval (95% CI) were used to evaluate the magnitude of the association between the cytological diagnosis of the glandular abnormalities and the significant histologic diagnosis. **Results:** Of the 155 women admitted to the study, 126 were submitted to histological examination. Taking as reference AGC-NOS, the cytological diagnosis of AGC-FN and AIS were significantly associated with the histological outcome of squamous neoplasia (CIN or worse) or adenocarcinoma (*in situ* or invasive) with OR values of 10.50 (95% CI: 2.94–37.55) and 156.00 (95% CI: 17.72–1373.46), respectively. Taking as reference AGC-FN, the cytological diagnosis of AIS was significantly associated with the histological outcome of squamous neoplasia or adenocarcinoma (OR=14.86; 95%CI: 1.53-144.23). Similar associations were observed for the histological outcome of adenocarcinoma, but no association was observed for only squamous neoplasia. Histological outcome of CIN2 or worse was strongly

associated with AGC when HSIL was also present (OR = 57.60; 95% CI: 18.25–181.76), but no association was observed with adenocarcinoma as the stand-alone histological outcome. **Conclusions:** There is an association between the sub-classification of glandular cells abnormalities of endocervical origin proposed by 2001 TBS with significant histological outcomes. The cytological diagnoses of AGC-NOS, AGC-FN and AIS were progressively associated with adenocarcinoma. The histological outcome of squamous neoplasia is frequent but does not differ from these cytological interpretations. The presence of HSIL associated with AGC was associated with a greater probability of squamous neoplasia, but not adenocarcinoma.

1. Introdução

O câncer de colo uterino é um importante problema de saúde pública, principalmente em países em desenvolvimento como o Brasil. As taxas de incidência e mortalidade ajustadas por idade, segundo a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) (1) são de 23,4/100.000 e 10,2/100.000. É ainda o segundo tipo de câncer da mulher mais incidente no mundo, e, no Brasil, sem considerar os tumores de pele não melanoma, o câncer do colo do útero é o mais incidente na região Norte (22/100.000). Nas regiões Sul (24/100.000), Centro-Oeste (19/100.000) e Nordeste (18/100.000) ocupa a segunda posição mais frequente e no Sudeste (18/100.000) a quarta posição (1,2,3).

Nos últimos 40 anos, a incidência relativa e absoluta do adenocarcinoma, comparado ao carcinoma escamoso do colo do útero, tem variado nos Estados Unidos e Europa Ocidental. Dados das décadas de 1950 e 1960 indicavam que aproximadamente 95% de todos os carcinomas cervicais invasivos eram do tipo escamoso, sendo o segundo tipo histológico mais comum, os adenocarcinomas, responsáveis por apenas 5% do total dos casos. Dados do início da década de

1970 indicam que os adenocarcinomas representam de 20% a 25% do total de carcinomas cervicais invasivos, enquanto que os carcinomas escamosos ocorrem em 75% a 85% dos casos (4). De fato, há registros de que esta incidência duplicou nos Estados Unidos (4) e Suécia (5), triplicou na Noruega (6), quadruplicou no Canadá (7) e aumentou em até nove vezes na Inglaterra (8,9). Nos Estados Unidos, no período 1973-1976, o carcinoma escamoso e o adenocarcinoma correspondiam, respectivamente, a 87,6% e 12,4% dos casos, enquanto que no período 2001-2004, estes percentuais foram, respectivamente, 69,3% e 24,9% (4,10;11).

A história natural do adenocarcinoma do colo uterino mostra algumas semelhanças à do carcinoma escamoso, p. ex., em relação à existência de lesões precursoras e à associação com infecção por HPV de alto risco oncogênico (3,12). De fato, adenocarcinoma *in situ* (AIS) é considerado a lesão precursora do adenocarcinoma invasivo, equiparando-se ao carcinoma *in situ* escamoso (CIS). Entretanto as lesões em células glandulares atípicas (AGC), as quais por definição são menos graves do que AIS, não têm suas características citomorfológicas tão bem caracterizadas quanto as suas equivalentes escamosas, as neoplasias intraepiteliais cervicais (NIC) de graus 1 e 2 (10,13,14).

O declínio da incidência do carcinoma escamoso é claramente atribuído ao rastreamento citológico, o qual, no entanto, apresenta limitações na detecção de lesões glandulares cervicais. Por outro lado, a procura de melhora da amostragem endocervical e o melhor reconhecimento das atipias de células glandulares poderiam justificar, em parte, o aumento da taxa de incidência de adenocarcinoma *in*

situ (AIS). De qualquer forma, a relativa menor incidência de adenocarcinoma vai requerer um tempo maior para observar possíveis efeitos do rastreamento com os novos critérios para lesão do epitélio glandular (15-17).

Entre as possíveis razões para a menor efetividade do rastreamento para o adenocarcinoma do colo do útero em relação ao carcinoma escamoso estão a possibilidade de progressão mais rápida para a forma invasiva da doença e a menor sensibilidade do exame citológico para detecção de lesões precursoras de neoplasias glandulares, seja por erros de amostragem ou de interpretação (12,18) . Pacientes com diagnóstico histológico de AIS estão em faixa etária maior (média: 38,8 anos) quando comparadas a pacientes com neoplasia intraepitelial cervical (NIC) de grau 3, mais especificamente carcinoma *in situ* (média: 33,6 anos). Esta diferença não é observada para a forma invasora destas lesões, cuja média de idade ao diagnóstico está em torno de 51,7 anos para adenocarcinomas e 51,4 anos para carcinomas escamosos (19,20). Portanto, é possível que o AIS progrida mais rapidamente para adenocarcinoma invasivo. Plaxe e Saltzstein (19) observaram que o tempo de progressão para a forma invasiva é, em média, 13 anos para o adenocarcinoma, enquanto que para o carcinoma escamoso é, em média, 17,9 anos.

Os erros de amostragem basicamente são por escassa celularidade ou mesmo ausência de células representativas da lesão. A explicação para isso é que os adenocarcinomas e suas lesões precursoras, com frequência, localizam-se no canal cervical, além da junção escamo-colunar; como a zona de transformação migra para dentro do canal em mulheres após a menopausa, a

amostragem citológica endocervical está mais limitada. Outro fator importante é que o fundo das glândulas frequentemente é mais envolvido que a superfície, o que também pode afetar as amostragens citológica e histológica. Essas ocorrências podem deixar a lesão menos acessível à escova, limitando sua detecção precoce (4,12,20).

Os erros de interpretação relacionam-se ao fato de as lesões precursoras do adenocarcinomas serem consideravelmente menos definidas e pouco frequentes. As lesões glandulares têm uma taxa de 0,2% a 0,5% nos esfregaços cervicais enquanto as lesões precursoras escamosas têm taxa de 2% ou mais. Em consequência, a morfologia das lesões glandulares é menos conhecida, o que resultaria em uma pobre correlação entre os diagnósticos citológico e histopatológico (21-27).

Foi a classificação citológica do Sistema de Bethesda que incluiu os diagnósticos relacionados às células glandulares atípicas na classificação do exame citológico do colo do útero. As classificações prévias de Reagan e Richart referiam-se apenas às lesões escamosas. Desde então, tem sido dado maior valor à presença e avaliação das células endocervicais nos esfregaços citológicos. A avaliação da adequabilidade da amostra como parte do resultado do exame citológico e a criação da categoria diagnóstica *Células Glandulares Atípicas de Significado Indeterminado* pelo Sistema de Bethesda, em 1988, objetivaram evidenciar este diagnóstico citológico (28). A sigla AGUS, para representar esta lesão, foi introduzida na revisão do Sistema de Bethesda realizada em 1991 (29) (Quadro 1).

A obrigatoriedade da amostragem do canal endocervical e da zona de transformação foi importante para a melhoria da qualidade do rastreamento do câncer do colo uterino na década de 90 (7). Resultados positivos em relação à melhoria no rastreamento foram relatados por Mitchell et al. (23) e demonstraram que, a partir de 1994, houve uma diminuição no risco de adenocarcinoma do colo uterino associada com o resultado negativo do exame citológico com representação endocervical.

A categoria diagnóstica AGUS referia-se a anormalidades em células glandulares que excediam às observadas em processos reativos ou reparativos, mas que eram insuficientes para o diagnóstico definitivo de adenocarcinomas. Em 1991, houve a recomendação para que se qualificasse o diagnóstico de AGUS de acordo com o possível sítio anatômico, endocervical ou endometrial. Nos casos de anormalidades em células glandulares endocervicais havia a indicação para se qualificar o diagnóstico de AGUS como que sugerindo reatividade ou neoplasia (30). O diagnóstico de AGUS mostrou-se associado a lesões clinicamente mais significantes, impondo a adoção de conduta imediata para a avaliação diagnóstica definitiva (31) (Quadro 1).

Assim, o melhor conhecimento adquirido sobre o significado das células glandulares atípicas levou à introdução de mudanças nessa categoria diagnóstica na segunda revisão do Sistema de Bethesda, em 2001. A sigla AGUS foi abolida, dando lugar a células glandulares atípicas (AGC), a fim de evitar confusão com o diagnóstico de células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US), dado que o risco de uma lesão de alto grau é maior em mulheres

com AGC (25). De fato, de 9% a 38% das mulheres com AGC apresentam lesões significantes (NIC 2, NIC 3, AIS e câncer) e de 3% a 17% têm carcinomas invasivos (26,27,31).

AGC é subclassificado como *sem outras especificações* (SOE), ou *favorecendo neoplasia* (FN). A substituição do termo *AGUS provavelmente reativo* por AGC-SOE foi justificada, pois um considerável número de casos qualificados desta maneira revelava lesões de alto grau, incluindo um número significativo de carcinomas invasivos nas avaliações de seguimento (25). Além disto, a prevalência de lesões significantes detectadas em mulheres com diagnóstico de *AGUS provavelmente reativo* mostrou-se semelhante à encontrada nos casos de *AGC-SOE*. A classificação de AGUS-FN foi substituída por AGC-FN, sem incluir os critérios para adenocarcinoma *in situ* (AIS), que passou a ser uma categoria distinta. O novo diagnóstico citológico de AIS surgiu porque estaria associado a um alto percentual de diagnóstico de adenocarcinoma (26,30,32,33). O quadro a seguir apresenta o sumário das modificações dos diagnósticos citológicos das anormalidades de células glandulares nas três versões do Sistema de Bethesda (25,28,29).

QUADRO 1. SISTEMA DE BETHESDA

Evolução da Classificação das Alterações em Células Glandulares Endocervicais				
Versão	Denominação da Categoria	Subclassificações da Categoria	Sigla	Características citológicas
1988	Células glandulares atípicas de significado indeterminado	Não há	Não há	Anormalidades de células glandulares que excedem aquelas do processo reativo, mas são insuficientes para diagnóstico definitivo de adenocarcinoma
	Adenocarcinoma			
1991	Células glandulares atípicas de significado indeterminado (AGUS)	AGUS favorecendo processo reativo	AGUS-FR	Núcleo com ligeira variação em tamanho e forma e leve hiperchromasia
		AGUS favorecendo processo neoplásico	AGUS-FN	Células agrupadas em lençol, faixas ou rosetas com células em paliçada na periferia e bordos citoplasmáticos mal definidos, com núcleos apinhados, sobrepostos, com disposição em plumagem, variando na forma e tamanho, com cromatina granular, nucléolo discreto, raras mitoses e aumento da relação nucleocitoplasmática
Adenocarcinoma				
2001	Células glandulares atípicas (AGC) (aumento do nível de risco)	AGC sem outras especificações	AGC-SOE	Células agrupadas em lençol e faixas, com bordos citoplasmáticos distintos, núcleos com algum apinhamento e sobreposição, aumento de 3 a 5 vezes o tamanho normal com alguma variação na forma, discreta hiperchromasia, nucléolos podem estar presentes, raras mitoses, citoplasma abundante e aumento da relação nucleocitoplasmática
		AGC favorecendo processo neoplásico	AGC-FN	Células agrupadas em lençol e faixas, raramente apresentando rosetas e plumagem, citoplasma escasso, núcleos apinhados, sobrepostos e hiperchromáticos, bordos citoplasmáticos mal definidos, mitoses ocasionais e aumento da relação nucleocitoplasmática
	Adenocarcinoma <i>in situ</i>		AIS	Células em lençol, aglomerados, faixas e rosetas com apinhamento e sobreposição nuclear e perda do padrão em "favo de mel" com disposição em paliçada ou plumagem; raras células isoladas; núcleos polimórficos, alongados, hiperchromáticos, com cromatina grosseira e granular; nucléolo discreto, mitoses e corpos apoptóticos frequentes, aumento da relação nucleocitoplasmática, citoplasma e mucina muito reduzidos; fundo limpo
Adenocarcinoma				

O Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher (CAISM) da UNICAMP possui um Laboratório de Citopatologia que atende ao Sistema Único de Saúde de Campinas e região para rastreamento do câncer do colo uterino, realizando aproximadamente 300 mil exames por ano. Algumas pesquisas sobre anormalidades em células glandulares já foram realizadas através do Departamento de Tocoginecologia.

O primeiro estudo desenvolvido teve como objetivo avaliar a propedêutica em mulheres com AGUS (29) no resultado do exame citológico. Verdiani et al. (24) detectaram a prevalência de 0,2% de diagnósticos de AGUS em 443 casos de 217.245 avaliados pelo Laboratório de Citopatologia. Dessas 443 mulheres, 159 foram incluídas naquele estudo. Foram detectadas lesões cervicais graves (pré-neoplásicas e neoplásicas) em 62,2% dos casos submetidos à avaliação histológica. As mulheres que apresentaram o resultado da segunda citologia e da colposcopia normais foram acompanhadas sem a necessidade de realização de propedêutica mais agressiva. Com base nestes resultados, os autores concluíram que a repetição da citologia cervicovaginal e a colposcopia permitiram selecionar as mulheres que se beneficiariam com a avaliação histológica.

Posteriormente, considerando-se que o diagnóstico citológico de AGC é baseado em um conjunto de critérios citomorfológicos, como arquitetura dos agrupamentos celulares, características nucleares e citoplasmáticas, um melhor entendimento da associação desses critérios com o diagnóstico histológico poderia indicar com maior precisão as mulheres portadoras de neoplasias intraepiteliais e invasoras. Deste raciocínio resultou um segundo estudo com o

objetivo de estabelecer a correlação entre os critérios presentes em esfregaços qualificados como AGC e o diagnóstico de neoplasia intraepitelial ou invasiva, de qualquer origem. Além disso, esse estudo objetivou identificar critérios úteis na distinção entre neoplasia de origem escamosa e neoplasia de origem glandular. Em resumo, Torres et al. (34) analisaram, entre 27 critérios citomorfológicos, quais seriam os de maior valor para indicar diagnósticos neoplásicos e verdadeiramente glandulares. Estes autores observaram que o aumento da relação núcleo-citoplasmática e a presença de disqueratinócitos foram fortemente associados com neoplasias intraepitelial e invasiva, e os critérios diferenciais para neoplasias glandulares foram citoplasma escasso, membranas nucleares irregulares e presença de nucléolos.

Levando-se em conta que a neoplasia cervical, principalmente de origem escamosa, é o diagnóstico mais frequente em mulheres encaminhadas por anormalidades em células glandulares endocervicais (AGC) e também o papel do HPV na carcinogênese cervical, um terceiro estudo foi proposto. Teve como objetivo avaliar a relação entre o diagnóstico histológico de mulheres encaminhadas por anormalidades em células glandulares em seus esfregaços cervicais e a detecção de HPV de alto risco oncogênico. Como produto parcial deste projeto e para esclarecer a relação entre AGC e HPV, os autores inicialmente compararam os resultados do segundo exame citopatológico colhido como parte da rotina assistencial e os resultados da detecção do DNA do HPV por captura híbrida. Nesse estudo, publicado por Oliveira et al. (35), os autores indicaram que o DNA-HPV de alto risco oncogênico foi detectado em 100% das

mulheres com AIS, em 87% das mulheres com HSIL e em 11% das mulheres com resultado negativo na segunda citologia.

Ainda considerando a mesma linha de pesquisa, em um quarto estudo publicado Derchain et al. (26) detectaram a prevalência de 38% de DNA de HPV de alto risco no total das mulheres referenciadas com diagnóstico citológico de AGC e AIS. Entretanto, a prevalência de DNA de HPV em mulheres com diagnósticos histológicos de NIC 2 ou NIC 3, AIS e carcinomas invasivos (incluindo carcinomas escamosos e adenocarcinomas) foi respectivamente de 96%, 75% e 85%. Com estes resultados, os autores indicaram que um teste HPV negativo em mulheres encaminhadas por AGC ou AIS fornece uma segurança considerável de que a mulher não é portadora de neoplasia intraepitelial cervical (NIC), AIS ou câncer cervical.

Considerando que as lesões histopatológicas glandulares são detectadas em mulheres encaminhadas para a colposcopia devido a um resultado citopatológico de lesão intraepitelial escamosa de alto grau e que as cargas virais são menores em lesões glandulares, visto que o epitélio glandular não suporta uma infecção produtiva e o DNA do HPV nestas lesões está usualmente presente na forma integrada (36), Oliveira et al. (37) ampliaram a análise não somente a mulheres encaminhadas por anormalidades em células glandulares, mas também por anormalidades em células escamosas, especificamente alterações escamosas de alto grau. Nesse quinto estudo, os autores avaliaram se a carga viral, associada com os resultados do exame citopatológico, poderia prever a presença e o padrão histopatológico (escamoso ou glandular) da lesão. Os resultados

mostraram que a detecção de HPV correlacionou-se fortemente com a presença de lesões confirmadas pelo exame histopatológico. Entretanto, um resultado positivo do teste HPV não foi capaz de prever o padrão histopatológico da lesão, pois houve uma prevalência muito alta do vírus, tanto em neoplasias glandulares quanto em neoplasias escamosas, e não houve diferenças significativas em relação à análise dos valores de carga viral.

De fato, lesões escamosas são mais frequentes do que lesões glandulares em mulheres encaminhadas por AGC. Em contrapartida, lesões glandulares são mais frequentes em mulheres encaminhadas por AIS (38-42). Existem critérios morfológicos definidos para diagnósticos citológicos de AGC e AIS. Neste sentido, Rabelo-Santos et al. (43) publicaram um sexto estudo analisando a correlação entre os critérios citomorfológicos presentes em esfregaços de mulheres com AGC e AIS, os resultados do teste HPV por captura híbrida e os diferentes resultados histopatológicos, também com o objetivo de verificar a possibilidade da distinção entre neoplasias escamosas e glandulares. Este estudo indicou que o critério citomorfológico plumagem foi preditivo de neoplasia glandular, independentemente da presença de infecção por HPV. Outros critérios citomorfológicos também foram associados com neoplasia glandular, mas, na ausência de plumagem, a capacidade dos mesmos de distinguir entre neoplasias escamosas e glandulares é altamente questionável.

Assim, as várias análises publicadas pelo grupo na linha de pesquisa de anormalidades em células glandulares endocervicais indicaram que o teste de HPV não discrimina entre lesões cervicais escamosas e glandulares.

É fato que o risco de neoplasia cervical está associado com a infecção por tipos específicos de HPV. O HPV 18 está associado principalmente com neoplasia glandular, enquanto o HPV 16 é mais frequente em neoplasia escamosa, embora também esteja associado à neoplasia glandular. A maioria dos outros tipos de HPV de alto risco oncogênico também é mais associada à neoplasia escamosa (36, 42, 44-48). Considerando que os epitélios glandular e metaplásico são derivados de células de reserva, alvos preferenciais da infecção por HPV, então a infecção por tipos específicos de HPV poderia ser responsável pelas desordens iniciais manifestadas durante o estágio de hiperplasia de células de reserva, uma fase inicial no processo carcinogênico envolvendo os epitélios escamoso e glandular (20,49). Assim, Rabelo-Santos et al. (50) delinearam um novo estudo para avaliar se a identificação por reação em cadeia da polimerase (PCR) de tipos específicos de HPV poderia prever neoplasia glandular ou neoplasia escamosa em mulheres encaminhadas por anormalidades em células glandulares em seus esfregaços cervicais. Os resultados desse estudo indicaram que a detecção de HPV 18 pode prever neoplasia glandular; contudo quando o HPV 16 está presente, tanto neoplasias glandulares quanto escamosas podem ser detectadas.

Variantes de HPV caracterizam-se por apresentar uma similaridade nucleotídica de mais de 98% em regiões específicas do genoma viral em relação a um protótipo de mesmo tipo. As variantes de HPV 16 são qualificadas como europeias, asiáticas, ágio-americanas e africanas, sendo as europeias consideradas protótipos. A diversidade intratípica do HPV 18 possui

similaridades à do tipo 16, sendo as variantes qualificadas como europeias, africanas e ázio-amerindianas (51,52). As variantes do HPV diferem biologicamente e podem estar associadas ao tipo histopatológico da lesão. Assim, era importante analisar se o padrão histopatológico da lesão em mulheres encaminhadas por anormalidades em células glandulares estava associado a variantes dos tipos 16 e 18, que foi o objetivo do sétimo estudo também desenvolvido pelo grupo de pesquisa (53). Os autores mostraram que as lesões neoplásicas de mulheres com anormalidades em células glandulares em seus esfregaços cervicais podem, em parte, ser explicadas pelas variantes do HPV 16. A variante ázio-americana do HPV 16 foi significativamente associada com adenocarcinoma cervical, enquanto que variantes europeias do HPV 16 foram muito mais frequentes em neoplasias escamosas.

Os autores levantaram a hipótese de que o processo carcinogênico poderia tomar duas vias, uma para neoplasia escamosa e outra para neoplasia glandular. Se o HPV 18 está presente, a via preferencial seria a glandular. Quando é o HPV 16 que está presente, as variantes devem ser consideradas: se for a ázio-americana, a via preferencial é a glandular, se for a europeia, a via preferencial é a escamosa.

Portanto, o grupo acumulou um significativo conhecimento morfológico e clínico sobre as lesões glandulares do epitélio do colo do útero e sua relação com a infecção por HPV. Faltava uma análise que poderia evidenciar a correlação cito-histopatológica e a importância clínica das subclassificações propostas pelo Sistema de Bethesda revisado em 2001.

Na literatura corrente, existem diferentes opiniões a respeito da utilidade da subclassificação da categoria Células Glandulares Atípicas, proposta pelo Sistema de Bethesda 2001. Scheiden et al. (40) argumentam que uma subclassificação mais detalhada da categoria AGC pode ser um fator adicional na discrepância entre os resultados citológicos e histológicos, uma vez que os critérios morfológicos não são totalmente definidos. Por razões semelhantes, Syrjanen (21) argumenta que esta nova nomenclatura não resolve o problema básico de como melhorar a acurácia do diagnóstico citológico de AIS e suas lesões precursoras. Por outro lado, Tam et al. (31) argumentam que há utilidade na subclassificação do diagnóstico de anormalidades em células glandulares e que esta nova classificação é coerente com as recomendações para a conduta clínica destas pacientes. De fato, persistem controvérsias diagnósticas e clínicas sobre o tema, ainda que em 2004 tenha sido publicado um atlas que descreveu mais detalhadamente os critérios citomorfológicos do Sistema de Bethesda de 2001(54).

O presente estudo foi desenhado para avançar no conhecimento a respeito das questões relacionadas à utilidade da subclassificação do diagnóstico de anormalidades em células glandulares endocervicais.

2. Objetivo

Analisar a associação entre a subclassificação citológica do Sistema de Bethesda 2001 para as anormalidades glandulares endocervicais com o diagnóstico histológico.

3. Publicação

Atypical Glandular Cells and Adenocarcinoma in Situ According to the Bethesda 2001 Classification: Cytohistological Correlation and Clinical Implications

Maria Cristina do Amaral Westin*, Sophie FM Derchain*, Silvia Helena Rabelo-Santos*# Liliana AL Angelo-Andrade*, Luis Otávio Sarian*, Eliane Regina Z.M.Oliveira*, Luiz Carlos Zeferino*

*Department of Obstetrics and Gynecology and Department of Pathology, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Brazil.

#School of Pharmacy, Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, Brazil

Support: Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, grant 02/697-7)

Corresponding author:

Luiz Carlos Zeferino

Rua Alexander Fleming, 101

Faculdade de Ciências Médicas, CAISM - UNICAMP

13.083-970 –CAMPINAS – SP, Brazil

Telephone: (55-19) 35217138/ Fax: (55-19) 35218010

E-mail: zeferino@fcm.unicamp.br

Código de campo alterado

Running Headline: Endocervical Glandular Abnormalities

Condensation

The sub-classification of the diagnosis of endocervical glandular abnormalities defined in the 2001 Bethesda System is clinically relevant.

Abstract

Background: The objective of this study was to evaluate the correlation between the 2001 Bethesda classification of endocervical glandular abnormalities and histological diagnosis. *Methods:* A series of 155 women with endocervical glandular abnormalities on cervical smears were included: 91 with Atypical Glandular Cells (AGC) not otherwise specified (NOS), 15 with AGC-favor neoplastic (FN); 35 with AGC associated with high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) as combined diagnosis and 14 with adenocarcinoma *in situ* (AIS). *Results:* Histological outcome of squamous neoplasias (CIN 2 or worse) and adenocarcinoma were significantly associated with AGC-FN and AIS, taking as reference AGC-NOS, and more associated with AIS than AGC-FN. Similar associations were observed for histological outcome of adenocarcinoma, but no association was observed for only squamous neoplasia. Histological outcome of CIN2 or worse was stronger associated with AGC when HSIL was also present, but no association was observed with only for adenocarcinoma histological outcome. *Conclusions:* AGC-NOS, AGC-FN and AIS cytological diagnosis represent a progressively increasing association with neoplastic diagnosis, due to progressively increasing association with adenocarcinoma. Histological outcome of squamous neoplasia is frequent but not differ with these cytological interpretation. The presence of HSIL associated with AGC represents greater probability of squamous neoplasia but not adenocarcinoma.

Keywords: uterine cervix; adenocarcinoma; cervical intraepithelial neoplasia, squamous carcinoma; cervical smear.

1. Introduction

The Bethesda System has undergone two revisions to improve the clinical relevance of its diagnostic categories [1, 2]. The changes made in the last revision (2001) classified endocervical glandular cell abnormalities less severe than invasive adenocarcinoma into three categories: Atypical Glandular Cells (AGC) not otherwise specified (NOS), AGC favor neoplastic (FN) and adenocarcinoma *in situ* (AIS). These changes in terminology were introduced with the objective of increasing detection of a significant pathology in women with cytological glandular abnormalities [3, 4, 5, 6].

The wide variety of significant histological findings in women with endocervical AGC justifies immediate management and squamous neoplasia is more frequently revealed than glandular neoplasia by histological examination [7-11]. Biopsy-confirmed cervical intraepithelial neoplasia (CIN) 2 or CIN 3 have been reported in 9-41% of women with the initial diagnosis of AGC not otherwise specified (NOS), and in 27-96% of women diagnosed with AGC favor neoplastic (FN). In addition, 0-8% of patients receiving a cytological diagnosis of AGC will indeed have biopsy-confirmed adenocarcinoma *in situ* (AIS), and 1-9% will be diagnosed with invasive carcinoma [3, 7]. The cytological interpretation of AIS is more frequently associated with the histological diagnosis of glandular neoplasia, either AIS (48-69%) or invasive cervical adenocarcinoma (38%) [3, 8].

AGC in cervical smears constitutes a clinical problem due to the lack of well-defined cytomorphological criteria for the interpretation of this finding, the high degree of interobserver variability and the lack of characteristic colposcopic features [8, 12, 13]. In such cases, the wide variation in the frequency of biopsy-

confirmed cervical intraepithelial neoplasia (CIN) 2 or CIN 3 observed among studies is a consequence of this problem. Moreover, cytological AIS cannot specifically differentiate between AIS and invasive adenocarcinoma, which can only be confirmed by histology [1, 6, 7, 14].

There have been different opinions on the usefulness of the sub-classification of cytological glandular abnormalities. In this study, we analysed the correlation of glandular abnormalities less severe than invasive adenocarcinoma - associated or not with high grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) - with the histological outcome. We aimed at adding some information to the growing body of literature related to the usefulness of the sub-classification of glandular cell abnormalities according to the 2001 Bethesda System.

2. Material and methods

2.1 Case selection

A series of 155 women with cervical smears suggestive of glandular abnormalities of endocervical origin, including AGC and AIS, who attended the Colposcopy Clinic at the State University of Campinas, Brazil between March 2002 and March 2005 were enrolled in this prospective study. The study's protocol was approved by the institution's Internal Review Board and all women selected voluntarily signed an informed consent form prior to enrollment. Prior to study inclusion, the conventional cervical smears of all patients were revised by two observers in accordance with the 2001 Bethesda System - TBS [4, 15, 16] and the final cytological diagnoses were established by consensus. The women

Formatado: Fonte: (Padrão)
Arial, Negrito, Inglês (EUA)

with cervical smears showing glandular abnormalities of origins other than endocervical were excluded, including those cases of undetermined origin.

Following enrollment, all patients underwent colposcopy, and a second cervical smear was carried out during the first study visit. Biopsies were performed whenever a suspicious image was found. Cervical conization was carried out whenever cervical biopsy was judged to be insufficient for establishing a diagnosis, when either AIS or AGC was diagnosed in the initial cervical smear and in the cases in which patients had a negative or unsatisfactory colposcopy together with an abnormal second cervical smear. Histological specimens were obtained from punch biopsies or cone biopsies (cold knife or loop electrosurgical excision procedures). All women underwent pelvic ultrasound and women suspected of having endometrial abnormalities were subjected to uterine curettage. Women found to have invasive cervical or endometrial carcinoma were given standard care and treatment.

Of the 155 women admitted to the study, 126 were submitted to histological examination. When a woman underwent more than one histological examination, the most severe diagnosis was considered for the purposes of this analysis. The remaining 29 women with a satisfactory negative colposcopic evaluation and a negative second cervical smear were scheduled for routine control visits every 4 months. They were therefore considered free of neoplasia and were analyzed together with the other 53 cases that received a negative histological diagnosis for neoplasia.

2.2 Histopathology

Biopsy specimens were stained with hematoxylin and eosin (HE), reviewed according to the WHO's criteria [17] and classified as: CIN 1, CIN 2, CIN 3, invasive squamous carcinoma, adenocarcinoma in situ, invasive cervical adenocarcinoma, and endometrial adenocarcinoma. All the histological analyses were carried out in the local Laboratory of Pathology, and diagnosis was always established by the same pathologist, who was unaware of the cytological diagnoses.

2.3 Statistical analysis

All statistical analyses were carried out using the SAS software program, version 8.0. Odds ratios (OR) with 95% confidence interval (95% CI) were used to evaluate the magnitude of the association between the cytological diagnosis of the glandular abnormalities and significant histologic diagnosis.

3. Results

The table 1 shows the distribution of histological diagnoses according to cytological diagnosis. Squamous neoplasia was histologically confirmed in 36% (56/155) and glandular neoplasia in 11% (17/155) of the cases. AGC-NOS revealed squamous neoplasia in 21% of the cases (19/91), being 8% (7/91) of CIN 2 or worse (Figure 1A). There were no cases of adenocarcinoma among women with AGC-NOS. Of the 14 biopsy-proven CIN 1, 12 occurred in women with cytological AGC-NOS. AGC-FN revealed CIN 2 or worse squamous

neoplasia in 20% of cases (3/15), and invasive adenocarcinoma in 27% of cases (4/15) (Figure 1B and 2A).

Thirty-five patients had a combined diagnosis of AGC (19 NOS and 16 FN) and HSIL. When the sub classification AGC-NOS was associated with HSIL, the prevalence of neoplastic diagnoses detected in the histological specimen was 89% (17/19) and consisted exclusively of CIN 2 and CIN 3. When AGC-FN was associated with HSIL, the prevalence of histological diagnosis of neoplasia was 100% (16/16), of which 88% were CIN 2 and CIN 3 (Table 1; Figure 2B).

Among 14 women with cytological AIS, four (29%) had AIS confirmed by histology, and invasive adenocarcinoma was confirmed in seven cases (50%); however, these neoplasias were minimally invasive and/or well differentiated (Figures 3A, 3B). Two women initially diagnosed with AIS by cytology had squamous neoplasia at histology, while the remaining patient received a histological diagnosis of microglandular hyperplasia associated with adenomyosis (Table 1). One woman showed cytological AIS associated with HSIL and the final histological diagnosis revealed adenocarcinoma *in situ* associated with CIN3.

Histological outcome of squamous neoplasias (CIN 2 or worse) and adenocarcinoma were significantly associated with AGC-FN (OR=10.50; 95%CI 2.94-37.55) and AIS (OR=156.00; 95% CI 17.72-1373.46), taking as reference AGC-NOS. Significant associations also were observed regarding AIS when compared with AGC-FN (OR= 14.86; 95%CI 1.53-144.23). Similar associations were observed between these cytological diagnoses and the histological outcome of only adenocarcinoma. The association of CIN2 or worse squamous

neoplasia with AGC-NOS, AGC-FN and AIS cytological diagnoses did not show any significant difference (Table 2).

Histological outcome of CIN2 or worse was stronger associated with AGC (NOS or FN) when HSIL was also present (OR=57.60; CI95%=18.25-181.76), and similar associations were observed when the cases of adenocarcinoma were included (OR=140.19; 95%CI 34.19-574.83) (Table 2). Conversely, the presence of HSIL with AGC (NOS or FN) did not show any significant association with adenocarcinoma (OR=1.55; 95%CI 0.27-8.82) (Table 2).

4. Discussion

According to the results of this study, the Bethesda sub-classification of endocervical glandular abnormalities indeed reflects different rates of association with the outcome of squamous or glandular neoplasia. AGC-NOS, AGC-FN and AIS cytological diagnosis represent a progressively increasing association with neoplastic diagnosis, due to progressively increasing association with adenocarcinoma. Histological outcome of squamous neoplasia is frequent but do not differ with these cytological interpretations. The presence of HSIL associated with AGC denotes a greater probability of squamous neoplasia but not adenocarcinoma.

Gurbuz et al. (2005) [18] evaluated clinical significance of glandular abnormalities on cervical smear to compare the Bethesda System (TBS) 2001 with the 1991 revision and to determine whether there was any improvement in the cytohistological correlation by the new system. They observed that the new terminology is more likely to suggest a clinically significant lesion than TBS

1991. In addition, Confortini et al. (2006) [19] evaluated the inter-laboratory reproducibility for AGC and observed that the AGC category was not easily reproducible and that there were difficulties in differentiating between AGC and AIS. However, in these studies, the AGC subclassifications of NOS or FN have not been taken into account and the risk of having each neoplastic (glandular or squamous) histologic result has not been calculated.

In the current study, none of the women with endocervical AGC-NOS were found to have glandular neoplasia, and 21% had squamous neoplasia, predominantly CIN 1. CIN 2 or worse diagnoses were detected in 8% of women with AGC-NOS in this study, while data in the literature report rates ranging from 9% to 41% [1, 3, 12, 20, 21]. This wide variation reflects the interobserver variability of this cytological diagnosis, taking as reference the criteria established by the 2001 Bethesda System. Therefore, in the case of laboratories with low predictive values for clinically significant lesions, similar to those shown for atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US) or low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) [22, 23], clinicians could consider adopting similar clinical procedures to this set of cytological diagnoses. Otherwise, in the case of laboratories with higher predictive values for clinically significant lesions, evaluation must include immediate colposcopy and an endocervical evaluation for those women with negative colposcopy. However, the inability to make more accurate prediction of high-grade lesion requires a more comprehensive approach. This is also supported by the rarity of the AGC diagnosis [3, 7].

In cases of AGC-FN, squamous or glandular significant lesions may be found [3, 5, 7]. This cytological interpretation showed significant associations considering exclusively glandular neoplasia as histological outcome when compared with AGC-NOS in this study. Four out of fifteen women with AGC-FN were found to have endometrial carcinoma or a synchronous gynecological malignancy. Endometrial adenocarcinomas were confirmed as low-grade neoplasias, and synchronous gynecological adenocarcinomas had glandular cells with high nuclear/cytoplasmic ratios. Other studies also detected a higher prevalence of clinically significant lesions in women referred with a cytologic diagnosis of AGC-FN. Tam et al (2003) [1] and Sharpless et al (2005) [12], respectively, found significant lesions in 68% and 29% of their sample populations with this initial diagnosis. For women with AGC-FN, the current recommendations are immediate colposcopic and endocervical evaluation, including cone biopsy when the women have no identifiable lesion. In addition, further evaluation of the *corpus uteri* must be carried out, principally in older women.

Studies have been carried out showing that additional HPV DNA testing may be useful in the evaluation and management of women with AGC in cervical smears [8, 24-26]. For women with cytological AGC-NOS, who tested negative for high-risk HPV-DNA and in whom no identifiable lesion was detected at colposcopic examination, a follow-up evaluation with a repeat cytological examination in 4-6 months would be appropriate. In patients diagnosed with AGC-FN, HPV-DNA testing may allow care providers to differentiate between the origins of abnormal cells (cervical vs. endometrial or those of extrauterine origin) [7]. However, the 2001 consensus guidelines for cervical cytological

abnormalities consider that the current knowledge is insufficient to evaluate HPV DNA testing in the management of women with AGC or AIS [3].

When AGC-NOS or AGC-FN was associated with HSIL, squamous neoplasia was detected at histology in most cases. In fact, other studies have also demonstrated that the proportion of significant lesions is higher when the cytological diagnosis is AGC plus HSIL [5, 8, 27-29]. Obviously, the combined diagnosis of HSIL can explain this higher proportion of significant squamous neoplasia in women referred for this cytological diagnosis. Nevertheless, the endocervical epithelium should be investigated, principally if no lesion is detected in the ectocervix, considering the possibility of combined squamous and glandular neoplasia. In fact, the presence of coexisting squamous abnormalities should not affect the management of AGC or AIS [3].

Histologic diagnosis of glandular neoplasia is found more frequently in women with AIS at cytology [3, 5, 8, 19, 28]. In our study, the incidence rate was 78% (11/14),, 7/11 of these women were found to have superficially invasive or well-differentiated endocervical adenocarcinoma, reflecting the difficulties of differentiating these clinical stages with cytology [3, 5, 7, 8, 31, 32].

In summary, controversies exist with respect to the clinical relevance of the sub-classification of glandular abnormalities less severe than invasive adenocarcinoma diagnosis. Some authors considered that a more detailed sub-classification of the glandular abnormalities category may be an additional factor in cytological-histological correlation [1, 6, 7, 10]. However, our results show that distinguishing between AGC-NOS and AGC-FN is clinically relevant, once the risks for neoplastic diagnosis and glandular neoplasia are significantly higher for

women referred for AGC-FN. Of course, AGC associated with HSIL requires special care in the case of both cytological diagnoses, despite the fact that most of these cases will turn out to be high-grade squamous histological lesions. This study also demonstrated that the cytologic interpretation of AIS correlate with glandular neoplasia histologic outcome. The clinical evaluation of cytological AIS must in fact include investigation for endocervical neoplasia, including cone biopsy to exclude the possibility of invasive adenocarcinoma.

5. Acknowledgments

These authors gratefully acknowledge the collaboration of the cytologists and cytotechnologists of the Cytology Laboratory of the Colposcopy Clinic (UNICAMP).

6. References

- [1] Tam KF, Cheung AN, Liu KL, Ng TY, Pun TC, Chan YM, et al. A retrospective review on atypical glandular cells of undetermined significance (AGUS) using the Bethesda 2001 classification. *Gynecol Oncol* 2003; 91(3):603-7.
- [2] Scheiden R, Wagener C, Knolle U, Dippel W, Capesius C. Atypical glandular cells in conventional cervical smears: incidence and follow-up. *BMC Cancer* 2004; 4:37.
- [3] Wright TC Jr, Cox JT, Massad LS, Twiggs LB, Wilkinson EJ; ASCCP-Sponsored Consensus Conference. 2001 Consensus Guidelines for the management of women with cervical cytological abnormalities. *JAMA* 2002; 287(16):2120-9.
- [4] Covell JL, Wilbur DC, Guidos B, Lee KR, Chhieng DC, Mody DR. – Epithelial abnormalities: glandular. In: Solomon D; Nayar R, eds. *The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology: definitions, criteria and explanatory notes*. New York, Springer-Verlag, 2004: 123-156.
- [5] Cangiarella JF, Chhieng DC. Atypical glandular cells - an update. *Diagn Cytopathol* 2003; 29(5):271-9.
- [6] Daniel A, Barreth D, Schepansky A, Johnson G, Capstick V, Faught W. Histologic and clinical significance of atypical glandular cells on pap smears. *Int J Gynaecol Obstet*. 2005;91(3):238-42.

Código de campo alterado

Código de campo alterado

Código de campo alterado

Código de campo alterado

Formatado: Fonte: (Padrão)
Arial, Inglês (EUA)

- [7] Levine L, Lucci JA 3rd, Dinh TV. Atypical glandular cells: new Bethesda Terminology and Management Guidelines. *Obstet Gynecol Surv* 2003; 58(6):399-406.
- [8] Derchain SF, Rabelo-Santos SH, Sarian LO, Zeferino LC, de Oliveira Zambeli ER, do Amaral Westin MC et al. Human papillomavirus DNA detection and histological findings in women referred for atypical glandular cells or adenocarcinoma in situ in their Pap smears. *Gynecol Oncol* 2004; 95(3):618-23.
- [9] Chhieng DC, Elgert PA., Cangiarella JF, Cohen JM. Clinical significance of atypical glandular cells of undetermined significance. A follow-up study from an academic medical center. *Acta Cytol* 2000; 44(4):557-66.
- [10] Simsir A, Hwang S, Cangiarella J, Elgert P, Levine P, Sheffield MV, et al. Glandular cell atypia on Papanicolaou smears: interobserver variability in the diagnosis and prediction of cell of origin. *Cancer* 2003; 99(6):323-30.
- [11] Chhieng DC, Gallaspy S, Yang H, Roberson J, Eltoun I. Women with atypical glandular cells: a long-term follow-up study in a high-risk population. *Am J Clin Pathol* 2004; 122 (4):575-9.
- [12] Sharpless KE, Schnatz PF, Mandavilli S, Greene JF, Sorosky JI. Dysplasia associated with atypical glandular cells on cervical cytology. *Obstet Gynecol* 2005; 105(3):494-500. Erratum in: *Obstet Gynecol*. 2005; 105(6):1495.

Formatado: Fonte: (Padrão)
Arial, Inglês (EUA)

[13]Selvaggi SM. Cytologic features of high-grade squamous intraepithelial lesions involving endocervical glands on ThinPrep cytology. *Diagn Cytopathol* 2002; 26(3):181-5.

Código de campo alterado

[14]Segal A, Frost FA, Miranda A, Fletcher C, Sterrett GF. Predictive value of diagnoses of endocervical glandular abnormalities in cervical smears. *Pathology* 2003; 35(3):198-203.

[15]Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, et al. Forum Group Members; Bethesda 2001 Workshop. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA* 2002; 287(16):2114-19.

Código de campo alterado

[16]Wright TC, Gastcha RM, Luff RD, Prey MU. Epithelial Cell Abnormalities: Squamous. In: *The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. Definitions, Criteria, and Explanatory Notes.* New York, Springer-Verlag, 2004: 123-156.

[17]Scully RE, Bonfiglio TA, Kurman RJ, Silverberg SG, Wilkins EJ. Histological typing of female genital tract tumors. – World Health Organization – International histological classification of tumors, 2nd ed., Berlin: Springer-Verlag, 1994, 36-49.

[18]Gurbuz A, Karateke A, Kabaca C, Kir G. Atypical glandular cells: improvement in cytohistologic correlation by the 2001 Bethesda system. *Int J Gynecol Cancer.* 2005; 15(5):903-10.

Código de campo alterado

[19] Confortini M, Di Bonito L, Carozzi F, Ghiringhello B, Montanari G, Parisio F, Prandi S; GISCi Working Group for Cervical Cytology. Interlaboratory reproducibility of atypical glandular cells of undetermined significance: a national survey. *Cytopathology*. 2006; 17(6):353-60.

- Código de campo alterado

[20] Haidupoulos DA, Stefanidis K, Rodolakis A, Pilalis A, Symiakaki I, Diakomanolis E. Histologic implications of Pap smears classified as atypical glandular cells. *J Reprod Med* 2005; 50(7):539-42.

[21] Roberts J, Thurloe JK, Biro C, Hyne SG, Williams KE, Bowditch RC. Follow-up of Cytologic predictions of endocervical glandular abnormalities: histologic outcomes in 123 cases. *J Low Genit Tract Dis* 2005; 9(2): 71-77.

Formatado: Fonte: (Padrão) Arial, Inglês (EUA)

[22] ASCUS-LSIL Triage Study (ALTS) Group. A randomized trial on the management of low-grade squamous intraepithelial lesion cytology interpretations. *Am J Obstet Gynecol*. 2003;188(6):1393-400.

[23] ASCUS-LSIL Triage Study (ALTS) Group. Results of a randomized trial on the management of cytology interpretations of atypical squamous cells of undetermined significance. *Am J Obstet Gynecol*. 2003 188(6):1383-92.

[24] Ronnet BM, Manos MM, Ransley JE, Fetterman BJ, Kinney WK, Hurley LB, et al. Atypical glandular cells of undetermined significance: cytopathologic features, histopathologic results, and human papillomavirus DNA detection. *Hum Pathol* 1999; 30(7):816-25.

[25] Oliveira ER, Derchain SF, Rabelo-Santos SH, Westin MC, Zeferino LC, Campos EA et al. Detection of high-risk human papillomavirus (HPV) DNA

by Hybrid Capture II in women referred due to atypical glandular cells in the primary screening. *Diagn Cytopathol* 2004; 31(1):19-22.

[26] 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(1):87-92.

[27] Geier CS, Wilson M, Creasman W. Clinical evaluation of atypical glandular cells of undetermined significance. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 184(2):64-9.

[28] van Aspert-van Erp AJ, Smedts FM, Vooijs GP. Severe cervical glandular cell lesions with coexisting squamous cell lesions. *Cancer* 2004; 102(4):218-27.

[29] Drijkoningen M, Meertens B, Lauweryns J. High grade squamous intraepithelial lesion (CIN3) with extension into the endocervical clefts. Difficulty of cytologic differentiation from adenocarcinoma in situ. *Acta Cytol* 1996; 40(5):889-94.

[30] Renshaw AA, Mody DR, Lozano RL, Volk EE, Walsh MK, Davey DD, et al. 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(2):153-7.

Formatado: Sem sublinhado, Cor da fonte: Automática

Formatado: Fonte: (Padrão) Arial, Sem sublinhado, Cor da fonte: Automática

Formatado: Sem sublinhado, Cor da fonte: Automática

Formatado: Fonte: (Padrão) Arial, Sem sublinhado, Cor da fonte: Automática

Formatado: Sem sublinhado, Cor da fonte: Automática

Formatado: Fonte: (Padrão) Arial, Sem sublinhado, Cor da fonte: Automática

Formatado: Sem sublinhado, Cor da fonte: Automática

Formatado: Fonte: (Padrão) Arial, Sem sublinhado, Cor da fonte: Automática

Formatado: Sem sublinhado, Cor da fonte: Automática

Formatado: Fonte: (Padrão) Arial, Sem sublinhado, Cor da fonte: Automática, Inglês (EUA)

Formatado: Fonte: (Padrão) Arial, Sem sublinhado, Cor da fonte: Automática, Inglês (EUA)

Formatado: Fonte: (Padrão) Arial, Inglês (EUA)

Table 1. Distribution of histological diagnoses according to referral cytological diagnoses

Histological diagnoses	AGC-NOS		AGC-NOS HSIL		AGC-FN		AGC-FN HSIL		AIS		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Total of negative	72	79	2	11	7	46			1 ^a	7	82	53
Total of squamous neoplasia	19	21	17	89	4	27	14	88	2	14	56	36
CIN1/HPV	12	13	-		1	7	1	6			14	9
CIN2 or CIN3	7	8	17	89	3	20	11	69	1	7	39	25
Invasive carcinoma	-	-	-	-	-	-	2	12	1	7	3	2
Total of glandular neoplasia	-	-	-	-	4	27	2	12	11	79	17	11
AIS	-	-	-	-			1 ^b	6	4 ^b	29	5	3
Invasive adenocarcinoma	-	-	-	-	4	27	1	6	7	50	12	8
Total of cases	91	100	19	100	15	100	16	100	14	100	155	100

AGC - Atypical Glandular Cells, NOS - not otherwise specification, FN - favor neoplastic, HSIL - high-grade squamous intraepithelial, AIS - Adenocarcinoma "in situ", CIN - Cervical Intraepithelial Neoplasia, HPV - Human Papillomavirus.

^a One case associated with adenomyosis

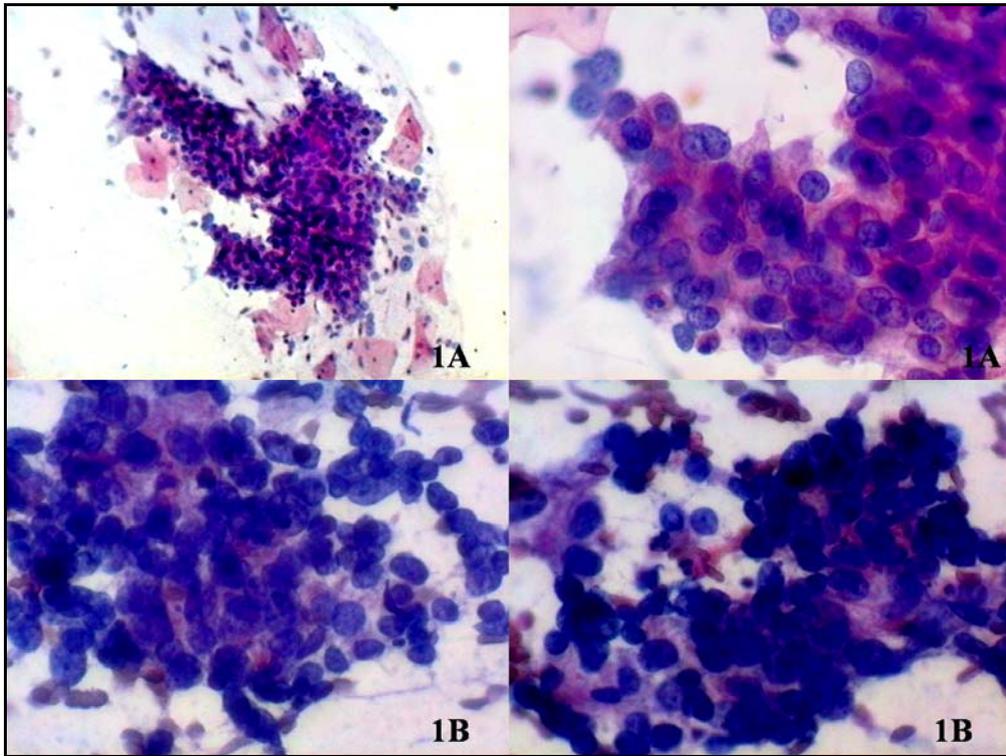
^b Three cases associated with squamous neoplasias.

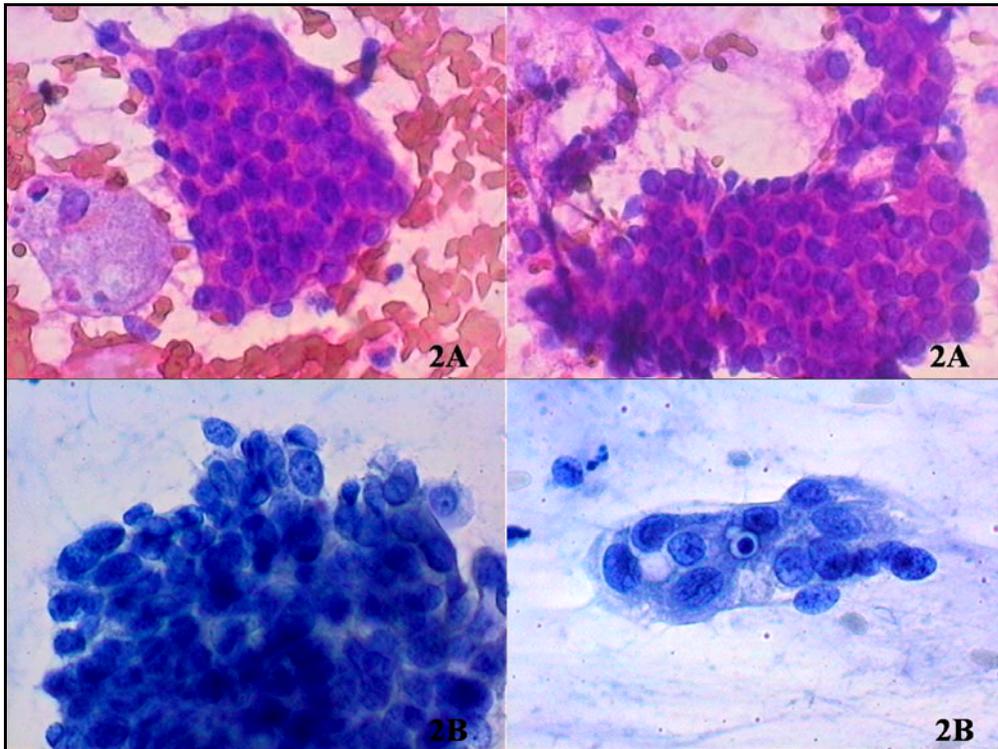
Table 2. Association of sub-classifications of glandular abnormalities diagnoses according to histological outcome of patient

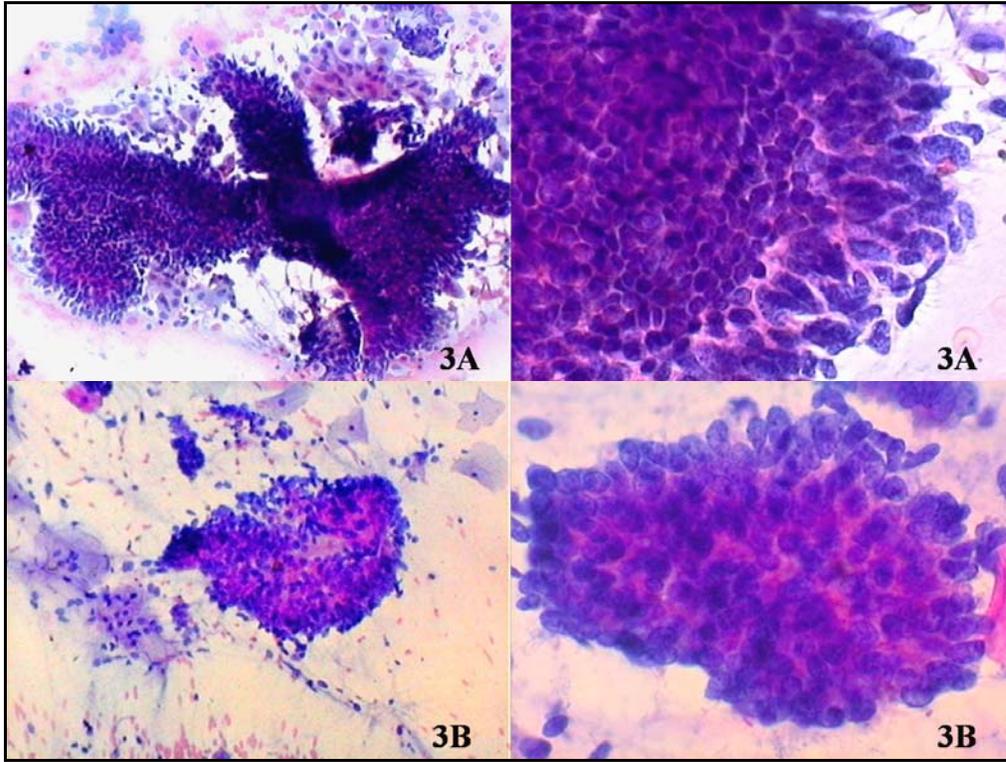
Histological outcome	Sub-classification of Cytological Diagnosis	OR (CI 95%)	p#
Squamous neoplasia: CIN 2 or worse	AGC-NOS x AGC-FN	3.00 (0.68–13.20)	0.13
	AGC-NOS x AIS	2.00 (0.37–10.77)	0.34
	AGC-FN x AIS	2.67 (0.30–23.86)	0.56
	AGC (NOS or FN) x AGC (NOS or FN) plus HSIL	57.60 (18.25–181.76)	<0.0001
AIS or invasive adenocarcinoma	AGC-NOS x AGC-FN	71.61 (3.62–1417.63)	<0.0001
	AGC-NOS x AIS	601.29 (29.17–12395.00)	<0.0001
	AGC-FN x AIS	7.33 (1.27–42.30)	0.02
	AGC (NOS or FN) x AGC (NOS or FN) plus HSIL	1.55 (0.27–8.82)	0.64
Squamous neoplasia: CIN 2 or worse or AIS or invasive adenocarcinoma	AGC-NOS x AGC-FN	10.50 (2.94–37.55)	<0.0001
	AGC-NOS x AIS	156.00 (17.72–1373.46)	<0.0001
	AGC-FN x AIS	14.86 (1.53–144.23)	<0.01
	AGC (NOS or FN) x AGC (NOS or FN) plus HSIL	140.19 (34.19–574.83)	<0.0001

AGC - Atypical Glandular Cells, NOS - not otherwise specification, FN - favor neoplastic, HSIL - high-grade squamous intraepithelial, AIS - Adenocarcinoma “in situ”, CIN - Cervical Intraepithelial Neoplasia, OR (CI 95%) - Odds ratio with 95% confidence interval.

Chi-square.







Legend:

Figure 1A. Atypical glandular cells not otherwise specified (AGC-NOS). Histological follow-up showed CIN 3 (Pap stain, 400x).

Figure 1B. Atypical glandular cells favor neoplastic (AGC-FN). Histological follow-up showed endometrial adenocarcinoma (Pap stain, 400x).

Figure 2A. Atypical glandular cells favor neoplastic (AGC-FN). Histological follow-up showed multiple primary synchronous adenocarcinomas (Pap stain, 400x).

Figure 2B. Atypical glandular cells not otherwise specified (AGC-NOS) associated with high grade squamous intraepithelial lesion (HSIL). Histological follow-up showed CIN 3 (Pap stain, 400x).

Figure 3A. Adenocarcinoma in situ (AIS). Histological follow-up confirmed AIS (Pap stain, 400x).

Figure 3B. Adenocarcinoma in situ (AIS). Histological follow-up showed invasive adenocarcinoma (Pap stain, 400x).

Formatado: Sem sublinhado,
Cor da fonte: Automática

4. Conclusões

Há uma associação significativa entre as subclassificações das anormalidades em células glandulares de origem endocervical, propostas pelo Sistema de Bethesda 2001, e diagnósticos histológicos significativos, pois os diagnósticos citológicos de AGC-SOE, AGC-FN e AIS indicam um aumento progressivo de risco para adenocarcinoma. Distinguir entre AGC-SOE e AGC-FN é relevante, uma vez que o risco para neoplasia glandular é significativamente maior para mulheres encaminhadas por AGC-FN.

5. Referências Bibliográficas

1. IARC. International Agency for Research on Cancer. Cancer Mondial - Globocan 2002. Available at: <http://www-dep.iarc.fr/>. Acessado em abril de 2009.
2. Brasil. INCA. Instituto Nacional do Câncer. Estimativas de incidência de câncer no Brasil 2008; disponível em rede em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2008>. Acessado em Abril de 2009.
3. Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol.* 2002;55:244–65.
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. Bergstrom R, Sparen P, Adami H-O. Trends in cancer of the cervix uteri in Sweden following cytological screening. *Br J Cancer.* 1999;81:159–66.
6. Alfsen GC, Thoresen SO, Kristensen GB, Skovlund E, Abeler VM. Histopathologic subtyping of do colo uterino adenocarcinoma reveals increasing incidence rates of endometrioid tumors in all age groups. *Cancer.* 2000;69:1291–9.
7. Liu S, Semenciw R, Probert A, Mao Y. Cervical cancer in Canada:changing patterns in incidence and mortality. *Int J Gynecol Cancer.* 2001;11:24-31.

8. Sasieni P, Adams J. Changing rates of adenocarcinoma and adenosquamous carcinoma of the cervix in England. *Lancet*. 2001;357:1490–3.
9. Howlett RI, Marrett LD, Innes MK, Rosen BP, McLachlin CM. Decreasing incidence of cervical adenocarcinoma in Ontario: Is this related to improved endocervical Pap test sampling? *Int. J. Cancer*. 2006;120:362–7.
10. Herzog TJ, Monk BJ. Reducing the burden of glandular carcinomas of the uterine cervix. *Am J Obstet Gynecol*. 2007 Dec;197(6):566-71.
11. Ries L, Harkins D, Krapcho M, editors. SEER cancer statistics review, 1975-2004, National Cancer Institute. Bethesda, MD, based on November 2005 SEER data submission, posted to the SEER web site, 2007.
12. Castellsagué X, Diaz M, de Sanjosé S, Muñoz N, Herrero R, Franceschi S, et al. Worldwide human papillomavirus etiology of cervical adenocarcinoma and its cofactors: implications for screening and prevention. *J Natl Cancer Inst*. 2006;98:303-15.
13. Jaworski RC, Pacey NF, Greenberg ML, Osborn RA. The histologic diagnosis of adenocarcinoma in situ and related lesions of the cervix uteri: adenocarcinoma in situ. *Cancer*. 1988;61:1171-81.
14. Zaino RJ. Symposium part I: adenocarcinoma in situ, glandular dysplasia, and early invasive adenocarcinoma of the uterine cervix. *Int J Gynecol Pathol*. 2002;21:314-26.
15. Kinney W, Sawaya GF, Sung HY, 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;47:167–71.

16. Wang SS, Sherman ME, Hildesheim A, Lacey Jr JV, Devesa S. Cervical Adenocarcinoma and Squamous Cell Carcinoma Incidence Trends among White Women and Black Women in the United States for 1976–2000. *Cancer*. 2004;100:1035–44.
17. Hemminki K, Li X, Vaittinen P. Time trends in the incidence of cervical and other genital squamous cell carcinomas and adenocarcinomas in Sweden, 1958-1996. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2002;101:64-9.
18. Ruba S, Schoolland M, Allpress S, Sterrett G. Adenocarcinoma in situ of the uterine cervix: screening and diagnostic errors in Papanicolaou smears. *Cancer*. 2004;102:280-7.
19. Plaxe SC, Saltzstein SL. Estimation of the duration of the preclinical phase of cervical adenocarcinoma suggests that there is ample opportunity for screening. *Gynecol Oncol*. 1999;75:55-61.
20. Syrjanen K. Is improved detection of adenocarcinoma in situ by screening a key to reducing the incidence of cervical adenocarcinoma? *Acta Cytol*. 2004;48:591-4.
21. DeMay RM. The Pap smear. In: DeMay RM. *The art and the science of cytopathology*. 1st ed. Chicago: ASCP Press, 1996:61–185.
22. Zeferino LC, Vedoato SR, Araújo MAS, Martinez EZ, Silva LCB, Catharino JMR. et al. Acurácia do exame colpocitológico com e sem amostra do canal cervical no diagnóstico da neoplasia do colo uterino. *J Bras Ginecol*. 2000;109:9-14.
23. Mitchell H, Hocking J, Saville M. Improvement in protection against adenocarcinoma of the cervix resulting from participation in cervical screening. *Cancer*. 2003;99:336-41.

24. Verdiani LA, Derchain SFM, Schweller M, Gontijo RC, Angelo-Andrade LA, Zeferino LC. Atypical glandular cells in cervical smear: analysis of diagnostic methods. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2003;25:193-200.
25. Covell JL, Wilbur DC, Guidos B, Lee KR, Chhieng DC, Mody DR. Epithelial abnormalities: glandular. In: Solomon D; Nayar R (eds.). *The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology: Definitions, Criteria and Explanatory Notes.* New York: Springer-Verlag; 2004. p.123-56.
26. Derchain SF, Rabelo-Santos SH, Sarian LO, Zeferino LC, De Oliveira Zambeli ER, Do Amaral Westin MC. et al. Human papillomavirus DNA detection and histological findings in women referred for atypical glandular cells or adenocarcinoma in situ in their Pap smears. *Gynecol Oncol.* 2004;95:618-23.
27. Wright TC Jr, Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon D; 2006 American Society for Colposcopy and Cervical Pathology-sponsored Consensus Conference. 2006 consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical cancer screening tests. *Am J Obstet Gynecol.* 2007 Oct;197(4):346-55.
28. Anonymous. The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses: Developed and Approved at the National Institute Workshop in Bethesda, Maryland, December 12-13, 1988. *Hum Pathol.* 1990;21(7):704-8.
29. Anonymous. The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses. *Acta Cytol.* 1993;37:115-24.
30. Cangiarella JF, Chhieng DC. Atypical glandular cells - an update. *Diagn Cytopathol.* 2003;29:271-9.
31. Tam KF, Cheung ANY, Liu KL, Pun TC, Chan YM, Wong LC, et al. A retrospective review on atypical glandular cells of undetermined significance (AGUS) using the Bethesda 2001 classification. *Gynecol Oncol.* 2003;91:603-7.

32. Chhieng DC, Gallaspy S, Yang H, Roberson J, Eltoun I. Women with atypical glandular cells: a long-term follow-up study in a high-risk population. *Am J Clin Pathol.* 2004;122:575-9.
33. Simsir A, Hwang S, Cangiarella J, Elgert P, Levine P, Sheffield MV, et al. Glandular cell atypia on Papanicolaou smears: interobserver variability in the diagnosis and prediction of cell of origin. *Cancer.* 2003;99:323-30.
34. Torres JCC, Derchain SFM, Gontijo RC, Do Amaral Westin MC, Zeferino LC, Angelo-Andrade LAL, Rabelo-Santos SH. Atypical glandular cells: criteria to discriminate benign from neoplastic lesions and squamous from glandular neoplasia. *Cytopathology.* 2005;16:295–302.
35. Oliveira ER, Derchain SF, Rabelo-Santos SH, Westin MC, Zeferino LC, Campos EA, et al. Detection of high-risk human papillomavirus (HPV) DNA by Hybrid Capture II in women referred due to atypical glandular cells in the primary screening. *Diagn Cytopathol.* 2004;31:19-22.
36. Pirog EC, Kleter B, Olgac S, Bobkiewicz P, Lindeman J, Quint WGV, et al. Prevalence of HPV-DNA in different histologic subtypes of cervical adenocarcinoma. *Am J Pathol.* 2000;157:1055-62.
37. Oliveira ERZM, Derchain SFM, Sarian LOZ, Rabelo-Santos SH, Gontijo RC, Yoshida A, Andrade LALA, Zeferino LC. Prediction of high-grade cervical disease with human papillomavirus detection in women with glandular and squamous cytologic abnormalities. *Int J Gynecol Cancer.* 2006;16:1055–62.
38. Lundeen SJ, Horwitz CA, Larson CJ, Stanley MW. Abnormal cervicovaginal smears due to endometriosis: a continuing problem. *Diagn Cytopathol.* 2002;26(1):35-40.

39. Levine L, Lucci JARD, Dinh TV. Atypical glandular cells: new Bethesda Terminology and Management Guidelines. *Obstet Gynecol Surv.* 2003;58:399-406.
40. Scheiden R, Wagener C, Knolle U, Dippel W, Capesius C. Atypical glandular cells in conventional cervical smears: incidence and follow-up. *BMC Cancer.* 2004 Jul19;4:37.
41. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA.* 2002 Apr 24;287(16):2114-9.
42. Ronnett, BM, Manos, MM, Ransley, JE, Fetterman, BJ, Kinney, WK, Hurley, LB, et al. Atypical glandular cells of undetermined significance: cytopathologic features, histopathologic results, and human papillomavirus DNA detection. *Hum Pathol.* 1999;30(7):816-25.
43. Rabelo-Santos SH, Derchain SFM, Do Amaral Westin MC, Angelo-Andrade LAL, Zanatta Sarian OZ, Oliveira ERZM, Morais SS, Zeferino LC. Endocervical glandular cell abnormalities in conventional cervical smears: evaluation of the performance of cytomorphological criteria and HPV testing in predicting neoplasia. *Cytopathology.* 2008;19:34-43.
44. Burk RD, Terai M, Gravitt PE, Brinton LA, Kurman R, Barnes WA, et al. Distribution of human papillomavirus types 16 and 18 variants in squamous cell carcinomas and adenocarcinomas of the cervix. *Cancer Res.* 2003;63(21):7215-20.
45. Walboomers JM, Jacobs MV, Bosch FX, Kummer JA, Shah Snijders PJ, Peto J, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 1999;189(1):1-3.

46. Clifford GM, Smith JS, Aguado T, Franceschi S. Comparison of HPV type distribution in high-grade cervical lesions and cervical cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer*. 2003 Jul 7;89(1):101-5.
47. Brestovac B, Harnett GB, Smith DW, Shellam GR, Frost FA. Human papillomavirus genotypes and their association with cervical neoplasia in a cohort of Western Australian women. *J Med Virol*. 2005;76(1):106-10.
48. Clifford GM, Smith JS, Plummer M, Munoz N, Franceschi S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. *Br J Cancer*. 2003 Jan 13;88(1):63-73.
49. Martens JE, Arends J, Van Der Linden PJQ, De Boer BAG, Helmerhorst TJM. Cytokeratin 17 and p63 are markers of the HPV target cell, the cervical stem cell. *Anticancer Res*. 2004;24:771-6.
50. Rabelo-Santos SH, Derchain SFM, Villa LL, Costa MC, Zanatta Sarian LO, Do Amaral Westin MC, Kornegay J, Zeferino LC. Human papillomavirus specific genotypes in cervical lesions of women referred for smears with atypical glandular cells or adenocarcinoma in situ. *Int J Gynecol Pathol*. 2009; 28:272-8.
51. Yamada T, Manos MM, Peto J, Greer CE, Muñoz N, Bosch FX, et al. Human papillomavirus type 16 sequence variation in cervical cancers: a worldwide perspective. *J Virol*. 1997 Mar;71(3):2463-72.
52. Ong CK, Chan SY, Campo MS, Fujinaga K, Mavromara-Nazos P, Labropoulou V, et al. Evolution of human papillomavirus type 18: an ancient phylogenetic root in Africa and intratype diversity reflect coevolution with human ethnic groups. *J Virol*. 1993 Nov;67(11):6424-31.

53. Rabelo-Santos SH, Villa LL, Derchain SFM, Ferreira S, Sarian LOZ, Ângelo-Andrade LAL, Westin MCA, Zeferino LC. Variants of Human Papillomavirus Types 16 and 18: Histological Findings in Women Referred for Atypical Glandular Cells or Adenocarcinoma In Situ in Cervical Smear. *Int J Gynecol Pathol.* 2006 October;25(4):393-7.

54. Solomon D; Nayar R (eds.). *The Bethesda System for Reporting cervical Cytology: definitions, criteria and explanatory notes.* New York: Springer-Verlag; 2004, 2ª edition, p.123-56.

6. Anexos

6.1. Anexo 1 – Consentimento Informado

PESQUISA: Relação entre critérios morfológicos e tipos de HPV detectados por PCR em mulheres com atipias das células glandulares do colo uterino com o diagnóstico histológico.

RESPONSÁVEL: Dr. Luiz Carlos Zeferino

Eu, Sra _____
idade _____, RG _____, endereço _____

registro hospitalar _____, atendida no Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher (CAISM) no Ambulatório de Oncologia do Trato Genital Inferior e Colposcopia fui convidada a participar desta pesquisa porque o resultado do meu exame de prevenção (colpocitologia oncológica) mostrou anormalidades das células de dentro do colo do útero (células endocervicais). Sei que responderei a um questionário sobre informações pessoais mantendo meu anonimato (serão avaliadas somente pelo médico que me atendeu) e que as fichas ficarão de posse do(s) Doutore(s)

responsáveis pela pesquisa, Dr. Luiz Carlos Zeferino e Dr^a Sophie Françoise Mauricette Derchain.

Sei que serei submetida a uma investigação que é necessária para esclarecer as alterações encontradas no meu exame preventivo e receber o tratamento que for preciso. Esta investigação consta de novo preventivo, e da mesma forma, será colhida secreção para descobrir se existe um tipo de vírus chamado HPV relacionado ao meu problema. Esta secreção será utilizada para fazer um exame chamado de reação em cadeia da polimerase (PCR). Será realizado também um exame colposcópico, no qual o médico vai olhar o colo do meu útero com lente de aumento, e caso seja encontrada alguma alteração, esta será biopsiada, ou seja, será retirado um pedaço muito pequeno para saber com certeza o que eu tenho. Esta biópsia é feita no ambulatório, é simples, não dói e o máximo que pode causar é um pequeno sangramento, que logo pára. Caso seja descoberto que eu tenho uma alteração mais grave, ou seja, maior possibilidade de transformar-se em câncer, serei submetida a uma retirada de pedaço maior, feito com anestesia local para que eu não sinta dor. Este procedimento também é simples, normalmente feito no ambulatório, e às vezes pode causar um sangramento maior, porém caso isto ocorra, serei tratada com segurança, pois estarei no hospital com médicos capacitados para resolver o problema.

Todos estes exames estão indicados para o esclarecimento, diagnóstico e tratamento de possíveis lesões de colo de útero que podem estar presentes em casos como o meu. Não serei submetida a exames desnecessários, tudo será feito como normalmente se faz, de acordo com os programas de prevenção do câncer do colo uterino, e tratamento adequado. Após o diagnóstico e tratamento inicial dependendo da indicação médica, deverei retornar em intervalos de mais ou menos 6 meses para acompanhamento e controle de meu problema.

Autorizo o Doutor Luiz Carlos Zeferino a realizar uma cópia dos resultados dos exames de laboratório para que sejam anexados às fichas de pesquisa.

Fui esclarecida quanto ao meu direito de não participar da pesquisa e de ser atendida no ambulatório sempre que necessário. A não aceitação na participação no estudo não implicará na perda dos direitos iniciais rotineiramente oferecidos pelo ambulatório. Em caso de dúvidas ou esclarecimento, tenho o direito de telefonar para o Doutor Luiz Carlos Zeferino número (19) 37889300 ou para o Comitê de Ética da UNICAMP no número (19) 37888836. Sei que não serei paga para participar deste estudo.

6.2. Anexo 2 – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa



FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
Caixa Postal 6111
13083-970 Campinas, SP
fone (0_19) 3788-8936
fax (0_19) 3788-8925
cep@head.fcm.unicamp.br

CEP, 16/04/02
(Grupo III)

PARECER PROJETO: Nº 137/2002

IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: "RELAÇÃO ENTRE CRITÉRIO MORFOLÓGICOS E TIPOS DE HPV DETECTADOS POR PCR EM MULHERES COM ATÍPIAS DE CÉLULAS GLANDULARES DO COLO UTERINO COM O DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO"
PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Sílvia Helena Rabelo dos Santos
INSTITUIÇÃO: CAISM/UNICAMP
APRESENTAÇÃO AO CEP: 12/03/2002

II - OBJETIVOS

O Objetivo deste trabalho será avaliar a associação entre os critérios morfológicos observados no exame citopatológico de mulheres com atípias em células epiteliais glandulares e a presença de tipos específicos de HPV oncogênicos e verificar a possibilidade desta associação ser preditiva do diagnóstico histopatológico e da evolução do caso. Serão inicialmente identificados nos esfregaços, os critérios morfológicos presentes no exame citopatológico que determinou a inclusão da mulher no estudo e o diagnóstico será classificado em Atipia glandular, Atipia glandular provavelmente neoplásica e Adenocarcinoma *in situ*.

111- SUMÁRIO

Este será um estudo prospectivo tipo corte transversal e coorte. O período previsto para a coleta dos dados é de um ano. Serão incluídas 173 mulheres com diagnóstico citopatológico de atípias de células glandulares, cujos exames foram avaliados pelo Laboratório de Citopatologia do Centro de Atenção Integral a

Saúde da Mulher (CAISM). As mulheres serão atendidas no Ambulatório de Patologia Cervical, de acordo com a rotina assistencial vigente. Será acrescido colheita de material cérvico-vaginal para pesquisa de DNA de HPV por PCR utilizando os primers PGMY09 e PGMY11 e a genotipagem será realizada através de hibridização reversa em pontos. O diagnóstico final será baseado no exame histopatológico e no seguimento dos casos. A associação dos critérios morfológicos individuais dos exames citopatológicos com o tipo de HPV e o diagnóstico histopatológico será analisada com o teste qui-quadrado e o teste exato de Fisher e a medida da magnitude da associação, por valores estimados de *odds ratio*. A análise da associação dos critérios morfológicos na predição da evolução será feita através de modelos de árvore de decisão, com a inclusão de todos os critérios morfológicos e a presença e o tipo viral.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

É um estudo de grande alcance social. As participantes do estudo terão risco mínimo e grandes vantagens. O protocolo é bem elaborado e o termo de consentimento é adequado.

O referido estudo preenche os requisitos da Resolução 196/96, do Conselho Nacional de Saúde

V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e 251/97, bem como ter aprovado o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa supracitado.

VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Rés. CNS 196/96 - Item IV. 1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Rés. CNS Item III.l.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes

que alterem o curso normal do estudo (Rés. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA - junto com seu posicionamento.

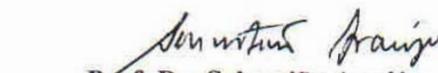
Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Rés. 251/97, Item III.2.e).

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

Atenção: Projetos de Grupo I serão encaminhados à CONEP e só poderão ser iniciados após Parecer aprovatório desta.

VII - DATA DA REUNIÃO

Homologado na IV Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 16 de abril de 2002.



Prof. Dr. Sebastião Araújo
PRESIDENTE do COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP