

Impl.
Nov. /95

^t
TEREZINHA MARQUES

^{nt}
**ESTUDO HISTOQUÍMICO E IMUNO-HISTOQUÍMICO DA
ENDOCÉRVICE PARA DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL ENTRE
METAPLASIA TUBÁRIA E ADENOCARCINOMA *IN SITU***

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em
Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP

Orientadora:

Prof^a. Dr^a. Liliana Aparecida Lucci De Angelo ^tAndrade
Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.

Campinas - 1995

UNIDADE	BC
ORIGEM	T/UNICAMP
NÚMERO	M348e
DATA	26.10.6
VALOR	433/95
CLASSIFICAÇÃO	C [] D [x]
RECO	R\$ 11.00
DATA	18/11/95
CPD	em.000.79.109.7

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

Marques, Terezinha
M348e Estudo histoquímico e imunohistoquímico da endocérvice para diagnóstico diferencial entre metaplasia tubária e adenocarcinoma in situ / Terezinha Marques. Campinas, SP: [s.n.], 1995.

Orientador: Liliana Aparecida Lucci De Angelo Andrade
Tese (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Colo uterino. 2. Metaplasia. 3. Adenocarcinoma. 4. Carcinoma in situ. 5. Histoquímica. 6. Imunohistoquímica. I. Andrade, Liliana Aparecida Lucci De Angelo. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Banca examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador: Profa. Dra. Liliana Aparecida Lucci De Angelo Andrade

Membros:

1. Dra. Liliana A L De Angelo Andrade



2. Dra. Maria Angeles S L Velludo



3. Dr. José Vassallo



Curso de pós-graduação em Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 16/10/95

Para *TADEU*, naturalmente.

AGRADECIMENTOS

Em geral, um trabalho desta natureza envolve a participação de muitas pessoas, direta e indiretamente. Costuma-se agradecer a todas, especificando onde participaram.

Este trabalho, em especial, envolveu muitas pessoas. Entretanto, nenhuma delas teve participação em apenas uma parte. Com receio de estar sendo injusta, cito apenas os principais motivos do agradecimento, mas com certeza, cada uma destas pessoas sabe que merece mais.

Meus agradecimentos aos funcionários do Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP - sobretudo a *Maria do Carmo Machado*, por sua disponibilidade, eficiência e carinho;

a *Ismael Vêncio* e *Guaracy Ribeiro*, pelo paciente e atencioso trabalho nas técnicas histoquímicas;

ao pessoal da Imuno-histoquímica, *Glauce Pinto*, *Paulo de Tarso*, *Silvia Pierre* e *Wanda Wreck* pelos ensinamentos e gostosa convivência;

às colegas do curso de pós-graduação, *Aurea Tieko*, *Christianne Pienna*, *Diana Engelman*, *Erni Cia*, *Fátima Neder*, *Izilda Cardinali*, *Luciana Andrade* e *Valdenise Tiziani*, pelo inesquecível companheirismo;

aos docentes do Departamento, em especial *Albina Altemani*, pela compreensão; *Cecília Escanhoela*, pelos belos slides e alegre amizade; *José Vassallo*, pelo estímulo e profissionalismo; *Konradin Metze*, pela generosa participação na análise estatística, ao lado da Professora *Denise Norato*; *Luciano Queiroz*, pelas impecáveis traduções e preciosos palpites, e *Miriam Trevisan*, pela oportunidade;

a *Ana Maria Marques*, minha querida irmã e revisora;

a *João Nestor Rodrigues de Miranda*, um professor;

a *Lucimar de Mello*, uma referência;

a *Luiz Cálice Cintra*, meu grande amigo;

a *Marta Duarte Barrozo*, meu braço direito;

a todos aqueles que, de alguma forma, possibilitaram este trabalho.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

*Aos meus pais, que me ensinaram a importância de ter objetivos;
à Doutora Liliana Andrade, que me ajudou a alcançar alguns.*

O verdadeiro fruto da árvore do conhecimento é a simplicidade.
Mario Quintana.

SUMÁRIO

1. Resumo

2. Introdução

3. Revisão da literatura

3.1 Colo uterino: Embriologia, Anatomia, Histologia

3.2 Metaplasia tubária endocervical

3.3 Adenocarcinoma endocervical *in situ*

3.4 Métodos histoquímicos

3.5 Métodos imuno-histoquímicos

3.6 Tubas uterinas: Considerações sobre o epitélio normal

4. Material e métodos

5. Resultados

6. Discussão

7. Conclusões

8. Summary

9. Referências bibliográficas

LISTA DE ABREVIATURAS

AB = Alcian blue

AIS = adenocarcinoma *in situ*

CEA = carcinoembryonic antigen
(antígeno cárcino-embrionário)

H-E = hematoxilina-eosina

HPV = human papilloma virus

MC = mucicarmim

MT = metaplasia tubária

PAS = periodic acid Schiff

PAS d = periodic acid Schiff/ diastase

VIM = vimentina

1. RESUMO

Metaplasia tubária (MT) é uma lesão de natureza benigna que pode oferecer dificuldade para o diagnóstico diferencial com adenocarcinoma *in situ* (AIS) na endocérvice. Sua correta caracterização e identificação evita condutas terapêuticas inadequadas. Selecionamos 18 casos de MT e 16 casos de AIS, morfológicamente característicos com o método hematoxilina-eosina. A seguir, examinamos por meio de reações histoquímicas e imuno-histoquímicas, para avaliar seu comportamento e tentar contribuir para o diagnóstico diferencial. Utilizamos colorações para mucinas, Alcian blue (AB), mucicarmim (MC), PAS e PAS com diastase (PASd), além de anticorpos anti-antígeno cárcino-embrionário (CEA) e anti-vimentina (VIM). Os métodos histoquímicos não demonstraram diferença significativa entre as duas lesões. Apesar do CEA ser mais freqüente nos casos de adenocarcinoma *in situ*, o papel da vimentina foi decisivo no diagnóstico diferencial, porque resultou positiva em 78% dos casos de metaplasia tubária e negativa em todos os casos de adenocarcinoma *in situ*.

2. INTRODUÇÃO

Nas duas últimas décadas, verificou-se um aumento na frequência do adenocarcinoma endocervical, sobretudo em mulheres mais jovens. O número de casos de adenocarcinoma do colo uterino aumentou nos trabalhos recentes e as séries apresentadas variam de 0.42% a 34% das neoplasias cervicais (HEPLER, DOCKERTY, RANDALL, 1952; DAVIS & MOON, 1975). Os autores discutem se o aumento na frequência das lesões glandulares endocervicais, benignas e malignas, está relacionado com o declínio na frequência das lesões escamosas, em alguns países. Tal declínio é resultado dos programas de detecção precoce, baseados fundamentalmente em exames colpocitológicos e tratamento das lesões precursoras (BUSCEMA & WOODRUFF, 1984). Paralelamente, houve aprimoramento na obtenção e interpretação dos espécimes, resultando no aprofundamento do estudo de outras condições endocervicais (YOUNG & CLEMENT, 1993).

À medida que as lesões glandulares cervicais tornam-se mais comuns, amplia-se o conhecimento sobre seus aspectos clínicos e morfológicos. Estão sendo reconhecidas novas variantes do adenocarcinoma invasor, ao lado de lesões precursoras e lesões benignas, neoplásicas e não-neoplásicas, que são importantes para diagnóstico diferencial (LAWRENCE, 1991; GOMPEL & SILVERBERG, 1994). Neste contexto, destacam-se a metaplasia tubária e o adenocarcinoma *in situ*, que eventualmente trazem dificuldades diagnósticas, por apresentarem semelhanças citológicas e arquiteturais (YOUNG & CLEMENT, 1993).

O correto reconhecimento das duas lesões em esfregaços (NOVOTNY et al., 1992) e cortes histológicos (SUH & SILVERBERG, 1990) é fundamental para se evitar condutas clínicas inadequadas, porque diferem no comportamento biológico. São frequentes os relatos de revisão citológica e histológica onde aconteceram erros diagnósticos em espécimes de endocérvice com metaplasia tubária (PACEY, AYER, GREENBERG, 1988; VAN LE, NOVOTNY, DOTTERS, 1991; DUCATMAN et al., 1993).

Na metaplasia tubária, o epitélio mucoso endocervical é substituído por três tipos celulares: *células ciliadas*, *não-ciliadas* e *intercalares*, semelhantes àquelas do epitélio tubário normal, geralmente em camada única. Pode-se observar multifocalidade inter e intraglandular, pseudo-estratificação, discreto pleomorfismo e irregularidade no contorno glandular (LAWRENCE, 1991; JONASSON et al., 1992; NOVOTNY et al., 1992). A

distinção com adenocarcinoma *in situ* se apóia na presença dos três tipos celulares, na ausência de atipias nucleares e estratificação, e na ausência ou escassez de figuras de mitose (SUH & SILVERBERG, 1990).

O material de endocérvice é obtido por escova, curetagem ou biópsia convencional, quando necessário, dirigidos por colposcopia (HURT et al., 1977; KORHONEN, 1978). A análise microscópica se inicia por métodos usuais de processamento e coloração. Ocasionalmente, são utilizados métodos adicionais para diagnóstico, devido a dificuldade de distinção entre algumas entidades (COHEN, SHULMAN, BUDGEON, 1982; YOUNG & CLEMENT, 1993). Por meio da revisão da literatura e dos métodos de investigação morfológica com a coloração de rotina, colorações histoquímicas e imuno-histoquímicas, pretendemos contribuir para o estudo do diagnóstico diferencial entre a metaplasia tubária e o adenocarcinoma *in situ*, na endocérvice.

Conforme a literatura, o epitélio endocervical normal secreta mucinas ácidas e neutras; no adenocarcinoma *in situ*, tal secreção está reduzida ou ausente (YOUNG, CLEMENT, SCULLY, 1993). Os autores postulam que adenocarcinomas endocervicais geralmente expressam antígeno cárcino-embriônico. A grande maioria das lesões endocervicais benignas e a mucosa normal não o fazem (BYCHKOV, ROTHMAN, BARDAWIL, 1983; SPEERS, PICASO, SILVERBERG, 1983). A imunocoloração para vimentina tem sido consistentemente positiva nos endométrios proliferativos e adenocarcinomas endometriais e negativa nas endocérvices normais e neoplásicas (DABBS, GEISINGER, NORRIS, 1986; AZUMI & BATTIFORA, 1987).

Os objetivos deste trabalho são:

- Caracterizar morfológicamente quadros típicos de metaplasia tubária e adenocarcinoma *in situ*, na endocérvice, pelo método hematoxilina - eosina.
- Avaliar o comportamento das duas lesões frente às colorações histoquímicas para mucinas: Alcian blue, mucicarmim, PAS e PAS com diastase.
- Avaliar o comportamento das duas lesões frente às colorações imuno - histoquímicas para CEA e vimentina.
- Comparar os resultados e tentar estabelecer critérios que contribuam para o diagnóstico diferencial.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 O Colo Uterino: Embriologia, Anatomia e Histologia

O desenvolvimento da cérvix uterina humana é um assunto complexo e ainda não completamente esclarecido (TRAURIG, 1972; KURMAN, NORRIS & WILKINSON, 1992). Atualmente, aceita-se que uma estrutura primordial, compreendendo o corpo uterino, a cérvix e a porção superior da vagina, desenvolve-se a partir da fusão dos ductos Müllerianos derivados do mesoderma, próximo do 54º dia após a concepção. Tal estrutura é denominada canal útero-vaginal e inicia-se com a forma de um tubo revestido por epitélio colunar do tipo Mülleriano. Posteriormente, se une ao seio urogenital derivado do endoderma, originando um ponto de junção denominado tubérculo Mülleriano. Ao redor do 66º dia, o epitélio do canal, na sua porção caudal, começa a se estratificar: seja por migração de células do seio urogenital para a vagina inferior; ou por transformação escamosa direta das células colunares. A estratificação das células na região do tubérculo Mülleriano é a primeira evidência de formação da placa vaginal, estrutura específica da raça humana (KURMAN et al., 1992).

A cérvix uterina pode ser identificada entre a décima-terceira e a décima-quinta semana, quando surgem as glândulas endocervicais. A partir da décima-sexta semana de vida fetal até o nascimento, ocorre acentuado crescimento da cérvix, resultado da resposta ao estímulo estrogênico (CUNHA, 1988; KURMAN et al., 1992). Da vida fetal tardia até a infância, o tamanho da cérvix é desproporcionalmente grande, três a quatro vezes o tamanho do corpo uterino (FU & REAGAN, 1989). A produção de mucina endocervical acontece ao redor da vigésima-oitava semana, diminui rapidamente nas duas primeiras semanas após o nascimento e permanece em baixos níveis até a menarca, quando novamente passa a se elevar (KURMAN et al. 1992).

Experimentos com roedores demonstraram que o epitélio primitivo do canal útero-vaginal é programado pelo estroma subjacente para se diferenciar em escamoso, mucinoso e tubo-endometrióide (CUNHA, 1976). O epitélio escamoso da ectocérvice origina-se do epitélio do canal uterino primitivo, derivado do seio urogenital; o epitélio glandular torna-se mucossecretor por metaplasia do epitélio cuboidal primitivo, derivado dos ductos de Müller (GOMPEL & SILVERBERG, 1994). Outros estudos, utilizando implantes do trato genital humano em desenvolvimento, em ratas,

mostraram que o colo e o corpo uterinos contêm duas camadas de mesênquima primitivo. A camada interna dará origem ao estroma da endocérvice e do endométrio, possivelmente se estendendo à vagina e à vulva. A camada externa é contínua, das trompas ao miométrio, contribuindo também para a lâmina própria da vagina. Sugere-se que a camada interna induz a diferenciação do epitélio glandular tubo-endometrióide das trompas, do corpo uterino e das glândulas profundas endocervicais (CUNHA et al., 1988; KURMAN et al., 1992).

A cérvice constitui o terço inferior do útero e tem formato cilíndrico; mede cerca de 3,0 centímetros de comprimento por 2,0 a 2,5 centímetros de diâmetro. Está dividida em ectocérvice (porção vaginal, ou *portio vaginalis*) e endocérvice. O orifício externo representa a junção entre *portio vaginalis* e canal endocervical; o orifício interno é o ponto de junção entre canal endocervical e cavidade endometrial. A cérvice relaciona-se anteriormente com a bexiga e posteriormente com o reto. Sua principal sustentação é conferida pelos ligamentos cardinais, que se estendem no sentido lateral, a partir do segmento inferior uterino e da cérvice, para as paredes pélvicas laterais. A vascularização sangüínea provém de ramos da artéria útero-vaginal e da artéria vaginal, ramo da hipogástrica; a inervação é feita pelo plexo uterino e contém fibras sensoriais. Os vasos linfáticos do estroma superficial e profundo drenam em diferentes canais que se dirigem para os linfonodos ilíacos, hipogástricos, obturadores e sacrais (McMINN & HUTCHINGS, 1990; GOMPEL & SILVERBERG, 1994).

A maior parte do colo uterino é constituída por tecido fibromuscular e o epitélio que o reveste se divide em três tipos: escamoso primitivo, glandular e escamoso metaplásico. A região cervical onde o epitélio glandular sofre transformação metaplásica é chamada *zona de transformação*. O epitélio escamoso é composto por múltiplas camadas de células pavimentosas que proliferam, maturam e descamam, sob estimulação estrogênica. A proliferação está limitada às células parabasais e basais. A maturação, que é inibida pela progesterona, ocorre na camada intermediária e se manifesta com o acúmulo intracelular de glicogênio. Segundo DALLENBACH-HELLWEG & POULSEN (1990) as células basais têm ainda potencial de diferenciação glandular.

Em 1949, estudando 150 espécimes de endocérvice humana, TOPKINS concluiu que existem vários padrões histológicos, resultado da complexidade das glândulas endocervicais e do ângulo que foram seccionadas. Concluiu também que os diferentes quadros não podem ser imputados às modificações cíclicas, a exemplo do que ocorre no endométrio, conforme proposto por WOLLNER em 1942. Outros autores descrevem que as glândulas endocervicais sofrem modificações cíclicas na atividade secretora: o muco é mais fluido durante a fase proliferativa do ciclo e mais viscoso na fase pós-ovulatória (WHEATER, BURKITT, DANIELS, 1979; FU & REAGAN, 1989; GOMPEL & SILVERBERG, 1994).

Em 1958, FLUHMANN & DICKMANN descreveram que a estrutura básica da cérvix uterina era composta por múltiplas fendas, derivadas de pregas mucosas na vida fetal, dispostas em formações simples ou apresentando muitas irregularidades. Algumas são reconhecidas macroscopicamente. Análises tridimensionais demonstraram que a endocérvice não contém glândulas verdadeiras, mas invaginações fendiformes do epitélio superficial para o estroma subjacente. Tais invaginações se ramificam num padrão arquitetural complexo e podem se estender até cerca de 5 milímetros de profundidade (KURMAN et al., 1992).

O epitélio endocervical é classificado como um epitélio cúbico - prismático, simples, semi-oclusivo, heterocelular e multifuncional (HADLER & SILVEIRA, 1993). É composto principalmente por uma camada de células colunares com núcleo geralmente basal, redondo ou ovalado, e citoplasma finamente granular contendo mucina. As células mucossecretoras medem entre 25 a 30 milimicrons de altura e 5 a 9 milimicrons de largura. Nas mulheres pós-menopausadas, o epitélio endocervical é colunar baixo ou cuboidal (FU & REAGAN, 1989). Ao microscópio eletrônico, observa-se uma membrana basal e ausência de hemidesmosomos na superfície basal das células colunares. A superfície lateral aparece lisa ou emitindo projeções citoplasmáticas.

As células colunares são pseudo-estratificadas, com numerosas microvilosidades por vezes ramificadas, portando microfilamentos e glicocálice superficial. As estruturas de Golgi são bem desenvolvidas, ao lado de mitocôndrias, retículo endoplasmático rugoso, ocasionais centríolos, gotículas de lipídios e partículas de glicogênio. O conteúdo secretório aparece em grânulos e pode ter aspecto esférico ou fibrilar. Em algumas áreas há coalescência dos grânulos e sua liberação da célula se faz por secreção merócrina ou apócrina. O núcleo das células colunares exhibe contorno moderadamente irregular e contém um nucléolo. A cromatina é finamente granular, com focos de condensação periférica ou central (FELDMAN et al., 1984).

Abaixo das células colunares, dispõem-se as chamadas células subcolunares ou de reserva, ou ainda células de Stoddard, com núcleo redondo e citoplasma escasso. Para alguns autores, a atividade mitótica não é verificada nas células colunares sob condições normais, sugerindo que possam derivar das células de reserva, que detêm a capacidade de se diferenciar em epitélio glandular ou escamoso metaplásico (WEIKEL, WAGNER, MOLL, 1987; KURMAN et al., 1992; SMEDTS, RAMAEKERS & VOOIJS, 1993). Entretanto, outros autores demonstraram que as células colunares mucíparas são capazes de auto-regeneração (SCHELLHAS & HEATH, 1969; HIERSCHE & NAGL, 1980).

SMEDTS et al. (1993), baseados na expressão de queratinas das células de reserva, consideram evidente a sua capacidade bidirecional de diferenciação. Eles demonstraram que estas células contêm queratinas 7, 8, 18 e 19, que são encontradas no epitélio colunar endocervical maduro.

Considerando ainda que as células colunares estão em estágio terminal de diferenciação e provavelmente tenham pequena atividade metaplásica, os pesquisadores propõem que elas derivem, de fato, das células de reserva. A maioria destas células perde a expressão de queratinas 5, 6, 14 e 15, próprias do epitélio escamoso, durante a diferenciação para epitélio colunar. WEIKEL et al. (1987) escreveram que a origem das células de reserva permanece uma questão aberta. Embora a sua natureza epitelial pareça estabelecida, o exato mecanismo de sua formação é incerto. Segundo estes autores, as células subcolunares não representam uma população de reserva constante, já que têm frequência variável e distribuição irregular na endocérvice. Para SMEDTS et al. (1993) o estudo dos padrões de expressão de queratinas, durante o desenvolvimento embrionário, poderia elucidar a origem das células endocervicais de reserva e colunares.

Ao microscópio eletrônico, as células de reserva são paralelas à membrana basal e contêm poucas organelas, destacando-se retículo endoplasmático rugoso e ribossomos livres (FELDMAN et al., 1984). BONILLA-MUSOLES (1969) descreve dois tipos de células subcolunares: o primeiro exibe citoplasma escasso, constituindo a célula de reserva dita autêntica; o segundo, que vai se transformar na verdadeira célula mucípara, exibe citoplasma mais abundante, com sinais de secreção.

O conteúdo de glicogênio do epitélio escamoso, a maturidade do epitélio mucoprodutor e a atividade das células de reserva parecem sofrer influência de hormônios maternos na criança, até 1 mês depois do nascimento (MADILE, 1976).

Entre as células colunares mucossecretoras endocervicais dispõem-se ocasionais células ciliadas, também colunares, com citoplasma claro, núcleo ovalado e nucléolo único, algumas vezes proeminente. Os cílios são responsáveis pela movimentação do muco cervical. À microscopia eletrônica, a superfície dos cílios é recoberta pela membrana plasmática (BONILLA-MUSOLES, 1969; HADLER & SILVEIRA, 1993). De acordo com FELDMAN et al. (1984) as células ciliadas apresentam corpos fibrilares e microvilosidades. A membrana plasmática dos cílios contém duas proteínas especiais, dispostas transversalmente em relação ao seu grande eixo, formando o colar ciliar e a coroa ciliar, estruturas responsáveis pela gênese, sustentação e motilidade dos cílios (HADLER & SILVEIRA, 1993).

Cada cílio consiste de 9 microtúbulos periféricos e 2 centrais, o *axonema*, ancorados no corpúsculo basal, o *cinetossoma*, derivado do centríolo. Suas dimensões atingem entre 7 e 10 milimicrons de comprimento por 0,2 milimicrons de diâmetro ((TWEEDDALE & DUBILIER, 1972; HADLER & SILVEIRA, 1993). Para alguns autores, a capacidade da célula de formar cílios é mais primitiva do que a de produzir secreção. As células ciliadas seriam aquelas persistentes desde os primeiros estágios do desenvolvimento ontogênico e poderiam ser descendentes das células ciliadas do trato de Müller (BONILLA-MUSOLES, 1969). SUH & SILVERBERG (1990) afirmam que o número de células ciliadas aumenta

na porção superior do colo uterino e na segunda metade do ciclo menstrual. HADLER & SILVEIRA (1993) acreditam que tais células sofrem a ação estimulante dos estrógenos. Para BONILLA-MUSOLES (1969) as células ciliadas não sofrem modificações cíclicas.

O epitélio glandular pode estender-se à ectocérvice, ao que se dá o nome de *ectrópio*, evento que deve ser considerado normal (MADILE, 1975). Ocorre no desenvolvimento da cérvice e em 70% das mulheres sexualmente ativas, em fase reprodutiva. Com o colposcópio, após aplicação de ácido acético, identifica-se o epitélio glandular recobrimdo estruturas semelhantes a vilosidades, portando vasos capilares centrais. O exame microscópico revela as estruturas vilositárias sob a forma de papilas estromais arredondadas, ricas em vasos e, habitualmente, portando pequena quantidade de leucócitos (KURMAN et al., 1992). Com frequência, o ectrópio se associa à metaplasia escamosa e, ocasionalmente, ao epitélio do tipo tubo-endometrial (FU & REAGAN, 1989). Há relatos de regressão do quadro clínico de ectrópio (ANTONIOLI, BURKE, FRIEDMAN, 1980).

A junção escamo-colunar do colo uterino pode ser abrupta ou gradual. Em relação ao orifício externo sua localização pode variar, dependendo do formato da cérvice e de fatores como idade, paridade e hormônios (KURMAN et al., 1992). Segundo GRAHAM (1967) a junção escamo-colunar não constitui um simples ponto de encontro entre dois epitélios diferentes, mas uma área de transformações dinâmicas, interpretadas como uma relação especial entre dois epitélios sensíveis à ação estrogênica. O epitélio escamoso original se alinha em justaposição com o epitélio glandular ou, mais frequentemente, estes dois epitélios são interpostos por um epitélio escamoso metaplásico, determinando o aparecimento da chamada *zona de transformação* (FU & REAGAN, 1989). Este trecho pode variar de 1 a 10 milímetros de extensão (TWEEDDALE & DUBILIER, 1972); usualmente é mais delgado do que o epitélio escamoso ectocervical, sem a seqüência normal de maturação (SCHELLHAS & HEATH, 1969). O limite distal da zona de transformação não se altera, contrastando com o limite entre o epitélio escamoso metaplásico e o epitélio glandular endocervical, que sofre deslocamentos de acordo com as várias etapas da vida (KURMAN et al., 1992). Acredita-se que o estímulo inicial para o fenômeno de metaplasia escamosa seja o pH vaginal ácido, que inativa o efeito tamponador da mucina protetora do epitélio colunar, associado a uma possível ação do estrogênio e da progesterona (GOMPEL & SILVERBERG, 1994).

A metaplasia escamosa é mais ativa durante a vida fetal, a adolescência e a gravidez. À medida que matura, o epitélio escamoso metaplásico torna-se morfológicamente indistinguível do epitélio escamoso primitivo. Os epitélios que participam no fenômeno do reparo e compõem a zona de transformação coram com anticorpos para TPA, um antígeno tecidual polipeptídico que ocorre nas células cancerosas e está relacionado com proliferação celular (DALLENBACH-HELLWEG & POULSEN, 1990).

A junção escamo-colunar ou a zona de transformação exibem ainda, entre os elementos escamosos, as células de Langerhans, originárias da medula óssea e envolvidas em mecanismos imunológicos locais (GOMPEL & SILVERBERG, 1994). Na endocérvice, tem sido relatada a presença de células intercalares (TWEEDDALE & DUBILIER, 1972), além de células oxifílicas (FU & REAGAN, 1989) e argirofílicas (FETISSOF et al., 1986; CHAN et al., 1989). No local de junção entre as mucosas endocervical e ístmica, glândulas do tipo endometrial se interpõem às glândulas endocervicais.

Em alguns casos, na parede lateral profunda da cérvice, podem-se observar remanescentes dos ductos mesonéfricos ou de Wolff. São pequenos túbulos revestidos por células colunares baixas, com material PAS positivo intraluminal (DALLENBACH-HELLWEG & POULSEN, 1990). Em raras ocasiões, estruturas ectodérmicas e mesodérmicas são observadas na endocérvice: folículos pilosos, glândulas sudoríparas, glândulas sebáceas e cartilagem. É provável que o aparecimento destas estruturas seja devido ao fenômeno de metaplasia, após inflamação crônica, ou derivado de tecido embrionário, constituindo uma verdadeira ectopia. Tais achados parecem não ter significado clínico (ROBLEDO et al., 1992).

3.2 Metaplasia Tubária Endocervical

O fenômeno biológico denominado **metaplasia** compreende a transformação de um tecido em outro, ambos diferenciados, resultando no surgimento de estruturas em localizações diferentes das originais. São passíveis de sofrer este processo, os epitélios e o tecido conjuntivo, quando submetidos à mudança do meio habitual, ou à ação de estímulos anormais (LOPES de FARIA, 1988). Apesar da frequência com que ocorre o fenômeno de metaplasia, inclusive nos processos de desenvolvimento embrionário, quase não se discute o seu mecanismo (LAUCLAN, 1984; CUNHA et al., 1988; GOMPEL & SILVERBERG, 1994).

Na endocérvice, até recentemente, apenas a metaplasia escamosa tinha conceito bem estabelecido (SUH & SILVERBERG, 1990; YEH, BRONNER, LIVOLSI, 1993). Entretanto, em 1932, NOVAK publicou um trabalho mostrando casos de cervicite crônica e cistos de retenção, onde o epitélio glandular era "histologicamente indistinguível daquele encontrado nas tubas". Hoje, sabe-se que o epitélio endocervical pode exibir ainda metaplasia endometrial (YEH et al., 1993; GOMPEL & SILVERBERG, 1994), urotelial (LAWRENCE, 1991) e intestinal, esta predominantemente encontrada em neoplasias (WELLS & BROWN, 1986; GOMPEL & SILVERBERG, 1994), raramente ocorrendo como evento isolado. De acordo com FOX et al. (1988), é provável que áreas de metaplasia intestinal originem adenocarcinoma entérico na endocérvice.

SMEDTS et al. (1993) afirmaram que os epitélios normais de ectocérvice e endocérvice são elementos em estágio final de diferenciação, a partir dos quais modificações metaplásicas não ocorrem. Assim, as células de reserva endocervicais retêm a capacidade de proliferação e diferenciação. Sob condições normais, o espectro de diferenciação fenotípica das células de reserva se estende da hiperplasia até o epitélio escamoso metaplásico, passando por estágios intermediários de maturação. Os autores consideraram que, o epitélio escamoso metaplásico, apesar de se mostrar maduro do ponto de vista morfológico, não está plenamente maduro sob o aspecto de expressão fenotípica de queratina.

Segundo LAUCLAN (1984), existem três divisões primárias do sistema Mülleriano: as tubas, o corpo uterino e o canal cervical. Os epitélios correspondentes, tubário, endometrial e endocervical, são relacionados no grupo A. Fazem parte do grupo B os epitélios derivados de metaplasia, que podem ser encontrados nas três regiões anatômicas. Destes, os mais importantes são os de células claras e escamosas. Assim, existem cinco tipos epiteliais que podem ser encontrados em três sítios anatômicos. Esses epitélios se rearranjam com frequência, resultando num revestimento aparentemente inapropriado em qualquer das três regiões anatômicas primárias, ou ainda, mais de um epitélio pode participar de uma lesão em qualquer dessas regiões.

O epitélio das trompas é o mais ubiqüitário dos epitélios Müllerianos, dentro e fora do útero. No trabalho de FRUIN & TIGHE

(1967) foi encontrado em 24% dos endométrios normais não-secretores; em até 100% dos endométrios hiperplásicos e em 1/3 dos endométrios carcinomatosos, dentro ou fora da área tumoral. Nessas circunstâncias, o processo metaplásico possivelmente represente uma resposta ao estímulo estrogênico prolongado.

Segundo SLACK (1986), os autores geralmente enfatizam o caráter adaptativo da metaplasia, sem esclarecer porque este fenômeno ocorre em tão grande escala no organismo humano. Para ele, a metaplasia tubária endocervical representa um tipo **homoeótico** de modificação tecidual: a transformação de um tecido adequado a uma determinada posição no organismo, em um tecido também adequado, mas em uma outra posição. Outros exemplos de metaplasia homoeótica são: tecido intestinal no estômago, ovário e bexiga; tecido endocervical na vagina, ectocérvice e endométrio; tecido do tipo vaginal no trígono vesical e tecido tubário no ovário ou corpo uterino. As chamadas transformações homoeóticas são muito importantes na biologia do desenvolvimento, porque parecem representar falhas nos mecanismos fundamentais do desenvolvimento biológico. O autor afirma que as verdadeiras metaplasias acontecem em epitélios, quando uma regeneração crônica tecidual é provocada por trauma, infecção ou estímulo hormonal inadequado. Sua persistência provoca uma renovação celular contínua, indicando que a transformação se dá ao nível das *células-eixo* ("stem cells"), pois estas células são as únicas que sobrevivem indefinidamente num tecido. Em alguns casos, os estágios precoces de metaplasia podem ser detectados na região germinal do tecido onde se originam.

É possível que a existência de pequenos focos de metaplasia represente origem monoclonal. Para uma lesão monoclonal atingir proporções macroscópicas, deve competir com o tecido regenerativo normal; é nesse estágio que se pode observar o caráter adaptativo da lesão. O autor continua dizendo que a maioria das metaplasias ditas homoeóticas acontece em processos de um único passo, resultando em um novo tecido que usualmente é idêntico ao original do ponto de vista imunológico, ultraestrutural e histoquímico. Assim, a natureza do erro que ocasionou a metaplasia não é simplesmente a expressão inadequada de um gen, conforme acontece no câncer, mas a falha de um processo de desenvolvimento de uma célula-eixo, de um tipo tecidual para outro. Isto envolve alterações coordenadas na cinética celular, na resposta aos fatores de crescimento e hormônios, na identidade dos tipos celulares diferenciados produzidos e em suas proporções relativas. Provavelmente os mecanismos alterados nas metaplasias sejam os gens que distinguem entre os vários tecidos no curso do desenvolvimento normal.

No endométrio, a metaplasia tubária parece estar relacionada com estados hiperestrogênicos (FU & REAGAN, 1989; SUH & SILVERBERG, 1990). Na endocérvice, ainda não foi associada a nenhuma causa específica, embora tenha sido relatada em úteros removidos poucos meses depois de conizações (LAUCLAN, 1984). ISMAIL (1991), ao descrever a

metaplasia tubo-endometrióide em pacientes conizadas, considerou que a lesão pode decorrer de diferenciação aberrante, após trauma cirúrgico, associado a fatores endócrinos.

KURMAN et al. (1992) classificam a metaplasia tubária endocervical como lesão pseudo-tumoral e não a relacionam com processos inflamatórios. YOUNG & CLEMENT (1993) também a consideram como lesão pseudo-tumoral e ressaltam que pode estar associada a outras lesões assim consideradas, dos tipos "tunnel clusters" (agrupamento de glândulas endocervicais com ou sem cistos) e endometriose. JONASSON et al. (1992) questionam se terapia hormonal ou modificações hormonais fisiológicas, no corpo uterino, podem afetar a presença ou o aparecimento do epitélio do tipo tubário na endocérvice. YEH et al. (1993) sugerem que a causa da metaplasia tubária endocervical seja a mesma da metaplasia endometrial: inflamação com metaplasia no epitélio reparativo, talvez devido a traumas como biópsias. Tais autores acreditam que este seja um fenômeno próprio dos epitélios Müllerianos.

Um epitélio metaplásico habitualmente não traz implicações clínicas, a não ser por ocasionais secreções inapropriadas. A importância dos processos metaplásicos está na sua extensão e na sua potencialidade em predispor ao câncer. Os processos de metaplasia geram descontinuidade do tipo celular, podendo assim aumentar o risco de neoplasia maligna. Em alguns casos, a neoplasia é mais comumente originada do epitélio metaplásico que do epitélio original, por exemplo, o carcinoma escamoso brônquico (SLACK, 1986). LAUCLAN (1984) argumenta que os carcinomas do tipo tubário, na endocérvice, não significam malignização de processos metaplásicos. LEIMAN (1993) considera que a metaplasia tubária endocervical esteja relacionada com estímulo hormonal e não tenha potencial de malignidade.

Em 1993, SHINTAKU & UEDA estranharam que adenocarcinomas serosos papilíferos cervicais sejam raros, porque representam 10% dos adenocarcinomas endometriais e a metaplasia tubária é freqüentemente encontrada no material rotineiro de patologia cirúrgica cervical. No mesmo ano, YOUNG & SCULLY publicaram casos de adenocarcinoma endocervical endometrióide com desvio mínimo. Ponderaram que a hipótese desta neoplasia se originar do epitélio benigno do tipo tubário merece consideração, apesar de ter sido identificado em apenas 3 dos 5 casos avaliados.

O diagnóstico morfológico de metaplasia tubária endocervical se baseia sobretudo no aspecto citológico, porque a arquitetura glandular habitualmente não se altera. Contudo, pode-se notar, já no menor aumento, discreta irregularidade no contorno glandular (LAWRENCE, 1991), pequenas projeções intraluminares, certo hiperchromatismo celular global e pseudo-estratificação, diferente da endocérvice normal. O epitélio tubário metaplásico é constituído por três tipos celulares: *células ciliadas*, *células não-ciliadas ou secretoras* e *células intercalares* ("peg cells"). Alguns autores admitem que os dois últimos possam representar o mesmo tipo

(JONASSON et al., 1992). O epitélio da endocérvice usualmente contém elementos ciliados idênticos aos da metaplasia tubária, em quantidade muito menor, geralmente localizados nas porções mais próximas ao istmo, e na segunda metade do ciclo menstrual (SUH & SILVERBERG, 1990).

Os núcleos das células metaplásicas podem ser mais volumosos e com leve ou moderada hipercromasia. Nas células secretoras endocervicais, os núcleos são basais e os citoplasmas vacuolizados e claros. Nas células secretoras metaplásicas, os núcleos têm posições variadas e os citoplasmas costumam exibir coloração mais escura ou eosinofílica, com vacuolização menos exuberante. Nos cortes histológicos, as células intercalares têm núcleos alongados e citoplasmas escassos, embora sejam do tipo colunar (JONASSON et al., 1992).

O diagnóstico diferencial com o tecido da endocérvice normal é simples. Entretanto, as lesões neoplásicas intra-epiteliais glandulares, sobretudo o adenocarcinoma *in situ*, podem trazer dificuldades e representam na literatura recente, causas de erro na avaliação de espécimes citológicos e histológicos (PACEY et al., 1988; LEIMAN, 1993; YOUNG & SCULLY, 1993).

Alguns autores admitem que a frequência da metaplasia tubária endocervical seja superior ao que os trabalhos publicados sugerem. O fenômeno esteve presente em 1/3 dos espécimes de cone e histerectomia avaliados por JONASSON et al. (1992), porém, a real prevalência só poderá ser avaliada em estudos com a população normal.

3.3 Adenocarcinoma Endocervical *in situ*

As lesões precursoras do carcinoma escamoso cérvico-uterino são bem estabelecidas, porém as lesões precursoras glandulares sequer estão agrupadas numa terminologia de consenso. As classificações existentes se baseiam em graus de anormalidade cito-arquitetural (GLOOR & RUZICKA, 1982; TESHIMA et al., 1985; BOON et al, 1986; LUESLEY et al., 1987; SCULLY et al., 1994).

Em 1952, HEPLER et al. observaram células neoplásicas altamente atípicas revestindo glândulas arquiteturalmente normais, adjacentes a adenocarcinoma invasivo. Em 1953, FRIEDEL & McKAY descreveram dois casos de lesões glandulares atípicas cervicais e as designaram como adenocarcinoma endocervical *in situ*. Segundo WRIGHT, KURMAN & FERENCZY (1994), lesões glandulares com esta morfologia foram descritas por HAUSER em 1894 e MEYER em 1930 e consideradas precursoras do adenocarcinoma a partir dos relatos de HEPLER et al., FRIEDEL e McKAY. Porém, até hoje, pouco se sabe a respeito da história natural dos precursores do adenocarcinoma endocervical invasivo (ANDERSEN & ARFFMANN, 1989).

Não existem dados precisos sobre a prevalência do adenocarcinoma endocervical *in situ*, embora seja correto afirmar que ocorra consideravelmente menos do que as neoplasias intra-epiteliais escamosas (WRIGHT et al., 1994). QIZILBASH (1975) admitiu que, talvez, o AIS fosse mais freqüente do que se relatava na literatura, argumentando que tem caráter focal, o que dificulta o diagnóstico. ANDERSEN & ARFFMAN (1989) afirmaram que desde a sua descrição, aproximadamente 300 casos de adenocarcinoma endocervical *in situ* foram publicados.

A associação comum entre neoplasias escamosas e glandulares também é responsabilizada pela menor incidência do AIS, porque as alterações escamosas são mais conhecidas nos meios usuais de investigação, ou mesmo, as únicas representadas nos espécimes (WEISBROT, STABINSKY, DAVIS, 1972; QIZILBASH, 1975). Na casuística de CHRISTOPHERSON, NEALON & GRAY (1979) a relação adenocarcinoma *in situ* / carcinoma epidermóide *in situ* é de 1: 239 e a relação adenocarcinoma invasor / carcinoma epidermóide invasor é de 1: 15. Na casuística de BOON, KIRK & RIETVELD-SCHEFFERS (1981b) estas relações constituem 1: 26 e 1:12; os autores consideram que tais diferenças podem significar falhas no diagnóstico de lesões glandulares.

Recentes estudos de FRIEDEL et al. (1992) registraram 16 casos de AIS em 4350 casos de neoplasia cervical, incluindo 2391 espécimes de carcinoma epidermóide *in situ* e 121 de adenocarcinoma invasor. Estas estimativas fazem parte de um registro tumoral baseado num total de 4.877.301 pacientes de risco / ano.

CHRISTOPHERSON et al. (1979) tentaram explicar a baixa incidência do adenocarcinoma endocervical *in situ*, nas formas puras ou combinadas. Argumentaram que o AIS usualmente é focal e compromete

pequena extensão da endocérvice e glândulas profundas; a porção superficial é substituída por epitélio metaplásico benigno ou displásico. Na casuística que avaliaram, as lesões glandulares ocorreram em idade mais avançada, numa proporção de aproximadamente 6 anos depois do que as lesões escamosas, tendendo a comprometer zona de transformação mais alta no canal, dificultando a obtenção da amostragem. Também citaram a ubiquidade da metaplasia escamosa em zonas de transformação altamente sensíveis de mulheres em idade fértil, favorecendo o aparecimento de lesões escamosas. Segundo esses autores a variação na incidência de AIS deve-se a diferenças nas populações avaliadas.

AYER et al. (1987), em revisão da literatura recente, observaram que existem poucos relatos de adenocarcinoma endocervical *in situ* ocorrendo isoladamente. De fato, muitos trabalhos publicados a partir da descrição do AIS por FRIEDEL e McKAY, em 1953, relatam a presença simultânea de atipia escamosa ou adenocarcinoma invasor (LAUHLAN & PENNER, 1967; WEISBROT et al., 1972; CHRISTOPHERSON et al., 1979; BOON et al., 1981a; NASU, MEURER, FU, 1993).

A freqüente associação de lesões escamosas e glandulares significa, para BOON et al. (1981b), um indicativo da origem comum para as duas entidades, reforçado pelo encontro de células de reserva atípicas, na maioria dos casos que avaliaram, em espécimes citológicos e histológicos. DALLENBACH-HELLWEG, em 1984, assumiu que o uso prolongado de gestagênios sintéticos pode estar relacionado com o desenvolvimento do adenocarcinoma endocervical. Na análise da literatura efetuada por VESTERINEN, FORSS & NIEMINEN, em 1989, o aumento da incidência de carcinomas cervicais com elementos glandulares pode estar associado ao uso de anticoncepcionais orais. Para outros autores (KORHONEN, 1980; YEH, LIVOLSI, NOUMOFF, 1991), o adenocarcinoma endocervical tem muitos fatores de risco em comum com o adenocarcinoma endometrial, tais como: faixa etária, obesidade, hipertensão, diabetes, nuliparidade, estado civil (mulheres não-casadas) e uso de hormônios. YEH et al. (1991) também consideraram fatores de risco comuns com as lesões escamosas, tal como a presença de HPV.

A natureza pré-cancerosa do AIS, segundo YOUNG et al. (1993), está evidenciada pelos seguintes aspectos:

1. A faixa etária de acometimento compreende mulheres 10 a 15 anos mais jovens do que as portadoras de adenocarcinoma invasivo. Em alguns trabalhos, a idade média ao diagnóstico oscila entre 35 e 46 anos (QIZILBASH, 1975; BERTRAND, LICKRISH, COLGAN, 1987; LUESLEY et al., 1987);

2. É comum a associação de áreas *in situ* com áreas microinvasoras ou francamente invasoras, num mesmo espécime. BOON et al. (1981a) encontraram lesões *in situ* adjacentes a lesões invasoras em aproximadamente 88% dos casos estudados;

3. Tem sido demonstrado, na mesma paciente, que o adenocarcinoma *in situ* precede a forma invasora, em intervalos que variam de 3 a 7 anos (BOON et al., 1981a; KASHIMURA et al., 1990);

4. Parece existir uma alta frequência de HPV 16 e 18, associados a lesões glandulares endocervicais invasivas e pré-invasivas (FARNSWORTH, LAVERTY, STOLER, 1989);

5. O tipo histológico é semelhante nas lesões *in situ* e invasivas (QIZILBASH, 1975).

O adenocarcinoma *in situ* caracteriza-se pela presença de glândulas endocervicais revestidas por células colunares com atipias, sem evidência de invasão (KURMAN et al., 1992). Em geral, observa-se transição abrupta entre as células normais e o adenocarcinoma *in situ*, dentro da mesma glândula. O envolvimento glandular pode ser focal, multifocal ou difuso, e as glândulas podem ainda apresentar numerosas projeções e dobramentos papilíferos complexos, com trechos de padrão cribriforme (WELLS & BROWN, 1986; WRIGHT et al., 1994). As células atípicas têm núcleos alongados, aumentados e hipercromáticos, com a cromatina granular, perpendiculares à membrana basal, em múltiplas camadas ou pseudo-estratificação. Figuras de mitose costumam ser freqüentes (BURGHARDT, 1973; FU & REAGAN, 1989). O citoplasma é reduzido e a mucina intracitoplasmática, escassa ou ausente (GLOOR & HURLIMANN, 1986; YOUNG et al. 1993). Fenômenos de apoptose e necrose celular individual com restos nucleares intra-epiteliais são relativamente freqüentes (JAWORSKY et al., 1988). As células malignas podem exfoliar para a luz das glândulas (VAN ROON et al., 1983).

Deve-se suspeitar de invasão quando o padrão cribriforme for muito extenso; houver reação leucocitária ou desmoplásica adjacente a glândulas atípicas; produção de grandes lagos mucosos; glândulas pequenas, irregulares, confluentes ou em padrão lado a lado; projeções papilíferas, a partir da superfície endocervical e/ou glândulas neoplásicas se estendendo além das glândulas normais (BURGHARDT, 1973; QIZILBASH, 1975; CLEMENT & SCULLY, 1982; FU & REAGAN, 1989). WRIGHT et al. (1994) ainda preconizam como critério de invasão, atipias além da cripta endocervical não-envolvida mais profunda. Este aspecto é questionado por BUSCEMA & WOODRUFF (1984) porque somente cortes seriados meticulosos de um espécime em sua totalidade são capazes de identificar a glândula mais profunda. COLGAN & LICKRISH (1990) concluíram que a topografia e o potencial de invasão do AIS, na endocérvice, parecem não ser influenciados pela associação com lesões escamosas.

Alguns autores descrevem as variantes histológicas endocervical, intestinal e endometrióide do adenocarcinoma endocervical *in situ* (GLOOR & RUZICKA, 1982; JAWORSKY et al., 1988; TOBÓN & DAVE, 1988). Na forma típica ou endocervical, a mais comum, há moderada quantidade de citoplasma que se cora para mucinas, embora em menor proporção do

que o fazem as células glandulares endocervicais normais (JAWORSKY et al., 1988). A forma intestinal cursa com células caliciformes e ocasionalmente células de Paneth e argentafins (GLOOR & HURLIMANN, 1986; JAWORSKY et al., 1988). Colorações histoquímicas, PAS e ferro - diamina / Alcian blue, demonstraram predomínio de sialomucinas sobre sulfomucinas, diferente do que ocorre na mucosa endocervical normal e na forma endocervical do AIS. A variante do tipo endometrióide não se cora para mucinas (TESHIMA et al., 1985; JAWORSKY et al., 1988; KURMAN et al., 1992).

GLOOR & RUZICKA (1982) descreveram dois tipos de adenocarcinoma endocervical *in situ*, possivelmente associados, porém com aspectos morfológicos distintos, do ponto de vista citológico e histológico. O primeiro tipo, similar ao relatado comumente na literatura, consiste de células com núcleos hipercromáticos e pseudo-estratificados. O segundo tipo, mais raro, exibe maior desorganização arquitetural, com células volumosas e pleomórficas, núcleos claros e nucléolos proeminentes. Segundo YOUNG et al. (1993), o adenocarcinoma endocervical *in situ* pode assumir vários padrões morfológicos. Geralmente a distribuição e a configuração das glândulas são normais; estas, porém, podem exibir discreta anormalidade de contornos ou dilatação cística. Tais autores relacionam ainda, variantes menos freqüentes de AIS, dos tipos adenoescamoso, papilífero seroso, células claras, células em vidro esmerilhado ("glassy cell"), células em anel de sinete e células espumosas, provavelmente por acúmulo de lipídios. Eventualmente os processos glandulares ditos pseudotumorais, como as lesões císticas e hiperplásicas, podem estar comprometidas por AIS; BETSILL & CLARK (1986) descreveram AIS em 4 lesões polipóides.

Além do adenocarcinoma invasor e da metaplasia tubária, outras lesões endocervicais se impõem no diagnóstico diferencial com o adenocarcinoma *in situ*. Entre elas, destacam-se as atipias glandulares reparativas e reativas, secundárias a inflamações, infecções virais e processos de radioterapia; reação de Arias-Stella; endometriose; remanescentes mesonéfricos; hiperplasia microglandular e hiperplasia adenomatosa (DALLENBACH-HELLWEG & POULSEN, 1990; KURMAN et al., 1992; WRIGHT et al., 1994). Técnicas imuno-histoquímicas (YOUNG & CLEMENT, 1993) e estudos morfométricos (BOON et al., 1981b; VAN ROON et al., 1983) podem elucidar casos que oferecem dificuldades ao diagnóstico pelos métodos rotineiros de investigação.

O sinal clínico mais comum em pacientes com adenocarcinoma endocervical *in situ* é o sangramento vaginal irregular, porém, segundo WRIGHT et al. (1994), acima de 80% das mulheres acometidas são assintomáticas. O diagnóstico pode ser difícil nos exames citológicos, ou mesmo em biópsias e cones cervicais (WEISBROT et al., 1972; TOBÓN & DAVE, 1988). As lesões são detectadas fortuitamente durante a triagem citológica ou durante o atendimento para lesões intra-epiteliais escamosas,

por curetagem endocervical, biópsia por "punch", cone ou alça diatérmica. A utilização de instrumentos para a obtenção do material de exame citológico, como a escova endocervical, beneficiou a detecção de lesões glandulares (BOON et al., 1986). O exame colposcópico não evidencia aspectos específicos para a lesão (LUESLEY et al., 1987; ANDERSEN & ARFFMANN, 1989).

Os trabalhos divergem quanto à distribuição das lesões de AIS, na endocérvice: alguns ressaltam o seu caráter unifocal (BERTRAND et al., 1987; ANDERSEN & ARFFMANN, 1989; YOUNG et al., 1993), enquanto outros apontam a multifocalidade como regra no seu aparecimento (GLOOR & RUZICKA, 1982; BROWN & WELLS, 1986). BUSCEMA & WOODRUFF (1984) alertam para as chamadas "skip lesions", que interpretamos como *lesões salteadas*. O tratamento de escolha é cirúrgico, por meio de conização ou histerectomia (KURMAN et al., 1992). Estudos topográficos orientam que a conização se estenda pelo menos 25 milímetros ao longo do canal e 5 milímetros em profundidade, retirando zona de transformação e glândulas profundas (BERTRAND et al., 1987). Existe um risco de doença residual, mesmo em pacientes com margens cirúrgicas negativas, por isso é necessário o estreito acompanhamento citológico das pacientes operadas devido a adenocarcinoma endocervical *in situ* (WEISBROT et al., 1972; CHRISTOPHERSON et al., 1979; MUNTZ et al., 1992).

3.4 Métodos Histoquímicos

A avaliação microscópica dos espécimes em Patologia Cirúrgica se baseia no exame após fixação em formalina, inclusão em parafina e coloração pela hematoxilina-eosina. Essa técnica permite a conclusão diagnóstica na maior parte do material estudado rotineiramente. Entretanto, algumas vezes não é possível, com esse procedimento, responder questões sobre etiologia, histogênese e patogênese, necessárias à elucidação do caso. Nestas ocasiões, o patologista utiliza outras técnicas, ditas "especiais", porque são criteriosamente reservadas a situações particulares (ROSAI, 1989).

Histoquímica é o estudo dos tecidos por vários métodos de investigação, que permitem identificar e localizar compostos ou radicais químicos. Os estudos histoquímicos complementam as análises bioquímicas dos tecidos. A confiabilidade dos resultados depende de alguns fatores:

1. Os compostos pesquisados não podem ser difusíveis; portanto a fixação do material deve insolubilizar tais compostos, preservando a estrutura celular;

2. O produto da reação também deverá ser insolúvel, evitando que se difunda e migre para local diferente do seu sítio de ação e

3. O método deve ser específico para a substância ou grupo químico pesquisado.

Segundo esses princípios, diversas substâncias são evidenciadas nos tecidos, incluindo as chamadas "mucinas", termo pouco preciso do ponto de vista químico, porém, de uso comum. As mucinas podem ser divididas em três grupos principais:

1. mucopolissacarídios - complexos formados de proteínas e polissacarídios, onde predominam os carboidratos;

2. mucoproteínas - complexos de proteínas e polissacarídios, onde predominam as proteínas e

3. mucolipídios - complexos de proteínas e lipídios.

As mucinas podem ser produzidas pelos tecidos epitelial e conjuntivo. As mucinas do tecido conjuntivo são caracterizadas como mucopolissacarídios ácidos. As mucinas epiteliais podem ser mucoproteínas e glicoproteínas neutras e ácidas. Por meio de avaliações histoquímicas, observou-se que tais substâncias apresentam grupos de ácido siálico, sulfato e glicol (DRURY & WALLINGTON, 1980).

As células colunares endocervicais, mucossecretoras, produzem mucinas neutras e ácidas, com predomínio das últimas, que são subdivididas em sialomucinas e sulfomucinas (WELLS & BROWN, 1986). Dentre os métodos histoquímicos mais usados para identificação destas substâncias estão: mucicarmim de Mayer e Alcian blue (ou azul de Alcian), em diferentes níveis de pH, para mucinas ácidas e PAS (do inglês, periodic acid-Schiff) com diastase, para mucinas neutras. São usadas ainda, combinações desses métodos, tal como Alcian blue/PAS (GATON et al.,

1982), além de ferro-diamina para a pesquisa de sulfomucinas (SHORROCK, JOHNSON, JOHNSON, 1990) e azul de toluidina com sulfatação em baixa temperatura, para identificar o que COOPER, RUSSELL & WILSON (1987) referem como mucinas metacromáticas.

De acordo com SINGH & BOSS (1973), o muco cervical é um produto biológico de origem mista, que apresenta água e eletrólitos em mais de 90% da sua constituição, semelhante ao soro fisiológico. Contém, por ordem de quantidade: sódio, potássio, magnésio, cálcio e zinco. Embora ocorram alterações no muco cervical, durante os períodos pré e pós-ovulatórios, os níveis de tais eletrólitos não sofrem variações significativas nestes períodos e nem sob efeito de substâncias hormonais.

O muco cervical pode ser separado nas fases aquosa e gel, por meio de centrifugação. O principal componente da fase gel é a glicoproteína denominada mucina cervical, com características físico-químicas típicas das mucinas epiteliais: macromoléculas interligadas que formam a rede estrutural das secreções mucosas, responsáveis pelas propriedades reológicas do muco. Ainda não é certo se as alterações da mucina que ocorrem durante o ciclo menstrual, são as responsáveis pelas variações cíclicas observadas no muco cervical. Os oligossacarídeos que compõem a mucina cervical têm dimensões intermediárias entre os existentes nas glândulas salivares e brônquicas ou gástricas. A diversidade dos oligossacarídeos da mucina cervical, com relação ao tamanho, à composição e complexidade, sugerem que a porção de carboidratos desta molécula seja composta para atender a necessidades fisiológicas específicas (YUREWICZ & MOGHISSI, 1981).

GATON et al.(1982) consideraram que as técnicas histoquímicas são suficientes para indicar uma grande variação qualitativa entre células que produzem diferentes tipos de secreção, apesar de estarem sujeitas a dúvidas e limitações. Assim, estudaram o muco cervical e concluíram que todos os tipos de glicoproteínas são produzidos ao mesmo tempo, pela maioria das células endocervicais, independentemente do meio hormonal, do tamanho e da localização das criptas. As variações quantitativas, porém, são influenciadas pela ação do estrogênio e da progesterona. A natureza do muco cervical depende ainda de outros fatores, tais como, a quantidade e a composição do fluido transudado dos vasos sanguíneos e o grau de hidratação dos elementos macromoleculares.

Os métodos histoquímicos são propostos para auxiliar no diagnóstico de lesões endocervicais. Existem dificuldades quanto à caracterização dos adenocarcinomas endocervicais, o que resulta em diferentes classificações. MAIER & NORRIS (1980) acreditam que o uso de colorações especiais para mucina facilite a reprodutibilidade da classificação dos principais tipos de adenocarcinoma endocervical. Eles utilizaram técnicas histoquímicas para identificar a quantidade de mucina nos tumores e caracterizar melhor as variantes histológicas, porém não especificaram os métodos. WELLS & BROWN (1986) defenderam o uso rotineiro de colorações para mucina na avaliação dos carcinomas cervicais, argumentando que isso aumentaria a

incidência dos carcinomas mistos. BUCKLEY, BEARDS & FOX (1988) enfatizaram a necessidade das colorações de PAS e PASd / AB pH 2.4, na rotina de Patologia Cirúrgica. Segundo os autores, desta maneira é possível a correta classificação das neoplasias cérvico-uterinas. Ressaltaram que a detecção de mucina nos tumores auxilia na identificação das pacientes com maior risco de metástases para linfonodos regionais.

LAUCLAN & PENNER (1967) relataram dois casos de adenocarcinoma *in situ*, onde a coloração com PAS contrastou nitidamente a porção glandular normal e a porção atípica, esta fracamente positiva. No trabalho de SWAN & RODDICK (1973) a presença de material PAS positivo serviu para distinguir adenocarcinomas endocervicais pouco diferenciados de carcinomas não ceratinizantes de grandes células e para identificar o componente glandular de tumores mistos.

DAVIS & MOON (1975) preconizaram o uso das colorações PAS e AB, como valioso critério na distinção entre adenocarcinomas primários da endocérvice e extensão endocervical dos adenocarcinomas de endométrio. Os autores consideraram particularmente importante a técnica do Alcian blue pH 2.5, onde o grau de positividade intracitoplasmática foi proporcional à diferenciação do tumor. KORHONEN (1978) admitiu que as colorações histoquímicas podem ser úteis no diagnóstico de adenocarcinoma endocervical, porém considerou que a capacidade de produzir mucina está mais relacionada ao tipo celular. COHEN et al. (1982) não encontraram relação entre a diferenciação tumoral e a quantidade de mucina produzida nos adenocarcinomas endocervicais e endometriais. Estudaram os casos com as técnicas AB pH 2.5/PASd e MC e concluíram que a definição entre as lesões pode ser obtida com o uso de técnicas histoquímicas para a avaliação de quantidade, distribuição e tipo de mucina produzida, embora os critérios não sejam absolutos.

Ainda em 1975, QIZILBASH utilizou as colorações de PAS e mucicarmim, na avaliação de adenocarcinomas endocervicais *in situ* e microinvasores, para separar porções atípicas glandulares e escamosas associadas. Encontraram em massas epiteliais sólidas do tipo escamóide, citoplasmas distendidos contendo mucina, além de áreas de carcinoma escamoso onde as células pareciam ter somente diferenciação glandular, vistas pelo método H-E.

SHINGLETON et al., em 1981, usaram as técnicas de PAS e Alcian blue para localizar mucinas em adenocarcinomas pouco diferenciados. BOON et al., no mesmo ano (a), avaliando espécimes histológicos de adenocarcinoma *in situ*, encontraram áreas negativas ou fracamente positivas para a técnica de Alcian blue. Concluíram que este fenômeno ajuda a detectar a lesão com objetividade de menor aumento. YAJIMA, FUKUDA & NODA (1984) utilizaram as colorações AB e MC para identificar neoplasias mistas cérvico-uterinas, *in situ* e invasivas: obtiveram positividade para mucina em 29% das lesões *in situ*.

COOPER et al. (1987) utilizaram as técnicas de AB pH 1.0 e 2.5, PASd e azul de toluidina para estudar 20 casos de adenocarcinoma

endocervical (14 invasivos; 6 *in situ*) e 12 casos de adenocarcinoma endometrial. Corados pelo PASd, os adenocarcinomas endocervicais mantiveram o intenso padrão reativo verificado na mucosa normal. Os adenocarcinomas endometriais foram negativos ou fracamente positivos. Com o AB, as neoplasias endocervicais e endometriais foram negativas ou fracamente positivas. A técnica com azul de toluidina forneceu melhor resultado, porque apenas 1 caso de adenocarcinoma endocervical não foi positivo, enquanto os adenocarcinomas endometriais foram inteiramente negativos ou fracamente positivos. Devido os dados conflitantes na literatura, os pesquisadores concluíram que não há um padrão específico de coloração para as neoplasias glandulares endocervicais e endometriais. Assim, para eles, a distinção entre estas duas neoplasias não é auxiliada por métodos histoquímicos.

JAWORSKY et al. (1988) analisaram 72 casos de adenocarcinoma endocervical *in situ*. Utilizaram PASd para demonstrar a presença e a distribuição de mucina epitelial e a consideraram necessária para a classificação definitiva da variante endometrióide, onde costuma ser negativa. MATSUKUMA et al. (1989) estudaram adenocarcinomas endocervicais com invasão precoce e sugeriram que a coloração ferro-diamina/Alcian blue reflete as modificações carcinomatosas do epitélio colunar cervical, diferenciando claramente células colunares atípicas de células normais. Nesta pesquisa, as células glandulares normais não reagiram com a coloração AB e foram fortemente positivas com ferro-diamina; nas células glandulares atípicas deu-se o inverso.

Os estudos de SHORROCK et al. (1990) indicaram que é comum a expressão de mucina em carcinomas cervicais. A secreção de mucina foi identificada em 64 casos de adenocarcinomas previamente diagnosticados como carcinomas epidermóides, com os métodos PAS, PASd e Alcian blue pH 2.6. Os autores recomendam a utilização rotineira de técnicas histoquímicas para mucina, em material de endocérvice. Argumentaram que há significativa elevação na incidência das neoplasias mucossecretoras em mulheres jovens, o que parece piorar o prognóstico destas pacientes.

BETHWAITE et al. (1992) avaliaram o prognóstico de carcinomas endocervicais, utilizando as técnicas de PASd e AB pH 2.6. Em um trabalho de revisão, reclassificaram 38 casos, dos quais 31 eram carcinomas escamosos produtores de mucina. Alertaram para a possibilidade de casos falso-positivos quanto à produção de mucina, porque muitas células tumorais com granulação corada pelo PASd, podem, de fato, representar células degeneradas, as quais não se coram com Alcian blue. Reconheceram que a aplicação de técnicas histoquímicas para mucinas, em tumores cervicais, identifica um grupo de carcinomas adenoescamosos não reconhecidos ao H-E.

YOUNG & SCULLY (1989) empregaram as técnicas de mucicarmim, PAS e PASd para diferenciação entre hiperplasia microglandular endocervical com apresentação atípica e neoplasias glandulares malignas. A mucina intracelular é característica das lesões

benignas. Em 1993, esses mesmos autores ressaltaram a utilidade do mucicarmim no estudo de adenocarcinoma endocervical do tipo endometrióide com desvio mínimo. Nas áreas com aspecto semelhante a túbulo mesonéfrico a coloração foi positiva, atestando contra a natureza mesonéfrica da lesão.

3.5 Métodos Imuno-Histoquímicos

O desenvolvimento de técnicas imuno-histoquímicas trouxe novos parâmetros para a interpretação dos casos, na rotina de Patologia Cirúrgica. A aliança que se estabeleceu entre a forma e a função, ampliou a compreensão das doenças, sobretudo esclarecendo pontos obscuros na classificação histogenética dos tumores. As numerosas possibilidades oferecidas por estes métodos de investigação contribuem para o aprimoramento diagnóstico, ora sugerindo a origem de uma lesão maligna, ora fazendo a distinção entre benignidade e malignidade. Podem ser aplicados em cortes histológicos, esfregaços e material de congelação, em microscopia óptica e eletrônica.

A técnica imuno-histoquímica está baseada na ligação específica de um anticorpo a um antígeno tecidual, identificada por um sistema de detecção que permite a localização permanente da reação, após o uso de uma substância geradora de cor (VASSALLO, 1993).

O **antígeno cárcino-embrionário, CEA**, é uma glicoproteína encontrada em tecidos fetais e na vida adulta, bem como em diversas neoplasias. O antígeno cárcino-embrionário e outros antígenos fetais, tais como a alfa-fetoproteína e a proteína oncoplacental (PLAP), são expressos em pequenas quantidades em células maduras, especialmente quando regeneram (FENOGLIO-PREISER, LISTROM & BLUME, 1992). A heterogeneidade de sua porção glicídica se assemelha àquela das glicoproteínas da mucina (CHANDRASEKARAN et al., 1983). Segundo ISAACSON & JUDD (1977), os determinantes antigênicos divididos entre CEA e outras glicoproteínas estão na porção carboidrato das moléculas. Os pesquisadores eliminaram a reatividade cruzada em tecido intestinal, utilizando pré-tratamento com ácido periódico 1%. O ácido converte carboidratos em aldeídos e destrói a peroxidase endógena, sem alterar o componente proteico da molécula e a coloração para CEA. BYCHKOV et al., em 1983, sugeriram que a presença de CEA no epitélio cervical indica diferenciação alterada e, talvez, transformação neoplásica, opinião partilhada por SPEERS et al., no mesmo ano, e YOUNG & CLEMENT, em 1993. HURLIMANN & GLOOR (1984) interpretaram a presença de CEA em 67% dos casos de adenocarcinoma endocervical *in situ* que estudaram, como marcador de proliferação ou disfunção celular, e não de malignidade.

Os trabalhos apontam diversidade no padrão de coloração para CEA no tecido endocervical, ora corando o citoplasma, ora corando apenas a superfície celular ou glicocálice. Entretanto, apenas a reação intracitoplasmática é considerada positiva (COOPER et al., 1987, YOUNG & CLEMENT, 1993). Outras diferenças apontadas na literatura, se relacionam com os tipos de anticorpos utilizados, monoclonais e policlonais. Para MAES et al. (1988) o anticorpo policlonal anti-CEA pode oferecer vantagens, pois reconhece todos os epítopos reativos da molécula do antígeno, resultando em maior sensibilidade. Tais pesquisadores

consideraram ainda que nos adenocarcinomas endocervicais, o epítipo reativo ao anticorpo monoclonal possivelmente não se mantenha estável.

Segundo SHEAHAN et al. (1990), a molécula de CEA tem, no mínimo, entre 10 e 15 epítipos, alguns específicos e, outros, identificados em proteínas imunologicamente relacionadas, tais como glicoproteína biliar e antígeno não-específico de reação cruzada, que apresentam diferenças quanto ao tamanho, estrutura e distribuição tecidual. Esta família de proteínas consiste de aproximadamente dez genes localizados em dois grupos no cromossoma 19. Para estes autores, a pesquisa de CEA pode ser muito útil na identificação da histogênese de neoplasias epiteliais com semelhanças morfológicas.

YOUNG & CLEMENT (1993) afirmaram que a imuno-reatividade negativa para CEA favorece o diagnóstico de benignidade, na maioria das lesões glandulares pseudo-neoplásicas endocervicais, sendo um critério para a identificação da metaplasia tubária. Ponderaram, entretanto, que a experiência com estas lesões ainda é limitada. De acordo com HURLIMANN & GLOOR (1984), é possível que os tipos de anticorpos utilizados, as suas diluições e o tamanho dos espécimes analisados, sejam os responsáveis pelos resultados conflitantes verificados na literatura referente à pesquisa do antígeno cárcino-embriónico.

Vimentina, VIM, é o filamento intermediário predominante nas células mesenquimatosas, e foi originalmente descrita como um marcador para distinguir neoplasias epiteliais e não-epiteliais. Entretanto, foi demonstrado que células epiteliais em proliferação podem expressar VIM (FENOGLIO et al., 1992). Tal expressão pode se alterar no desenvolvimento normal e reparativo; no crescimento *in vitro*, e sob influências hormonais. A presença da VIM em células epiteliais *in vitro*, em cultivos, suspensões celulares e líquidos corporais, tem sido explicada como resultado de alterações no contato e na forma celular (LEADER et al., 1987). A expressão da vimentina em tumores epiteliais pode representar diferenciação mesenquimatosa ou metaplasia (LEONG, 1992).

DABBS et al. (1986) estudaram 20 espécimes de mucosa endocervical normal e 15 espécimes de adenocarcinoma endocervical invasivo, com anticorpo anti-vimentina, e nenhum caso foi positivo. PICKARTZ (1993) afirmou que a endossalpingiose inativa ou proliferativa, no peritônio, expressa VIM, o mesmo acontecendo com a mucosa tubária normal. Não temos conhecimento de trabalhos sobre a imuno-reatividade para vimentina na metaplasia tubária endocervical.

3.6 Tubas uterinas: Considerações sobre o epitélio normal

As tubas uterinas dividem-se em três regiões distintas: istmo, ampola e infundíbulo. Estendem-se das porções laterais do útero aos ovários, onde se abrem na cavidade peritoneal com projeções digitiformes, as fimbrias. Histologicamente a mucosa tubária é constituída por, pelo menos, três tipos celulares: *células ciliadas*, *secretoras* e *intercalares* (WHEELER, 1994). Além disso, podem ser observadas células pequenas, com citoplasma escasso e núcleo arredondado, esparsas na região basal do epitélio, com características semelhantes às dos linfócitos (ODOR, 1974; SCHULTE et al., 1985).

Estudos histoquímicos são discordantes quanto à presença de glicogênio no epitélio tubário. O trabalho de FRUIN & TIGHE (1967) relata a presença de material PAS positivo e diastase-resistente nas células claras ciliadas. Por outro lado, SCHULTE et al. (1985) demonstraram, por microscopia eletrônica, dois tipos de células ciliadas no epitélio tubário normal: um, com numerosas mitocôndrias e pouco glicogênio, outro, com poucas mitocôndrias e freqüentes agregados grosseiros de glicogênio. A interpretação dos autores relaciona a abundância de mitocôndrias com o maior consumo de glicogênio, diminuindo o seu armazenamento intracelular. Ainda neste trabalho, a composição dos glicoconjugados de superfície do epitélio tubário foi investigada por meio de métodos histoquímicos. Nas células secretoras, demonstrou-se a presença de glicoconjugados sulfatados na superfície apical; nas células ciliadas, os compostos sulfatados não foram vistos.

DONNEZ et al. (1985) estudaram trompas durante o ciclo menstrual e sob administração de progesterona. Verificaram que os processos de ciliação, aumento do volume celular e da atividade mitótica ocorrem durante a fase folicular. Na fase lútea, as células sofrem desciliação, redução do volume e da atividade mitótica. Concluíram que a indução e a manutenção do epitélio tubário maduro são controladas pelo estrogênio, e que este efeito é antagonizado pela progesterona.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Revimos os arquivos do Departamento de Anatomia Patológica, da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, de 1987 a 1994. Seleccionamos **18 casos** bem caracterizados de **metaplasia tubária** e **16 casos** de **adenocarcinoma *in situ***, na endocérvice.

Avaliamos **27 pacientes**: em 7 pacientes encontramos as duas lesões. Os espécimes foram obtidos por **biópsia, conização ou histerectomia**, de acordo com a indicação clínica. O diagnóstico definitivo foi efetuado em 1 caso de biópsia, 15 cones e 11 peças de histerectomia, embora dois tipos de procedimento tenham sido verificados em 8 casos. O material estava fixado em formalina 10% e embocado em parafina. Examinamos os cortes histológicos corados pelo método **hematoxilina-eosina** e submetidos a reações histoquímicas para mucinas, **Alcian blue** (ou azul de Alcian) pH 2.5; **mucicarmim**; **PAS** e **PAS com diastase**, além de reações imuno-histoquímicas para demonstração de **antígeno cárcino-embrionário (CEA)** e **vimentina**.

Para o diagnóstico de metaplasia tubária endocervical, utilizamos os seguintes critérios: presença dos três tipos celulares característicos - *células claras*, *células intercalares* e *células ciliadas*; ausência de atipias nucleares acentuadas e verdadeira estratificação; ausência ou escassez de mitoses. Para o diagnóstico de adenocarcinoma *in situ* endocervical, preconizamos os critérios de estratificação e atipias nucleares; figuras de mitose e ausência de invasão estromal.

Realizamos a pesquisa histoquímica em cortes desparafinizados de 4 milimicrons, obedecendo às seguintes técnicas:

Alcian blue (azul de Alcian)

Solução de Alcian blue em ácido acético glacial a 3%, pH 2.5, durante 30 minutos, com passagens posteriores em água destilada, água corrente, álcool e xilol, para demonstração de mucinas epiteliais ácidas. As células mucossecretoras do epitélio endocervical normal coram-se em azul claro.

Mucicarmim

Solução de carmim, cloreto de alumínio anidro, água destilada e álcool 50%, durante 30 minutos, com passagens em água destilada, álcool e xilol, para demonstração de mucinas epiteliais ácidas. Contra-coloração com

hematoxilina de Harris. As células mucossecretoras do epitélio endocervical normal coram-se em vermelho; os núcleos coram-se em roxo.

PAS e PAS com diastase

Solução de ácido periódico 0.5% em água destilada durante 60 minutos; reativo de Schiff (fucsina básica, ácido clorídrico, metabissulfito de sódio e carvão ativado, em água destilada) durante 30 minutos; passagens em água destilada, água corrente, álcool e xilol, para demonstração de mucinas epiteliais neutras. Contra-coloração com hematoxilina de Harris. As células mucossecretoras do epitélio endocervical normal coram-se em magenta; os núcleos coram-se em roxo. Na técnica com o uso da diastase, esta é aplicada antes do ácido periódico. As mucinas epiteliais resistem à aplicação da diastase; o mesmo não ocorre com o glicogênio.

Realizamos as pesquisas de CEA e vimentina segundo procedimentos de imuno-histoquímica (HSU, RAINE, FANGER, 1981) com modificações; técnica da estreptavidina - biotina - peroxidase, em secções de 4 milimicrons. As lâminas foram previamente lavadas, desengorduradas e tratadas com organo-silano a 2% em acetona (3-amino propiltrietoxi-silano Sigma código A 3648).

O procedimento consiste nas seguintes etapas:

- ▷ Desparafinização em 3 cubas de xilol e 5 cubas de álcool decrescente, por 35 minutos;
- ▷ lavagem em água corrente e destilada;
- ▷ eliminação da atividade da peroxidase endógena com H₂O₂ a 3% em metanol;
- ▷ passagem em forno de microondas com tampão citrato pH 6.0 por 10 minutos, em ebulição, para evidenciar antígenos;
- ▷ bloqueio de reações não-específicas com soro não-imune, por 20 minutos;
- ▷ aplicação dos anticorpos primários: policlonal anti-CEA (A 115 Dako, diluição 1:1000) e monoclonal anti-VIM (M 725 Dakopatts, diluição 1:20), durante 2 horas;
- ▷ lavagens com tampão fosfato (Phosphate Buffer Saline, pH 7.6);
- ▷ aplicação do sistema de detecção: anticorpo secundário, Multilink (E 453 Dakopatts, diluição 1:150) e Streptavidin-Biotin Complex (K 377 Dako, diluição 1:100), intercalados por lavagens de tampão fosfato e
- ▷ coloração com DAB (3,3 tetra-hidrocloreto de diaminobenzidina, D 5637 Sigma); contra-coloração com hematoxilina de Mayer.

Analizamos cortes de mucosa colônica para controle positivo de CEA. Para vimentina, a coloração da parede vascular representou o controle interno positivo. O epitélio glandular endocervical foi controle interno

negativo para os dois antígenos. Consideramos **positivos** os casos que apresentaram coloração intracitoplasmática, tanto nas técnicas histoquímicas quanto nas imuno-histoquímicas. Subdividimos a positividade das colorações em **intracitoplasmática focal**, quando encontramos agrupamentos celulares ou células isoladas coradas, ao lado de outras não coradas, e **intracitoplasmática difusa**, quando houve coloração na maioria das células da estrutura glandular estudada.

Utilizamos o teste do *qui-quadrado* (χ^2) e a *probabilidade exata de Fisher* para análise estatística, com nível de significância de 0,05.

Realizamos um **teste piloto** para comparar os resultados histoquímicos e imuno-histoquímicos no epitélio tubário normal. Para isso, estudamos **8 casos** de trompas uterinas, obtidas por salpingectomia. Todas as pacientes estavam em idade fértil, sem gravidez ou qualquer doença tubária. Avaliamos os cortes histológicos das tubas, corados com as mesmas técnicas utilizadas para o colo uterino; não houve nenhuma modificação no método empregado.

5. RESULTADOS

Estudamos **34 casos**, em **27 pacientes**, com peças de biópsia, conização e histerectomia. Em **7 casos**, a mesma paciente apresentou as **2 lesões** estudadas. A faixa etária variou de **21 a 74 anos** - *média de 43.9 e desvio-padrão de 10.9 para MT; média de 45.9 e desvio-padrão de 12.6 para AIS* (Tabela 1).

Todos os casos de metaplasia tubária estavam associados a pelo menos uma outra condição endocervical benigna, pré-maligna ou maligna. Diagnosticamos processos inflamatórios inespecíficos com focos de metaplasia escamosa e intestinal, hiperplasias glandulares, remanescentes embrionários e neoplasias intra-epiteliais e invasivas, escamosas ou glandulares. Na maioria das vezes (83%), a MT se encontrava na parte superior do colo uterino; entretanto, também se localizou na porção inferior do canal (61%). Tanto o epitélio de revestimento superficial (28%), como as glândulas superficiais ou profundas exibiam o epitélio tubário metaplásico (39%).

Em 10 dos 16 casos de AIS (63%) havia focos de adenocarcinoma com invasão incipiente (3 espécimes) ou franca (7 espécimes). Em 11 casos de AIS (69%) encontramos associação com atipias do epitélio escamoso: 1 neoplasia intra-epitelial grau I, com evidências de associação viral - HPV; 7 carcinomas *in situ*; 2 carcinomas microinvasores e 1 carcinoma adenoescamoso francamente invasor.

A coloração rotineira de hematoxilina-eosina demonstrou aspectos característicos de acordo com os critérios da literatura, nos 34 casos selecionados (Figuras 1, 2, 3 e 4). Observamos diversas combinações de tipos histológicos de AIS. A variante endometrióide esteve presente em 11 dos 16 casos (69%).

As colorações histoquímicas para mucina exibiram o mesmo padrão de **positividade intracitoplasmática focal**, em 12 dos 18 casos (67%) de metaplasia tubária e em 12 dos 16 casos (75%) de adenocarcinoma *in situ* (Tabelas 2, 3, 4 e 5; Figuras 5, 6 e 7). Nenhum caso de MT e apenas 1 caso de AIS apresentou **positividade intracitoplasmática difusa** (Figura 8). Todos os espécimes de MT e 13 dos 16 espécimes de AIS (81%) apresentaram **coloração superficial** nos diferentes métodos empregados: a superfície luminal ou os cílios estavam corados (Figura 9).

A análise estatística com o teste do *qui-quadrado* demonstrou que as colorações histoquímicas não fazem diferença significativa entre as duas lesões:

$\chi^2 = 0.926$; $p = 0.03360$ $\therefore p > 0.05$; 1 grau de liberdade (Tabela 6).

Com relação aos métodos imuno-histoquímicos obtivemos os seguintes resultados: 7 casos (39%) de metaplasia tubária foram positivos para CEA e 14 casos (78%) foram positivos para vimentina (Figura 10). Dentre os 7 espécimes de metaplasia tubária positivos para CEA, apenas 1 (14%) foi negativo para vimentina; os outros 6 espécimes (86%) positivos para CEA, também foram positivos para vimentina. Dos 16 casos de adenocarcinoma *in situ* 10 (63%) resultaram positivos para CEA e nenhum deles foi positivo para vimentina (Figuras 11 e 12; Tabelas 7 e 8). A intensidade da coloração para CEA foi leve, focal ou difusa, e para a vimentina foi leve e moderada, geralmente difusa.

A análise estatística, feita com os testes do *qui-quadrado* e a *probabilidade exata de Fisher*, não demonstrou diferença significativa na reatividade para CEA : $\chi^2 = 1.8889$; $p = 0.168$ $\therefore p > 0.05$; 1 grau de liberdade, e diferença significativa na reatividade para VIM: *probabilidade exata de Fisher* = 0.2198×10^{-6} ; $p < 0.05$ (Tabelas 9 e 10). A pesquisa para CEA demonstrou *índice de sensibilidade* de 63% e *índice de especificidade* de 61%, com *valor preditivo positivo* de 59% e *valor preditivo negativo* de 64%. A pesquisa para vimentina demonstrou *sensibilidade* de 78% e *especificidade* de 100%, com *valor preditivo positivo* de 100% e *valor preditivo negativo* de 80% (Tabela 11).

Com as reações histoquímicas do **teste piloto** no epitélio de trompas normais, os **8 casos** tiveram o mesmo comportamento: apresentaram coloração apical e superficial com Alcian blue pH 2.5; foram negativos com mucicarmim; revelaram positividade intracitoplasmática focal com PAS (Figura 13) e foram negativos com PASd. Quanto aos resultados imuno-histoquímicos para CEA, todos os espécimes foram negativos; a reação para vimentina foi positiva em 6 casos (75%), com padrão focal leve (Figura 14; Tabela 12).

Tabela 1. Relação dos casos estudados.

Casos estudados	Idade	Material			Lesões endocervicais
		B	C	H	
1	46	X		X	MT + AIS
2	43	X			AIS
3	55		X		AIS
4	72	X		X	MT
5	48		X		AIS
6	46		X		AIS
7	40		X		MT + AIS
8	44	X		X	MT
9	21		X		AIS
10	50			X	MT
11	24		X		MT
12	34	X		X	MT
13	57	X		X	MT + AIS
14	33	X	X		AIS
15	74		X		AIS
16	39			X	MT + AIS
17	38			X	MT + AIS
18	36			X	AIS
19	59	X		X	MT + AIS
20	40		X	X	MT
21	59			X	AIS
22	45		X		MT
23	41		X		MT + AIS
24	51		X		MT
25	34		X		MT
26	36		X		MT
27	41		X		MT

B = biópsia

C = conização

H = histerectomia

MT = metaplasia tubária endocervical

AIS = adenocarcinoma endocervical *in situ*

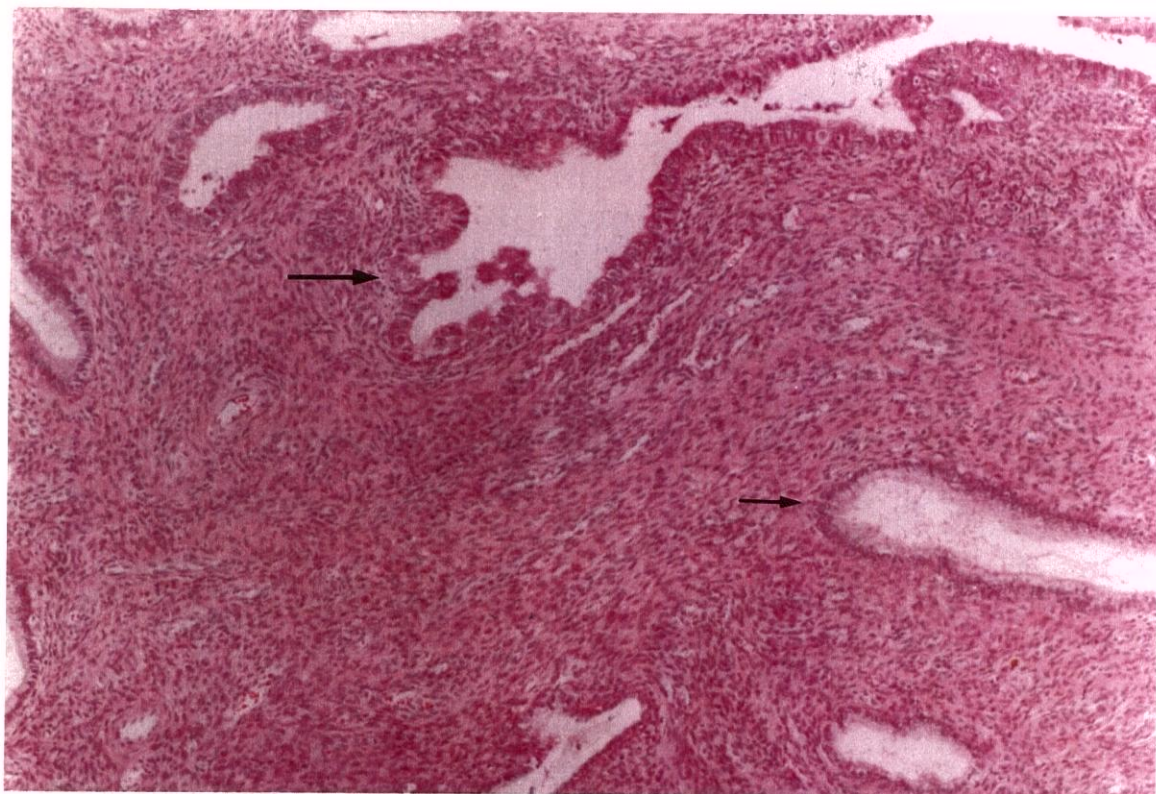


Figura 1. MT: irregularidade do contorno glandular (seta maior) em comparação com a mucosa normal (seta menor). H-E. 80 x.

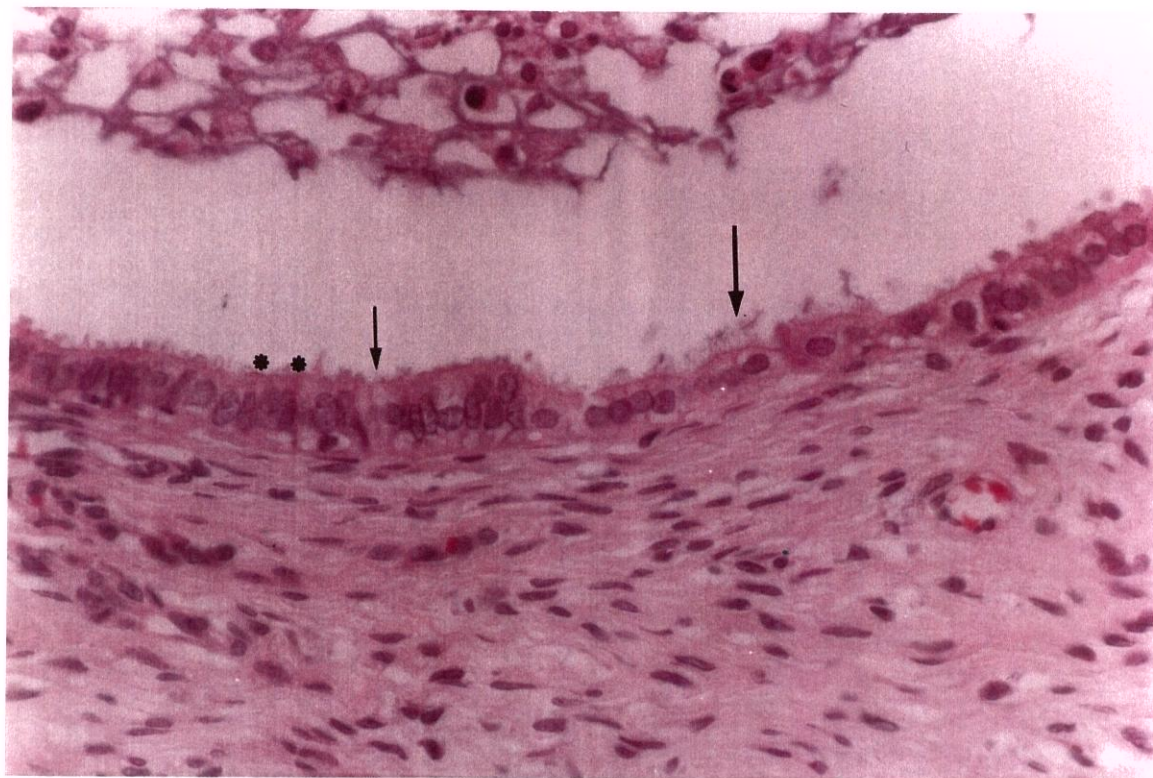


Figura 2. MT: células *ciliadas* (seta maior); células *secretoras não-ciliadas* (seta menor) e células *intercalares* (asterisco). H-E. 400 x.

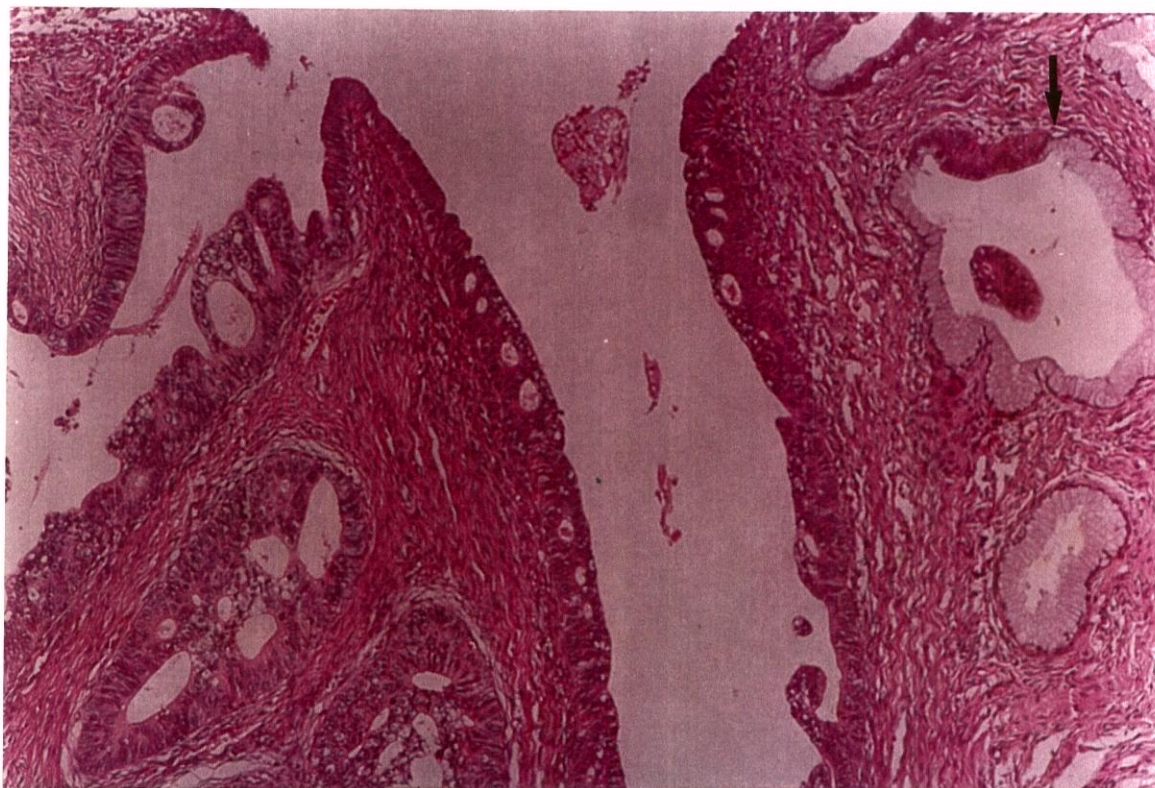


Figura 3. AIS: nítida transição entre o epitélio atípico e o epitélio normal (seta). H-E. 200 x.

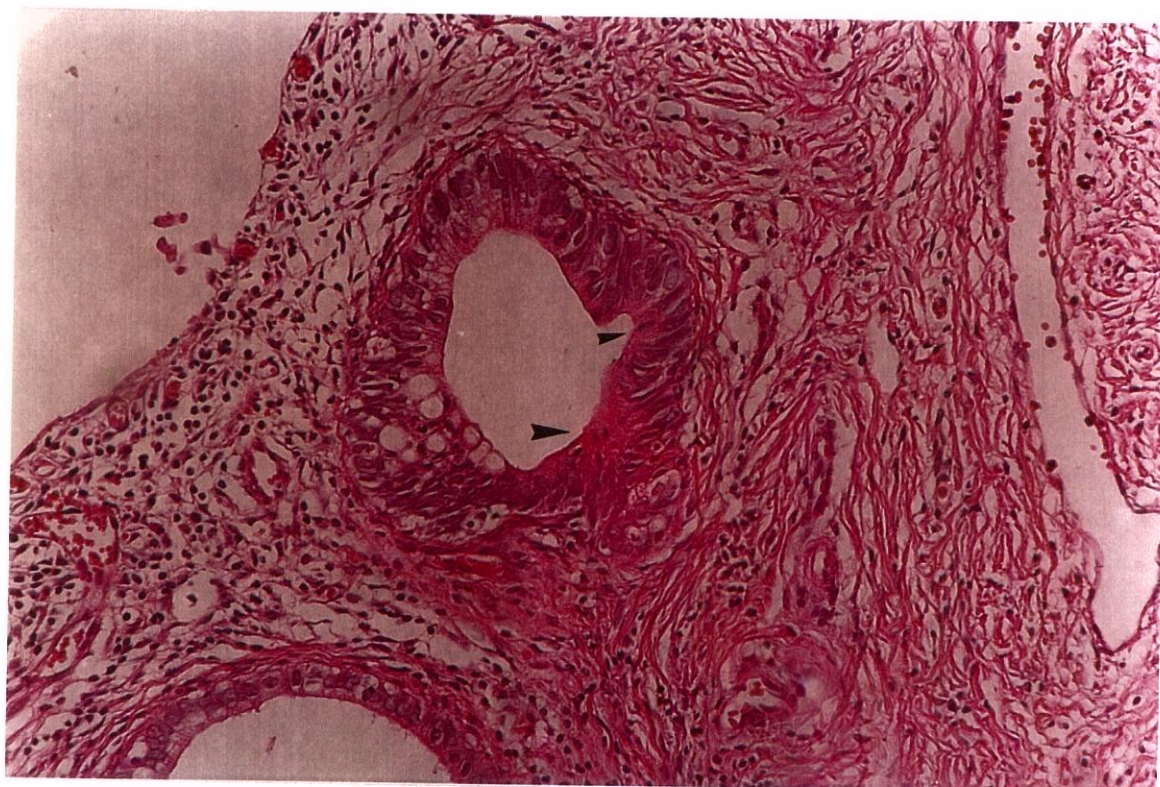


Figura 4. AIS: epitélio atípico pseudo-estratificado e com atividade mitótica (seta). H-E. 400 x.

Tabela 2. Localização de mucinas de acordo com a coloração histoquímica.
Casos de metaplasia tubária endocervical (n=18).

	Intracitoplasmática								Superficial			
	Focal				Difusa							
	Ab	Mc	Pas	Pas d	Ab	Mc	Pas	Pas d	Ab	Mc	Pas	Pas d
1	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
2	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
3	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
4	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
5	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
6	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
7	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
8	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
9	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
10	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
11	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
12	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
13	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
14	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
15	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
16	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
17	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
18	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+

Ab = Alcian blue

Mc = mucicarmim

Pas = periodic acid Schiff

Pas d = periodic acid Schiff / diastase

Tabela 3. Localização de mucinas de acordo com a coloração histoquímica.
Casos de adenocarcinoma *in situ* (n= 16)

	Intracitoplasmática								Superficial			
	Focal				Difusa							
	Ab	Mc	Pas	Pas d	Ab	Mc	Pas	Pas d	Ab	Mc	Pas	Pas d
1	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
2	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
3	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
6	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
9	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
10	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
11	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
12	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
13	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
16	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+

Ab = Alcian blue

Mc = mucicarmim

Pas = periodic acid Schiff

Pas d = periodic acid Schiff / diastase

Tabela 4. Resultados da coloração histoquímica para mucina nos casos de metaplasia tubária endocervical (n= 18).

AB		MC		PAS		PASd	
+	-	+	-	+	-	+	-
12	6	12	6	12	6	12	6

Tabela 5. Resultados da coloração histoquímica para mucina nos casos de adenocarcinoma endocervical *in situ* (n= 16).

AB		MC		PAS		PASd	
+	-	+	-	+	-	+	-
13	3	13	3	13	3	13	3

AB = Alcian blue

MC = mucicarmim

PAS = periodic acid Schiff

PAS d = periodic acid Schiff / diastase

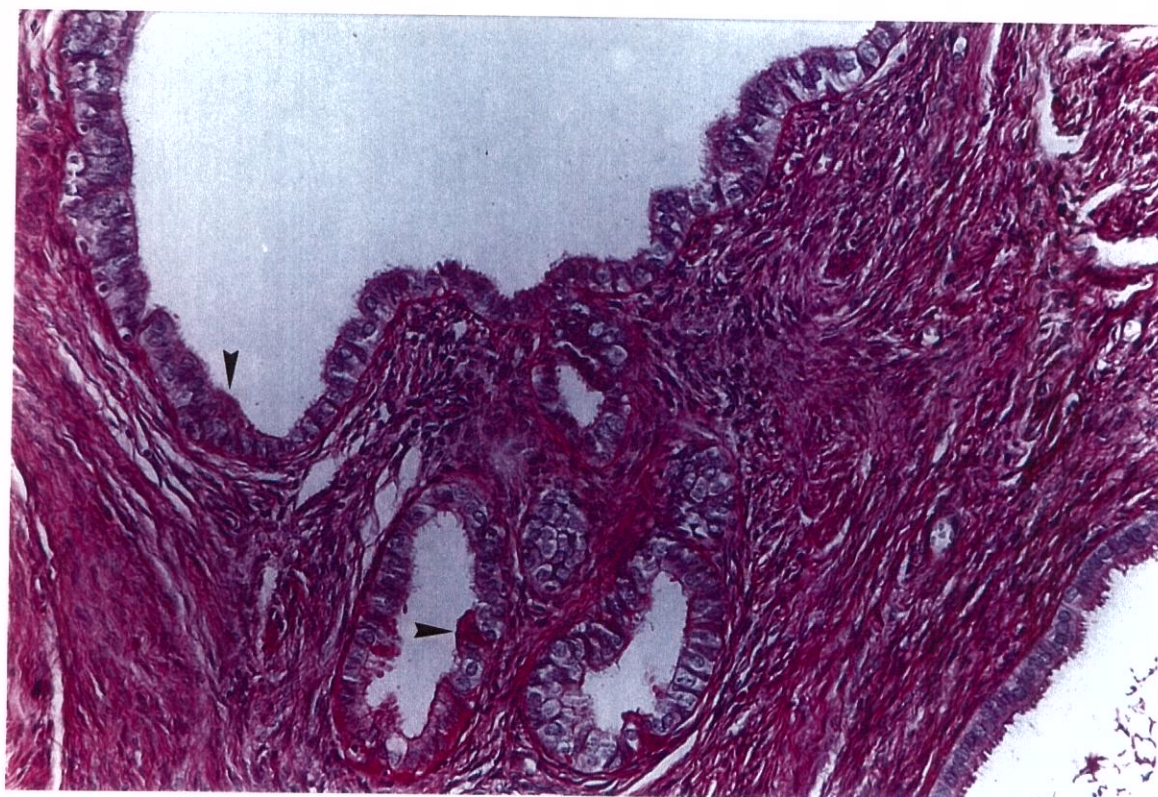


Figura 5. **MT**: positividade intracitoplasmática focal (seta). **PAS**. 200 x.

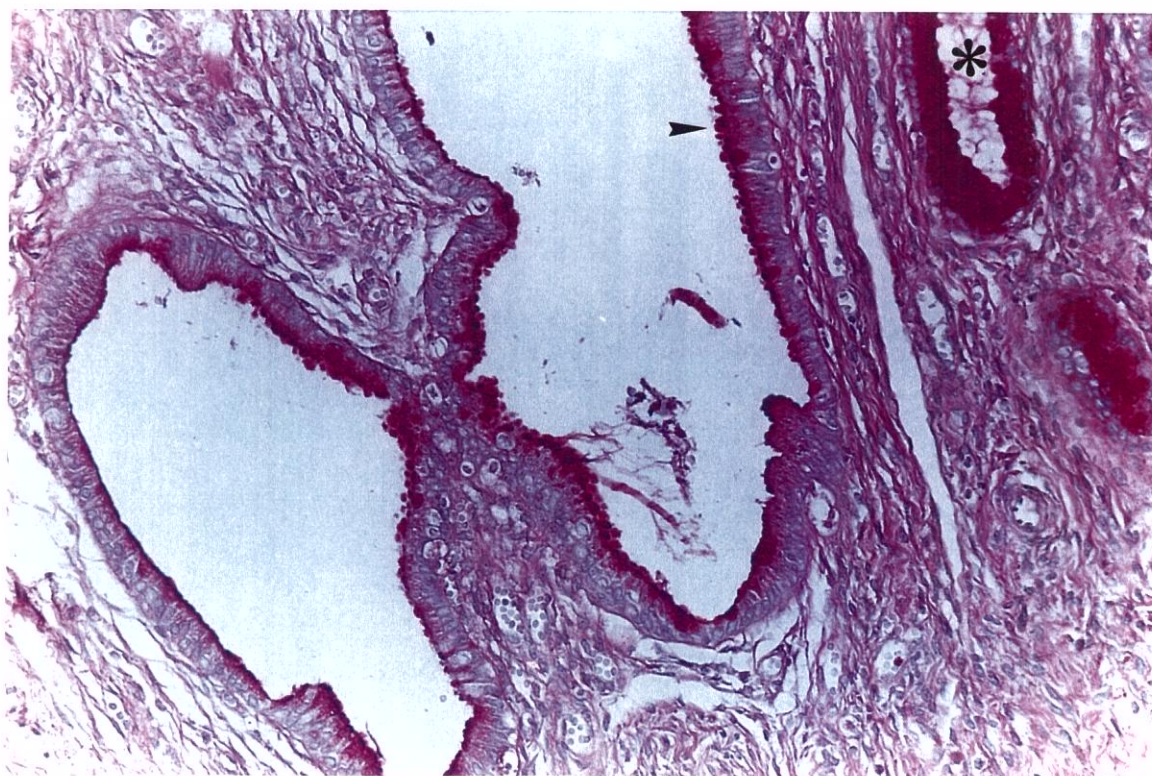


Figura 6. **MT**: positividade intracitoplasmática focal (seta) em contraste com a glândula normal (asterisco). **PASd**. 200 x.

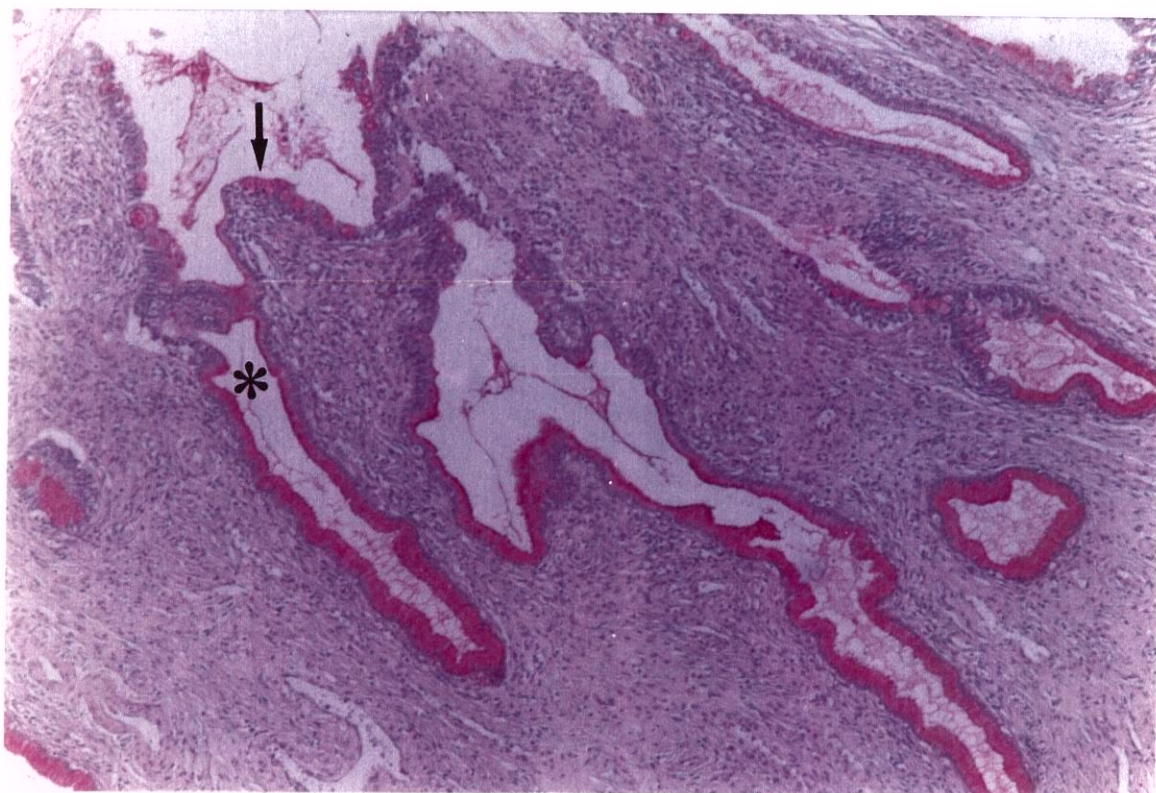


Figura 7. AIS: positividade intracitoplasmática focal (seta) em contraste com a glândula normal (asterisco). MC. 80 x.



Figura 8. AIS: positividade intracitoplasmática difusa. AB. 200 x.

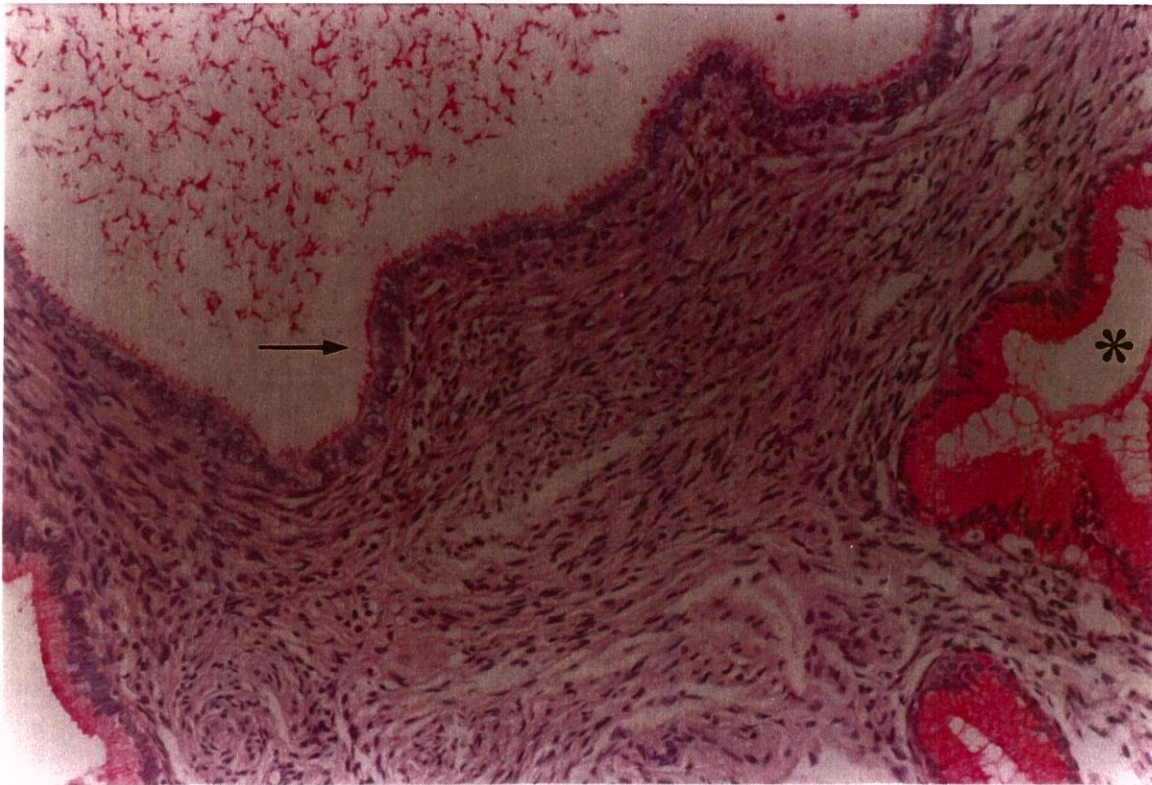


Figura 9. **MT**: coloração superficial - borda luminal e cílios (seta) em contraste com a glândula normal (asterisco). **MC**. 200 x.

Tabela 6. Comparação entre os resultados da coloração histoquímica para mucina nos casos de metaplasia tubária endocervical e adenocarcinoma endocervical *in situ*.

	positivo	negativo	Total
MT	12	6	18
AIS	13	3	16
Total	25	9	34

Teste do qui quadrado: $p > 0.05$

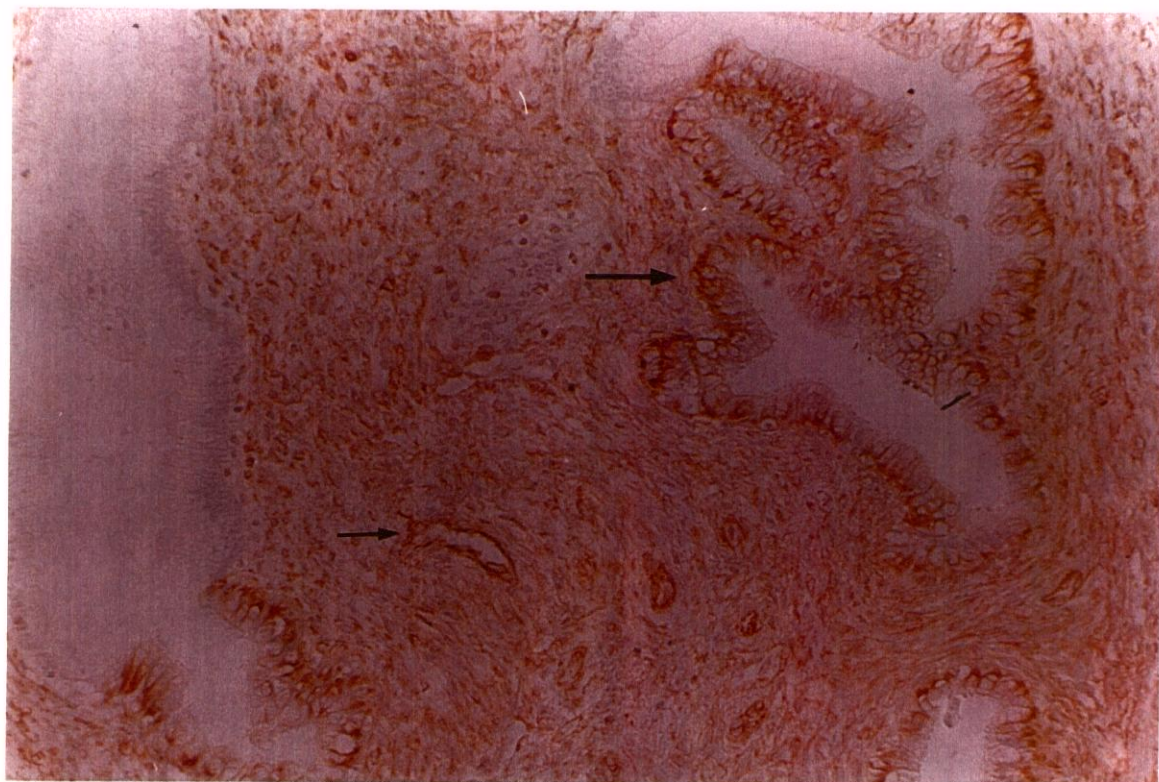


Figura 10. **MT**: positividade intracitoplasmática focal para **vimentina** (seta maior). Controle interno positivo - parede vascular (seta menor). 200x.

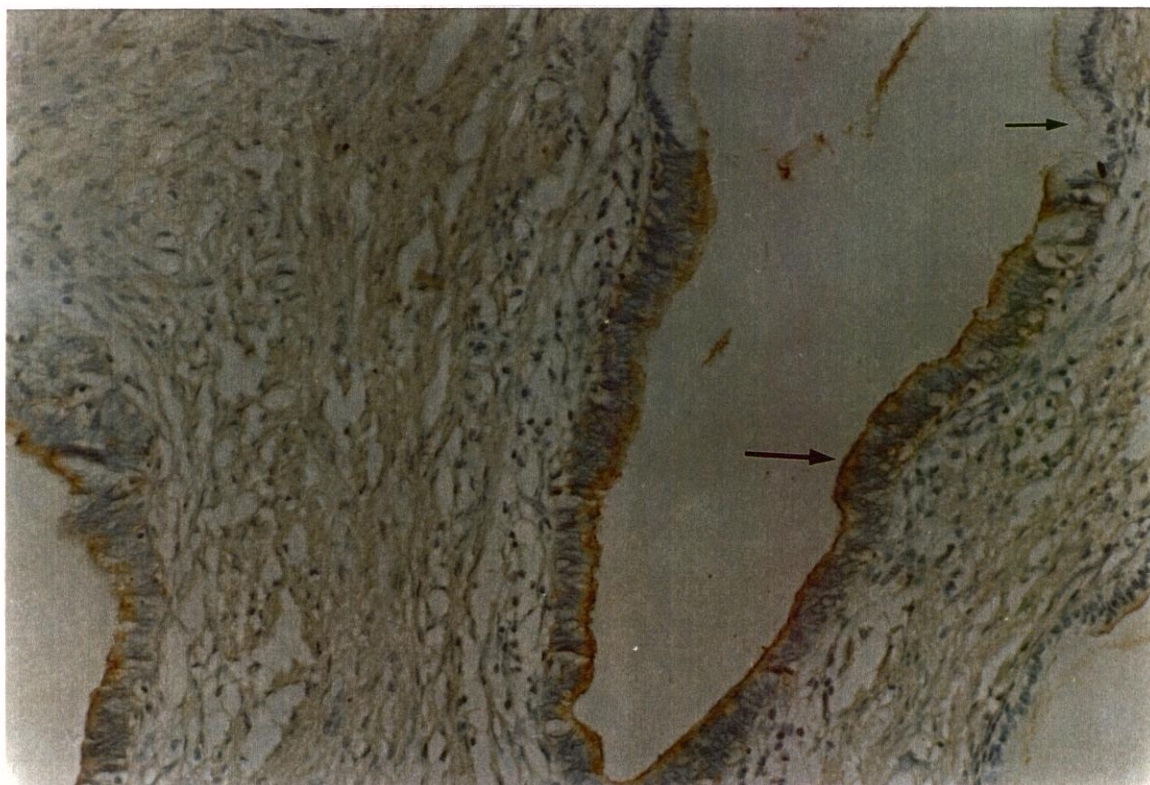


Figura 11. AIS: positividade intracitoplasmática focal para CEA (seta maior) em contraste com o epitélio normal (seta menor). 200 x.

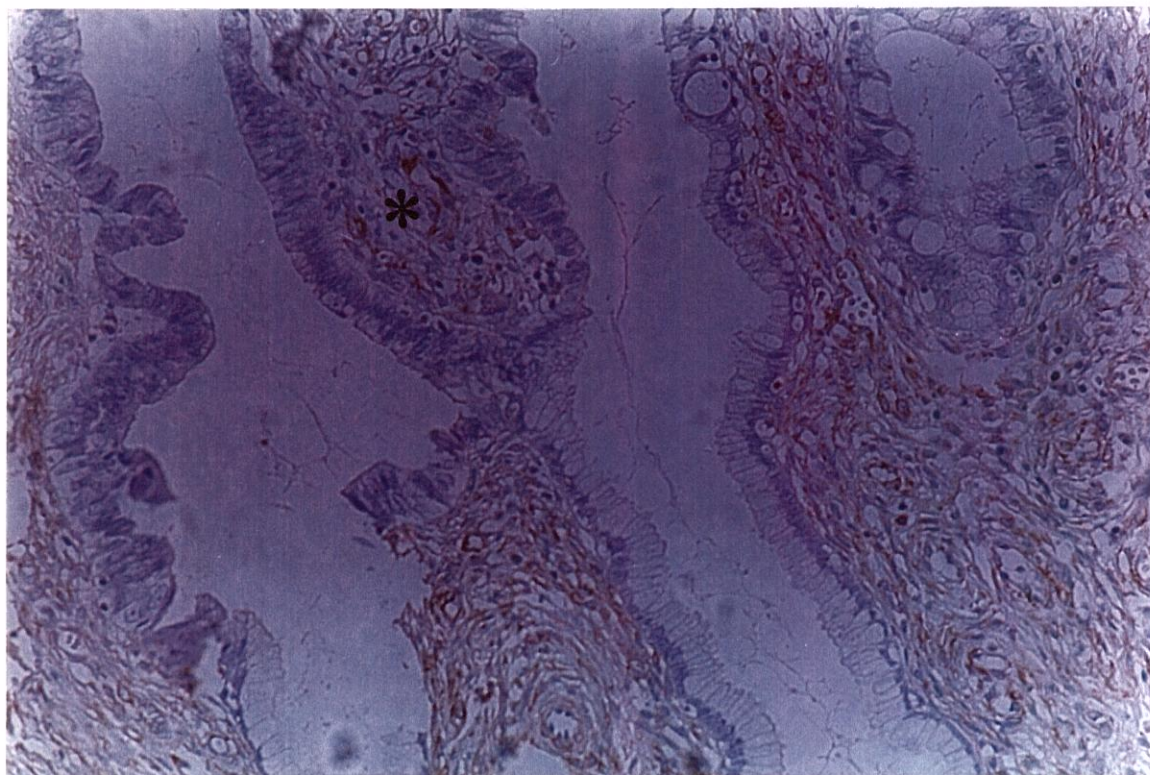


Figura 12. AIS: negatividade para **vimentina**. Controle interno positivo - parede vascular (asterisco). 200 x.

Tabelas 7 e 8. Resultados da análise imuno-histoquímica nos casos de metaplasia tubária endocervical e adenocarcinoma endocervical *in situ*.

MT (n=18)

	CEA+	CEA-	Total
VIM+	6	8	14
VIM-	1	3	4
Total	7	11	18

AIS (n=16)

	CEA+	CEA-	Total
VIM+	–	–	0
VIM-	10	6	16
Total	10	6	16

Tabelas 9 e 10. Comparação entre os resultados imuno-histoquímicos nos casos de metaplasia tubária endocervical e adenocarcinoma endocervical *in situ*.

	MT	AIS	Total
CEA+	7	10	17
CEA-	11	6	17
Total	18	16	34

	MT	AIS	Total
VIM+	14	0	14
VIM-	4	16	20
Total	18	16	34

Teste do qui quadrado: $p > 0.05$

Teste exato de Fisher: $p < 0.05$

CEA = carcinoembryonic antigen
(antígeno cárcino-embrionário)
VIM = vimentina

Tabela 11. Resultados estatísticos da análise imuno-histoquímica nos casos de metaplasia tubária endocervical e adenocarcinoma endocervical *in situ*.

	CEA	VIM
SENSIBILIDADE	63%	78%
ESPECIFICIDADE	61%	100%
VALOR PREDITIVO +	59%	100%
VALOR PREDITIVO -	64%	80%

CEA = carcinoembryonic antigen
(antígeno cárcino-embrionário)

VIM = vimentina

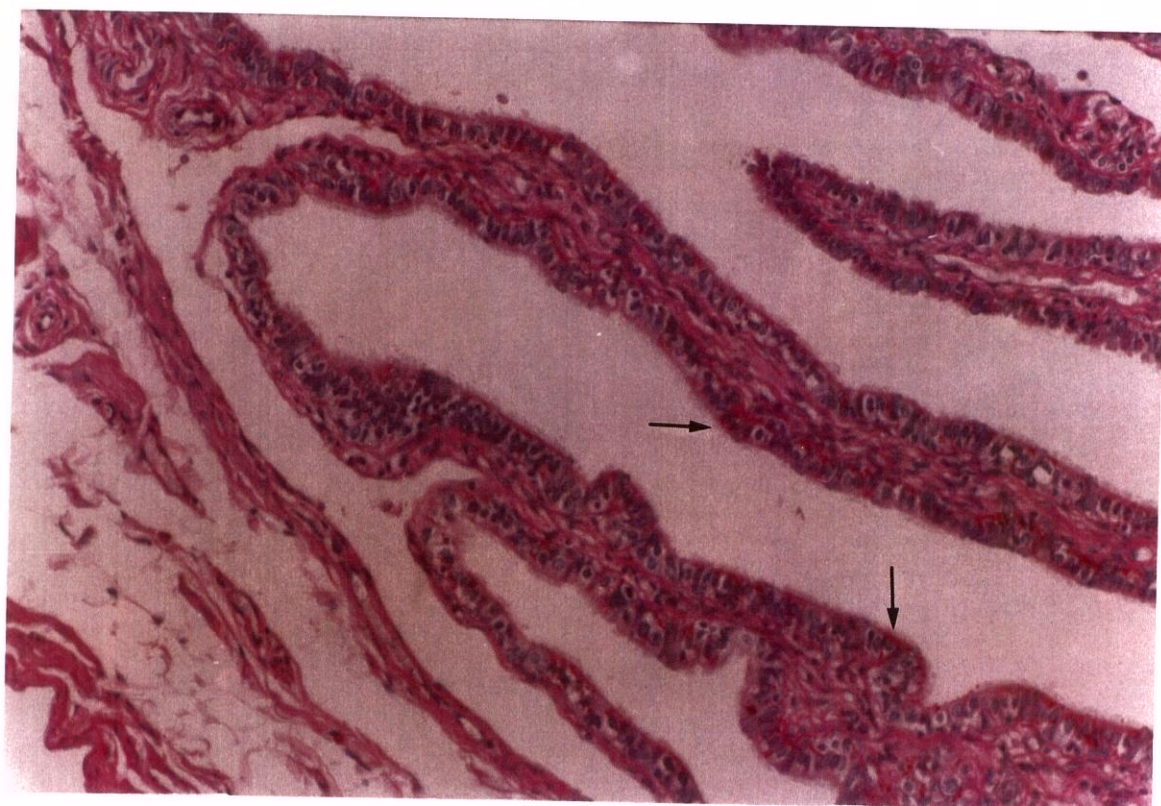


Figura 13. **Epitélio tubário normal:** positividade intracitoplasmática focal (seta). PAS. 200 x.

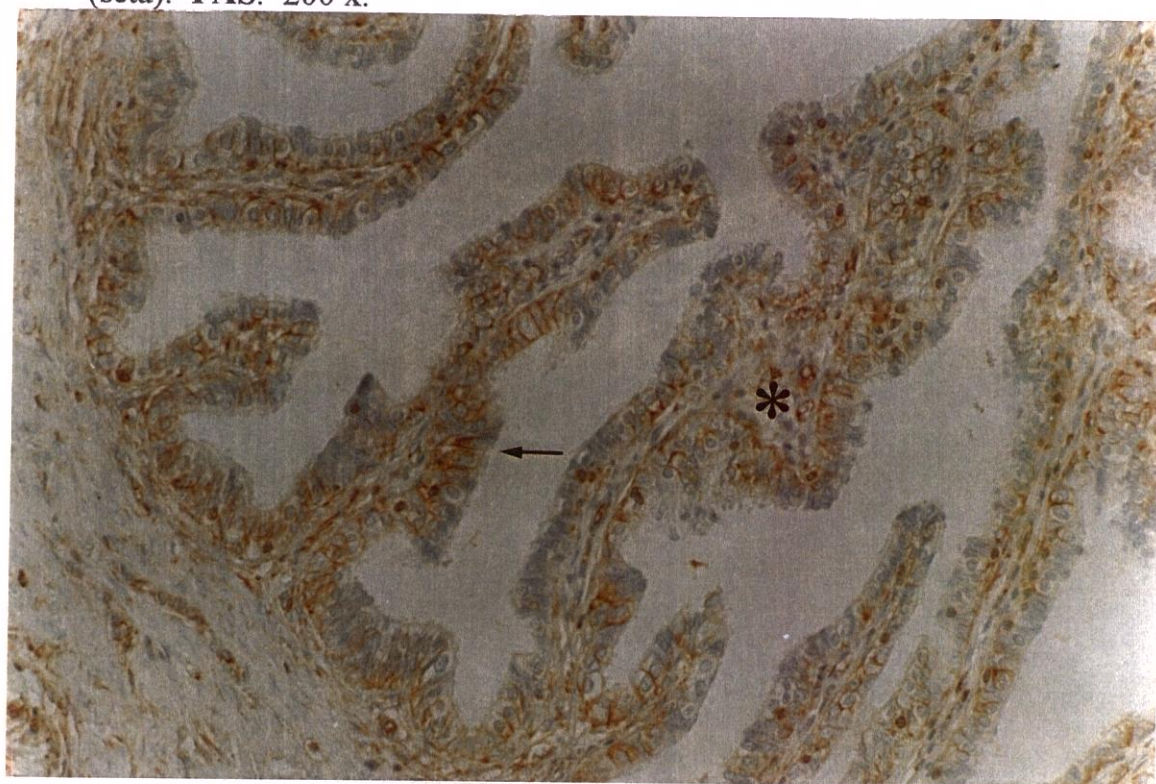


Figura 14. **Epitélio tubário normal:** positividade intracitoplasmática focal para **vimentina** (seta). Controle interno positivo - parede vascular (asterisco). 200 x.

Tabela 12. Resultados da análise imuno-histoquímica nos casos de tuba uterina. Teste piloto (n=8)

	VIM+	VIM-	Total
CEA +	0	0	0
CEA-	6	2	8
Total	6	2	8

CEA = carcinoembryonic antigen
(antígeno cárcino-embrionário)

VIM = vimentina

6. DISCUSSÃO

A importância das lesões glandulares cérvico-uterinas vem aumentando à medida que se aprimoram as técnicas utilizadas no seu reconhecimento e a habilidade na interpretação dos espécimes (DUCATMAN et al., 1993; JONASSON et al., 1992). Nas duas últimas décadas cresceu muito o interesse pelo estudo da endocérvice. São numerosas as publicações que ampliam a compreensão da patogênese de entidades conhecidas, ao lado de outras que descrevem novas entidades (LAWRENCE, 1991; YOUNG & CLEMENT, 1993).

Para se obter amostragens endocervicais, preconiza-se a utilização rotineira da escova, e quando necessário, o exame colposcópico, associado à curetagem ou biópsia convencional (HURT et al., 1977; DUCATMAN et al., 1993). A análise microscópica dos espécimes citológicos e histológicos obedece primeiramente aos métodos usuais de processamento e coloração. Entretanto, métodos adicionais para diagnóstico têm sido procurados face as dificuldades encontradas na distinção entre algumas condições (KORHONEN, 1978; COHEN et al., 1982; YOUNG & CLEMENT, 1993).

O epitélio glandular da endocérvice pode sofrer vários tipos de metaplasia: escamosa, tubária, endometrial, intestinal e urotelial. Do ponto de vista de frequência e conhecimento da lesão, apenas a metaplasia escamosa tem o conceito bem estabelecido (SUH & SILVERBERG, 1990; YEH et al., 1993). Metaplasia tubária é a presença de epitélio benigno semelhante ao da tuba uterina, substituindo o epitélio de outros locais no trato genital feminino. As células ciliadas integram normalmente o revestimento endometrial e endocervical, porém são os elementos predominantes apenas no epitélio da trompa (NOVOTNY et al., 1992).

Em 1932, NOVAK relatou, em casos de cervicite crônica e cistos de retenção, epitélio glandular "histologicamente indistinguível daquele encontrado nas tubas". De acordo com LAUHLAN (1984) o epitélio tubário é o mais ubiqüitário dos epitélios Müllerianos. Descrita frequentemente no endométrio, a metaplasia tubária parece estar relacionada a estados hiperestrogênicos nesta localização (SUH & SILVERBERG, 1990; NOVOTNY et al., 1992; DUCATMAN et al., 1993). Entretanto, o seu encontro no colo uterino ainda é pouco descrito e a sua frequência não é conhecida, bem como as causas às quais estaria relacionada. ISMAIL (1991) considera a MT rara no colo uterino, enquanto LAUHLAN (1984) e JONASSON et al. (1992) a descrevem como uma lesão comum, propondo que esteja relacionada a evento fisiológico,

resultante de estímulo hormonal. Outros autores acreditam que sua frequência real está subestimada (SUH & SILVERBERG, 1990; YEH et al., 1993). BROWN & WELLS (1986) detectaram MT em 4 de 105 casos de neoplasia intra-epitelial escamosa de alto grau e em nenhum dos 100 casos-controle.

Apesar dessa discordância de dados na literatura, existe consenso quanto à falta de gravidade da lesão; não há potencial de malignidade. Apesar disso, YOUNG & SCULLY, num trabalho de 1993, consideraram a participação do epitélio tubário metaplásico na gênese do adenocarcinoma endocervical com desvio mínimo do tipo endometrióide. Dizem esses pesquisadores que a ausência do fenômeno de metaplasia em 2 dos 5 tumores estudados, pode ser devida ao tamanho dos espécimes ou à alta diferenciação das glândulas neoplásicas, o que dificulta a identificação precisa do epitélio benigno.

A metaplasia tubária também foi diagnosticada junto a focos de endometriose cervical (WOLFE, MACKLES, GREENE, 1961) e na superfície peritoneal (PICKARTZ, 1993). Quadro semelhante, denominado **metaplasia tubo-endometrial**, foi relatado em casos de adenose vaginal, por ROBBOY et al., em 1984. ISMAIL, em 1991, descreveu a **metaplasia tubo-endometrióide** no colo uterino: células exibindo secreção apical e conferindo à glândula da endocérvice, características de epitélio endometrial. Associou o evento à regeneração do tecido após trauma cirúrgico. Segundo este autor, o encontro freqüente de metaplasia tubária em esfregaços de pacientes conizadas deve ser interpretado como alteração regenerativa. O desconhecimento desta lesão faz com que seja usualmente confundida com atipia glandular neoplásica.

A metaplasia tubária endocervical ainda não foi associada a qualquer situação clínica ou morfológica específica. Sua importância vem aumentando na literatura recente devido à dificuldade que é capaz de criar no diagnóstico diferencial com o adenocarcinoma *in situ*, e tem sido descrita como lesão pseudo-tumoral do colo uterino (KURMAN et al., 1992; YOUNG & CLEMENT, 1993). NOVOTNY et al. (1992) chegam a afirmar que a MT seja a condição endocervical mais freqüentemente confundida com AIS. De fato, a literatura apresenta relatos de revisão citológica e histológica, onde aconteceram erros diagnósticos em espécimes de endocérvice com metaplasia tubária (PACEY et al., 1988; VAN LE et al., 1991; DUCATMAN et al., 1993).

A lesão pode ser vista em espécimes de biópsias, cones e histerectomias e sua prevalência no colo uterino parece estar relacionada ao maior número de fragmentos examinados (JONASSON et al., 1992). No nosso trabalho, estudamos 18 casos de MT, obtidos por conização (8 peças) e histerectomia (10 peças), onde houve inclusão de toda a cérvice, com boa amostragem do material.

Confirmamos em nossa casuística a localização preferencial da MT no segmento superior do colo uterino (83% dos casos), observada por

JONASSON et al. (1992). Este fato, porém, não exclui a presença concomitante nos segmentos inferiores (61%), tanto no epitélio de revestimento superficial (28%) quanto em glândulas superficiais e profundas (39%). Isto repercute nos esfregaços do colo uterino, obtidos por escovação do canal, onde as células de MT podem ser encontradas e confundidas com atipias neoplásicas. Todos os nossos casos estavam associados a várias outras entidades, neoplásicas ou não-neoplásicas, em acordo com os achados de SUH & SILVERBERG (1990) e JONASSON et al. (1992).

Na metaplasia tubária, o epitélio mucoso endocervical é substituído por três tipos celulares: *células ciliadas, secretoras não-ciliadas e intercalares*, semelhantes àquelas da mucosa tubária normal. As células estão dispostas geralmente em camada única; é possível, porém, observar trechos de pseudo-estratificação, além de multifocalidade inter e intraglandular (SUH & SILVERBERG, 1990; NOVOTNY et al., 1992). A arquitetura glandular habitualmente não se altera e o diagnóstico se apóia no aspecto citológico, embora seja notada certa irregularidade no contorno das glândulas (LAWRENCE, 1991; JONASSON et al., 1992). A distinção com adenocarcinoma *in situ* se baseia na presença dos três tipos celulares referidos, na ausência de atipias nucleares e estratificação celular e na ausência ou escassez de figuras de mitose (NOVOTNY et al., 1992).

A revisão da literatura efetuada por AYER et al., em 1987, registrou poucos relatos de adenocarcinoma endocervical *in situ* ocorrendo isoladamente a partir da descrição do AIS por FRIEDEL & McKAY, em 1953. Os casos geralmente estão associados a atipias escamosas ou adenocarcinoma invasor. Em nosso material, registramos uma associação de 69% entre adenocarcinoma *in situ* e lesões escamosas, intra-epiteliais ou invasoras (11 de 16 casos); em 63%, detectamos áreas de invasão da neoplasia glandular (10 casos).

A literatura registra a utilização de técnicas histoquímicas para identificar mucinas endocervicais. Alguns autores propõem a sua inclusão na rotina de Patologia Cirúrgica, para distinção com neoplasias endometriais e melhor classificação das lesões de endocérvice. Consideram, sobretudo, que as neoplasias mucossecretoras endocervicais podem apresentar pior prognóstico em relação às neoplasias escamosas (DAVIS & MOON, 1975; BUCKLEY et al., 1988; SHORROCK et al., 1990). YOUNG & SCULLY (1989) empregaram as colorações de mucicarmim, Alcian blue e PAS, para diferenciar hiperplasias microglandulares endocervicais com apresentação atípica, de adenocarcinomas endocervicais invasivos, principalmente do tipo células claras. Em 1993, esses mesmos autores utilizaram mucicarmim e PAS para caracterizar adenocarcinomas endocervicais com desvio mínimo, do tipo endometrióide, para diferenciá-los de lesões benignas.

Em nosso trabalho, a inclusão de métodos histoquímicos para identificação de mucinas avalia o quanto estas colorações de simples execução, há muito conhecidas, podem contribuir para o diagnóstico

diferencial das 2 lesões estudadas, comparando-as com as reações imuno-histoquímicas. A literatura refere que os adenocarcinomas endocervicais *in situ* produzem pouca ou nenhuma quantidade de mucina (GLOOR & HURLIMAN, 1986), e que o epitélio tubário metaplásico tem o mesmo comportamento histoquímico do epitélio tubário normal (FRUIN & TIGHE, 1967).

Os espécimes de metaplasia tubária e adenocarcinoma *in situ*, na casuística que examinamos, tiveram o mesmo comportamento frente às colorações Alcian blue, mucicarmim e PAS/PASd, com 67% de positividade intracitoplasmática focal em todas as colorações, nos casos de MT, e 81% nos casos de AIS ($p > 0.05$). Todos os espécimes de MT e 12 dos 16 espécimes de AIS apresentaram coloração superficial nos diferentes métodos empregados: a superfície luminal ou os cílios, estavam corados. Nenhum caso de MT apresentou coloração intracitoplasmática difusa.

Segundo YOUNG et al. (1993), o adenocarcinoma endocervical *in situ* pode assumir vários padrões morfológicos. Os nossos resultados demonstraram diversas combinações destas variantes no mesmo espécime. Raramente houve um padrão único. O tipo endometrióide, que esteve presente em 11 dos 16 casos (69%), foi predominante nos 4 casos onde não houve reatividade histoquímica intracitoplasmática, confirmando a afirmativa de que as formas endometrióides não se coram para mucinas (TESHIMA et al., 1985; JAWORSKY et al., 1988; KURMAN et al., 1992). Encontramos ainda as formas endocervical e intestinal, esta freqüentemente representada por células caliciformes esparsas. O nosso único espécime com positividade difusa para mucinas foi também o único representante do tipo intestinal, forma difusa.

FRUIN & TIGHE (1967) relataram comportamentos semelhantes nos epitélios tubários original e metaplásico, com as técnicas Alcian blue pH 2.7, PAS/PASd, azul de toluidina pH 2.7 e ferro coloidal pH 2. A coloração com PAS/PASd foi positiva, principalmente no citoplasma das células ciliadas; a secreção também foi observada na luz glandular. A nossa pesquisa com o teste piloto, em tubas normais, não revelou o mesmo resultado em relação ao epitélio metaplásico. Com a técnica de Alcian blue pH 2.5, os 8 espécimes resultaram positivos no ápice e na superfície das células; foram negativos com mucicarmim; revelaram fraca positividade intracitoplasmática focal com PAS, e negatividade com a prévia digestão por diastase. Os resultados histoquímicos obtidos em nossa casuística se assemelham aos resultados publicados por SCHULTE, em 1985: o método Alcian blue pH 2.5/PAS corou os cílios e a superfície apical das células secretoras e ciliadas, e não corou o citoplasma de nenhum tipo celular. Os pesquisadores detectaram o glicogênio das células ciliadas por meio de técnicas mais sensíveis, tais como os conjugados de lectinas e peroxidase.

Interpretamos a coloração superficial difusa e a coloração intracitoplasmática focal, na MT, como resultante de um gradiente de diferenciação celular. Ao lado de células com características já bem diferenciadas em direção ao epitélio tubário, devem existir células de

natureza intermediária, portando constituintes citoplasmáticos que se assemelham, em parte, ao epitélio mucoso endocervical. Tal evento corresponderia à imaturidade do epitélio metaplásico que, apesar da aparente maturidade morfológica, ainda não está totalmente desenvolvido na expressão fenotípica de seus constituintes bioquímicos, conforme propõem SMEDTS et al. (1993) estudando o fenômeno de metaplasia escamosa. Isto explicaria a diferente apresentação da coloração para mucina no epitélio tubário normalmente localizado, maduro e bem diferenciado, quando comparada com o epitélio tubário metaplásico no colo uterino.

Com os métodos histoquímicos que utilizamos para pesquisa de mucinas no epitélio tubário metaplásico endocervical e no adenocarcinoma endocervical *in situ*, não conseguimos diferenciar as duas lesões, visto que ambas apresentaram características semelhantes. Entretanto, ressaltamos a diferença de comportamento entre estas lesões e as células do epitélio endocervical normal, que exibem coloração fortemente positiva com as técnicas usadas, demonstrando a presença de mucinas ácidas e neutras no citoplasma.

Alguns trabalhos da literatura recente registram a utilização de técnicas imuno-histoquímicas para diagnóstico das lesões endocervicais. Escolhemos CEA para estudar MT e AIS, na endocérvice, baseados nas observações da literatura, que embora escassas, apontavam a sua utilidade para diagnóstico diferencial. A vimentina, o outro antígeno testado em nossa pesquisa, foi escolhido porque alguns trabalhos assinalam sua participação em distinguir lesões endometriais de lesões endocervicais, sendo freqüentemente positivo nas primeiras e consistentemente negativo nas últimas. A vimentina também é usada na prática de laboratório, como indicador da preservação de antígenos, particularmente preconizada em análises retrospectivas, com material fixado em formol e incluído em parafina (WAHLSTRÖM et al., 1979; DABBS et al., 1986; AZUMI & BATTIFORA, 1987; SPEERS et al., 1983).

YOUNG & CLEMENT (1993) chegaram a afirmar que a negatividade para CEA na metaplasia tubária é um dos critérios para o correto diagnóstico de benignidade, assim como na maioria das lesões pseudo-neoplásicas glandulares endocervicais. Lembraram, entretanto, que a experiência limitada com algumas destas lesões não permite o diagnóstico baseado apenas em testes imuno-histoquímicos. Segundo esses autores, as glândulas endocervicais normais e nas lesões pseudo-neoplásicas, podem exibir coloração positiva para CEA no glicocálice, contrastando com a coloração intracitoplasmática difusa, própria dos adenocarcinomas endocervicais.

O antígeno cárcino-embrionário, CEA, é uma glicoproteína encontrada em tecidos fetais, na vida adulta e em algumas neoplasias. A porção glicídica de sua molécula é tão heterogênea quanto a das glicoproteínas da mucina (ISAACSON & JUDD, 1977; CHANDRASEKARAN et al., 1983). BYCHKOV et al. e SPEERS et al., em 1983, sugeriram que a presença de CEA no epitélio cervical indica

diferenciação alterada e, possivelmente, transformação neoplásica. FENOGLIO-PREISER et al. (1992) afirmaram que o antígeno carcinoembrionário pode ser expresso em pequenas quantidades em células maduras, especialmente quando regeneram. SEGAL & HART, em 1990, já haviam observado que o epitélio escamoso cervical normal e as células de reserva com metaplasia escamosa imatura podem reagir positivamente para CEA.

Nove casos de AIS na endocérvice foram estudados por HURLIMANN & GLOOR (1984) com 67% de positividade para CEA. Os autores consideraram que este antígeno é marcador de proliferação ou disfunção celular, porém, não marca malignidade. Eles interpretaram a variada localização do CEA, difusa, apical ou superficial, como perturbação da função celular, lembrando que a localização apical pode ser um artefato de fixação irregular do espécime. COOPER et al. (1987) utilizaram CEA monoclonal em cérvices normais e neoplásicas, considerando significativa apenas a coloração intracitoplasmática. Salientaram que no epitélio normal a reatividade é rara e fraca e que a nítida demarcação entre epitélio normal e atípico confere um padrão característico às lesões *in situ*. Consideraram inespecífica a coloração intraluminal, observada nas glândulas endocervicais normais e neoplásicas invasivas, apesar de ser mais intensa nos tumores.

NANBU et al., em 1988, relacionaram o grau de positividade para CEA policlonal, com o tipo histológico da neoplasia glandular da endocérvice. Surpreendentemente, a variante endometrióide reagiu com maior intensidade do que as variantes endocervical e intestinal. Tais pesquisadores ainda verificaram que na variante endocervical, as formas menos diferenciadas reagem mais fortemente do que as mais diferenciadas. TOBÓN & DAVE, no mesmo ano, encontraram vários graus de positividade para CEA, numa série de 11 adenocarcinomas endocervicais *in situ*, porém consideraram verdadeiramente positivo apenas 1 caso, com nítida demarcação entre glândulas normais negativas. Os autores não especificaram o anticorpo utilizado. SUH & SILVERBERG também não ofereceram detalhes técnicos num trabalho publicado em 1990, onde pesquisaram CEA em 5 de 11 casos de metaplasia tubária endocervical, todos resultando negativos.

Encontramos positividade intracitoplasmática focal para CEA, em 7 dos 18 casos de MT (39%) e em 10 dos 16 casos de AIS (63%). Embora a diferença não tenha significado estatístico ($p > 0.05$), consideramos elevada a frequência da positividade nos casos de MT, levando em conta que a literatura preconiza a negatividade para CEA, como critério para o seu diagnóstico (YOUNG & CLEMENT, 1993). Os nossos casos eram morfológicamente típicos de MT, não deixando dúvidas quanto à benignidade da lesão. Não encontramos na literatura, dados sobre a histogênese da metaplasia tubária. Em 1990, SEGAL & HART verificaram positividade para CEA nas células imaturas do epitélio escamoso metaplásico, provenientes das células precursoras de reserva. Assumindo que o epitélio tubário metaplásico também se origine destas células

pluripotenciais, a positividade para CEA na MT poderia ser explicada, visto que o epitélio colunar endocervical costuma ser negativo para este antígeno. Quando positivo, a intensidade é fraca, e pode ser devido à reação cruzada com outras glicoproteínas (ISAACSON & JUDD, 1977; COOPER et al., 1987).

Por outro lado, esses resultados poderiam ser atribuídos à utilização de anticorpo policlonal, porque a molécula do CEA possui diversos epítomos e mostra grande variabilidade nos seus resíduos de açúcar, à semelhança do que acontece com as mucinas (CHANDRASEKARAN et al., 1983). Seguindo este raciocínio, o anticorpo policlonal forneceria resultados falso-positivos. Entretanto, se assim fosse, a reação resultaria positiva em um número mais elevado dos nossos casos de adenocarcinoma *in situ*, bem como nas células do epitélio glandular normal. Além disso, nas trompas normais do teste piloto, a coloração para CEA policlonal foi negativa nos 8 espécimes, concordando com os resultados de NEUNTEUFEL & BREITENECKER (1989) que avaliaram 11 trompas normais usando CEA policlonal em incubação de 15 minutos, com 100% de negatividade.

MAES et al. (1988) encontraram vantagem na utilização do anticorpo anti-CEA policlonal ao invés do monoclonal, porque o primeiro reconhece todos os epítomos específicos na molécula do antígeno. Nos adenocarcinomas, possivelmente, o epítomo que reage com o anticorpo monoclonal não se mantenha estável. No seu trabalho, a imuno-reatividade para CEA, em adenocarcinomas endocervicais invasivos, foi menor com anticorpos monoclonais do que com anticorpos policlonais. Os autores concluíram que o anticorpo policlonal amplia a sensibilidade na detecção do antígeno. Com anticorpo anti-CEA policlonal, em diluição 1:1200, SEGAL & HART (1990) detectaram forte positividade intracitoplasmática nos adenocarcinomas endocervicais *in situ* e invasores, mesmo nas formas muito bem diferenciadas. Metade das lesões endocervicais benignas que avaliaram foram negativas no citoplasma e focalmente positivas na borda luminal.

Finalmente, ELIAS (1990) considerou que os anticorpos monoclonais têm limitada especificidade e intrínseca reatividade cruzada. Estes fatores devem influenciar na escolha de um anticorpo para reações imuno-histoquímicas, principalmente se o material para análise sofreu processos rotineiros de fixação e inclusão. Os antígenos teciduais podem não sobreviver ou terem sua identificação prejudicada. Os anticorpos policlonais têm maior possibilidade de detectar epítomos que resistem aos diversos tratamentos histológicos.

Vimentina é o filamento intermediário que predomina nas células mesenquimatosas; foi primariamente descrita como um marcador de neoplasias não-epiteliais. Sabe-se hoje que células epiteliais em proliferação podem expressar VIM (FENOGLIO-PREISER et al., 1992). Para LEONG (1992), a sua presença em tumores epiteliais pode representar diferenciação mesenquimatosa ou metaplasia. LEADER et al. (1987)

diferenciação mesenquimatosa ou metaplasia. LEADER et al. (1987) explica a expressão de vimentina em células epiteliais *in vitro*, em cultivos, suspensões celulares e líquidos corporais, como o resultado de alterações no contato e na forma celular.

Não houve positividade para VIM em nenhum dos espécimes de mucosa endocervical normal e adenocarcinoma endocervical invasivo, analisados por DABBS et al. (1986). PICKARTZ (1993) afirmou que a endossalpingiose inativa ou proliferativa no peritônio expressa vimentina, assim como a mucosa tubária normal. No teste **piloto** em tubas uterinas normais, a reação com vimentina mostrou leve positividade focal intracitoplasmática, em 6 dos 8 casos (75%). Não temos conhecimento de trabalhos sobre a imuno-reatividade para este antígeno na metaplasia tubária endocervical. Em nossa pesquisa, a positividade em 14 dos 18 casos de metaplasia tubária endocervical (78%) e em nenhum dos casos de adenocarcinoma *in situ* ($p < 0.05$), aponta a vimentina como um marcador confiável no diagnóstico diferencial entre estas lesões, superando a confiabilidade do antígeno cárcino-embrionário.

Para SLACK (1986), o fenômeno de metaplasia tubária endocervical é do tipo chamado **homoeótico**, que significa a transformação de um tecido em outro, adequado à nova posição no organismo. Na maioria das vezes, este fenômeno ocorre em um único passo, mantendo as características imunológicas, ultraestruturais e histoquímicas do tecido original. Apesar da pequena casuística, nossos resultados questionam o caráter **homoeótico** da metaplasia tubária de localização endocervical, porque verificamos algumas diferenças de natureza histoquímica e imuno-histoquímica, no epitélio tubário normal e metaplásico. Estas diferenças apontam maior heterogeneidade celular no epitélio metaplásico, indicando um gradiente de diferenciação, com células ainda não totalmente maduras. Consideramos fundamental prosseguir com estudos desta natureza, para o esclarecimento da função biológica da metaplasia tubária na endocérvice.

7. CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos na casuística examinada podemos concluir:

- As colorações histoquímicas que identificam mucinas, não contribuem para o diagnóstico diferencial entre metaplasia tubária e adenocarcinoma *in situ*, na endocérvice;
- As colorações imuno-histoquímicas que identificam CEA e vimentina numa pesquisa conjunta, podem contribuir para os casos morfológicamente duvidosos;
- Apesar da maior frequência na positividade para CEA, nos casos de adenocarcinoma endocervical *in situ*, a vimentina demonstrou ser um marcador mais confiável no diagnóstico diferencial entre as duas lesões estudadas, caracterizando a metaplasia tubária endocervical.

8. SUMMARY

Endocervical tubal metaplasia, a benign lesion, is known to be frequently misdiagnosed as adenocarcinoma *in situ*. Its correct identification is needed in order to avoid inadequate managements. We selected 18 cases of endocervical tubal metaplasia and 16 of adenocarcinoma *in situ*. Only specimens that had morphologic appearances typical for either tubal metaplasia or adenocarcinoma *in situ* were chosen. All cases were analysed by hematoxilin-eosin, stains for mucin, Alcian blue pH 2.5, mucicarmine, PAS and PAS diastase, and submitted to immunoperoxidase reaction for carcinoembryonic antigen and vimentin. Statistical analysis demonstrated no significant difference in the reactions for mucins between the lesions. Whereas CEA was more frequently positive in AIS than in TM cases, VIM was negative in all cases of AIS and positive in 78% of TM cases and was therefore considered more useful for the differential diagnosis.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSEN, Erik, ARFFMANN, Erik. Adenocarcinoma *in situ* of the uterine cervix: a clinico - pathologic study of 36 cases. **Gynecol. Oncol.**, New York, v. 35, p. 1-7, 1989.
- ANTONIOLI, Donald, BURKE, Louis, FRIEDMAN, Emanuel . Natural history of diethylstilbestrol-associated genital tract lesions: cervical ectopy and cervicovaginal hood. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St Louis, v. 137, n. 7, p. 847- 853, 1980.
- AYER, Bhuvana, PACEY, Frank, GREENBERG, Merle, BOUSFIELD, Leslie. The cytologic diagnosis of adenocarcinoma *in situ* of the cervix uteri and related lesions: I. adenocarcinoma *in situ*. **Acta Cytol.**, St Louis, v. 31, n. 4, p. 397 - 411, 1987.
- AZUMI, Norio, BATTIFORA, Hector. The distribution of vimentin and keratin in epithelial and nonepithelial neoplasms: a comprehensive immunohistochemical study on formalin - and alcohol - fixed tumors. **Am. J. Clin. Pathol.**, Philadelphia, v. 88, n. 3, p. 286 - 296, 1987.
- BERTRAND, Monique, LICKRISH, Gordon, COLGAN, Terence. The anatomic distribution of cervical adenocarcinoma *in situ*: implications for treatment. **Am.J.Obstet Gynecol.**, St Louis, v. 157, p. 21 - 25, 1987.
- BETHWAITE, Peter, YEONG, Mee Ling, HOLLOWAY, Linda et al. The prognosis of adenosquamous carcinomas of the uterine cervix. **Br. J. Obstet. Gynaecol.**, Oxford, v. 99, p. 745 - 750, 1992.
- BETSILL Jr., William, CLARK, Ann. Early endocervical glandular neoplasia: 1. Histomorphology and cytomorphology. **Acta Cytol.**, St Louis. v. 30, n. 2, p. 115-126, 1986.
- BONILLA-MUSOLES, Fernando. Epitelio cilíndrico. In: **Microscopia electrónica del cervix uterino**. Valencia: FACTA, 1969. 501p. p.137 - 150.

- BOON, M, BAAK, J, KURVER, P et al. Adenocarcinoma *in situ* of the cervix: an underdiagnosed lesion. **Cancer**, Philadelphia, v. 48, p. 768 - 773, **1981a**.
- _____, KIRK, R, RIETVELD-SCHEFFERS, Petronella. The morphogenesis of adenocarcinoma of the cervix: a complex pathological entity. **Histopathology**, Oxford, v. 5, p. 565-577, **1981b**.
- _____, ALONS-VAN KORDELAAR, Josephine, RIETVELD-SCHEFFERS, Petronella. Consequences of the introduction of combined spatula and cytobrush sampling for cervical cytology: improvements in smear quality and detection rates. **Acta Cytol.**, St Louis, v. 30, n. 3, p. 264 - 270, **1986**.
- BROWN, L, WELLS, M. Cervical glandular atypia associated with squamous intraepithelial neoplasia: a premalignant lesion? **J. Clin. Pathol.**, London, v. 39, p. 22 - 28, **1986**.
- BUCKLEY, C, BEARDS, C, FOX, H. Pathologic prognostic indicators in cervical cancer with particular reference to patients under the age of 40 years. **Br. J. Obstet. Gynaecol.**, Oxford, v. 95, p. 47 - 56, **1988**.
- BURGHARDT, Erich. *In situ* and microinvasive adenocarcinoma. In: **Early histological diagnosis of cervical cancer**. Stuttgart: W. B. Saunders/Georg Thieme, **1973**. 404p. p. 335 - 362. ISBN 0-7216-2175-9.
- BUSCEMA, J, WOODRUFF, J. Significance of neoplastic atypicalities in endocervical epithelium. **Gynecol.Oncol.**, New York, v. 17, p. 356 - 362, **1984**.
- BYCHKOV, Vladimir, ROTHMAN, Michael, BARDAWIL, Wadi. Immunocytochemical localization of carcinoembryonic antigen (CEA), alpha- fetoprotein (AFP), and human chorionic gonadotropin (HCG) in cervical neoplasia. **Am. J. Clin. Pathol.**, Philadelphia, v. 79, n. 4, p. 414 - 20, **1983**.
- CHAN, John, TSUI, Wilson, TUNG, Stewart, CHING, Regina. Endocrine cell hyperplasia of the uterine cervix: a precursor of neuroendocrine carcinoma of the cervix? **Am. J. Clin. Pathol.**, Philadelphia, v.92, n. 6, p. 825 - 830, **1989**.
- CHANDRASEKARAN, E, DAVILA, Mark, NIXON, Danial et al. Isolation and structures of the oligosaccharide units of

- carcinoembryonic antigen. **J.Biol. Chem.**, Baltimore, v. 258, n.11, p.7213 - 7222, **1983**.
- CHRISTOPHERSON, William, NEALON, Nancy, GRAY, Laman. Noninvasive precursor lesions of adenocarcinoma and mixed adenosquamous carcinoma of the cervix uteri. **Cancer**, Philadelphia, v. 44, p. 975 - 983, **1979**.
- CLEMENT, Philip SCULLY, Robert. Carcinoma of the cervix: histologic types. **Semin. Oncol.**, Philadelphia, v. 9, n. 3, p. 251 - 264, **1982**.
- COHEN, Cynthia, SHULMAN, Gerald, BUDGEON, Lynn. Endocervical and endometrial adenocarcinoma: an immunoperoxidase and histochemical study.. **Am. J. Surg. Pathol.**, New York, v.6, n. 2, p. 151 - 157, **1982**.
- COLGAN, T LICKRISH, M. The topography and invasive potential of cervical adenocarcinoma *in situ*, with and without associated squamous dysplasia. **Gynecol. Oncol.**, New York, v. 36, p. 246 - 249, **1990**.
- COOPER, P, RUSSELL, G, WILSON, B. Adenocarcinoma of the endocervix: a histochemical study. **Histopathology**, Oxford, v.11, p. 1321 - 1330, **1987**.
- CUNHA, Gerald. Epithelial-stromal interactions in development of the urogenital tract. **Int. Rev. Cytol.**, New York, v. 47, p. 137 - 194, **1976**.
- _____, TAGUCHI, Osamu, SUGIMURA, Yoshiki et al. Absence of teratogenic effects of progesterone on the developing genital tract of the human female fetus. **Hum. Pathol.**, Philadelphia, v. 19, n. 7, p. 777 - 783, **1988**.
- DABBS, David, GEISINGER, Kim, NORRIS, Thomas. Intermediate filaments in endometrial and endocervical carcinomas: the diagnostic utility of vimentin patterns. **Am. J. Surg. Pathol.**, New York, v.10, n. 8, p. 568 - 576, **1986**.
- DALLENBACH - HELLWEG, Gisela. On the origin and histological structure of adenocarcinoma of the endocervix in women under 50 years of age. **Path. Res. Pract.**, Stuttgart, v. 179, p. 35 - 50, **1984**.
- DALLENBACH-HELLWEG, Gisela, POULSEN, Hemming. In: **Atlas of histopathology of the cervix uteri**. Germany: Springer - Verlag, **1990**. 180p. ISBN 0-387-52295-6.

- DAVIS, John MOON, Lynn. Increased incidence of adenocarcinoma of uterine cervix. **Obstet. Gynecol.**, New York, v. 45, n. 1, p. 79 - 83, 1975.
- DONNEZ, Jacques, CASANAS-ROUX, Françoise, CAPRASSE, Jacques et al. Cyclic changes in ciliation, cell height, and mitotic activity in human tubal epithelium during reproductive life. **Fertil. Steril.**, Birmingham, v. 43, n. 4, p. 554 - 559, 1985.
- DRURY, R WALLINGTON, E. In: **Carleton's histologic technique**. Great Britain: Oxford University Press, 1980. 520 p. ISBN 0-19-261310-3.
- DUCATMAN, Barbara, WANG, Helen, JONASSON, Jon et al. Tubal metaplasia: a cytologic study with comparison to other neoplastic and non-neoplastic conditions of the endocervix. **Diagn. Cytopathol.**, New York, v. 9, n. 1, p. 98 - 105, 1993.
- ELIAS, J. In: **Immunohistopathology: a practical approach to diagnosis**. Chicago: ASCP Press, 1990. 526p.
- FARNSWORTH, Annabelle, LAVERTY, Colin, STOLER, Mark. Human papillomavirus messenger RNA expression in adenocarcinoma *in situ* of the uterine cervix. **Int. J. Gynecol. Pathol.**, New York, v. 8, n. 4, p. 321 - 330, 1989.
- FELDMAN, Dorothy, ROMNEY, Seymour, EDGCOMB, John, VALENTINE, Thomas. Ultrastructure of normal, metaplastic, and abnormal human uterine cervix: use of montages to study the topographical relationship of epithelial cells. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St Louis, v. 159, n. 5 parte 2, p. 573 - 685, 1984.
- FENOGLIO - PREISER, Cecilia, LISTROM, Margareth, BLUME, Philip. The use of immunohistochemistry: present and future. In: FENOGLIO - PREISER, Cecilia., WOLFF, Marianne., RILKE, Franco. **Progress in surgical pathology**. Vol XII. USA: Field & Wood, 1992. p. 1 - 30.
- FETISSOF, Franck, DUBOIS, Maurice, HEITZ, Philippe, LANSAC, Jacques et al. Endocrine cells in the genital tract. **Int. J. Gynecol. Pathol.**, New York, v. 5, n.1, p. 75 - 87, 1986.
- FLUHMANN, C, DICKMANN, Z. The basic pattern of the glandular structures of the cervix uteri. **Obstet. Gynecol.**, New York, v. 11, n. 5, p. 543 - 555, 1958.

- FOX, H, WELLS, M, HARRIS, M, McWILLIAM, L et al. Enteric tumours of the lower female genital tract: a report of 3 cases. **Histopathology**, Oxford, v. 12, p. 167 - 176, **1988**.
- FRIEDEL, Gilbert McKAY, Donald. Adenocarcinoma *in situ* of the endocervix. **Cancer**, Philadelphia, v. 6, p. 887 - 897, **1953**.
- FRIEDEL, Gilbert, TUCKER, Thomas, McMANMON, Edward, MOSER, Michael et al. Incidence of dysplasia and carcinoma of the uterine cervix in an appalachian population. **J. Natl. Cancer. Inst.**, Bethesda, v. 84, n. 13, p. 1030 - 1032, **1992**.
- FRUIN, Alan TIGHE, JR. Tubal metaplasia of the endometrium. **J. Obstet. Gynaec. Brit. Cwlth.**, [s.l.], v. 74, p. 93 - 97, **1967**.
- FU, Yao REAGAN, James. In: **Pathology of the uterine cervix, vagina, and vulva**. Philadelphia: W. B. Saunders, **1989**. 397p. ISBN 0-7216-7493-3.
- GATON, Edith, ZEJDEL, Liliana, BERNSTEIN, Dinu, GLEZERMAN, Marek et al. The effect of estrogen and gestagen on the mucus production of human endocervical cells: a histochemical study. **Fertil. Steril.**, Birmingham, v. 38, n. 5, p. 580 - 585, **1982**.
- GLOOR, Etienne RUZICKA, J. Morphology of adenocarcinoma *in situ* of the uterine cervix: a study of 14 cases. **Cancer**, Oxford, v. 49, p. 294 - 302, **1982**.
- _____, HURLIMANN, Jean. Cervical intraepithelial glandular neoplasia (adenocarcinoma *in situ* and glandular dysplasia): a correlative study of 23 cases with histologic grading, histochemical analysis of mucins, and immunohistochemical determination of the affinity for four lectins. **Cancer**, Birmingham, v. 58, p. 1272 - 80, **1986**.
- GOMPEL, Claude, SILVERBERG, Steven. In: **Pathology in obstetrics and gynecology**. 4. ed. Philadelphia: J.B.Lippincott, **1994**. 700 p.ISBN 0-397-51226-0.
- GRAHAM, Charles. Uterine cervical epithelium of fetal and immature human females in relation to estrogenic stimulation. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St Louis, v. 97, n. 8, p. 1033 - 1040, **1967**.
- HADLER, Walter, SILVEIRA, Sineli. In: **Histofisiologia dos epitélios**. Campinas, Editora da Unicamp, **1993**. 318p. ISBN 85-268-0244-5.

- HEPLER, Thomas, DOCKERTY, Malcolm, RANDALL, Lawrence. Primary adenocarcinoma of the cervix. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St Louis, v. 63, n. 4, p. 800 - 808, 1952.
- HIERSCHE, H, NAGL, W. Regeneration of secretory epithelium in the human endocervix. **Arch. Gynecol.**, Berlin, v. 229, p. 83 - 90, 1980.
- HSU, Su-Ming, RAINE, Laurence, FANGER, Herbert. A comparative study of the peroxidase-antiperoxidase method and avidin-biotin complex method for studying polipeptide hormones with radioimmunoassay antibodies. **Am. J. Clin. Pathol.**, Philadelphia, v. 75, n. 5, p. 734 - 738, 1981.
- HURLIMANN, Jean, GLOOR, Etienne. Adenocarcinoma *in situ* and invasive adenocarcinoma of the uterine cervix: an immunohistologic study with antibodies specific for several epithelial markers. **Cancer**, Philadelphia, v.54,n.1,p.103-109, 1984.
- HURT, Glenn, SILVERBERG, Steven, FRABLE, William, BELGRAD, Richard et al. Adenocarcinoma of the cervix: histopathologic and clinical features. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St Louis, v. 129, n. 3, p. 304 - 315, 1977.
- ISAACSON, Peter, JUDD, Mary. Immunohistochemistry of carcinoembryonic antigen: characterisation of cross-reactions with other glycoproteins. **Gut**, London, v. 18, p.779 - 785, 1977.
- ISMAIL, S. Cone biopsy causes cervical endometriosis and tubo - endometriod metaplasia. **Histopathology**, Oxford, v. 18, p.107 - 114, 1991.
- JAWORSKY, Richard, PACEY, Norman, GREENBERG, Merle, OSBORN,Robert. The histologic diagnosis of adenocarcinoma *in situ* and related lesions of the cervix uteri: adenocarcinoma *in situ*. **Cancer**, Philadelphia, v. 61, n. 6, p. 1171- 1181, 1988.
- JONASSON, Jon, WANG, Helen, ANTONIOLI, Donald, DUCATMAN,Barbara. Tubal metaplasia of the uterine cervix: a prevalence study in patients with gynecologic pathologic findings. **Int. J. Gynecol. Pathol.**, New York, v. 11, n. 2, p. 89 - 95, 1992.
- KASHIMURA, Masamichi, SHINOHARA, Michioki, OIKAWA, Kazuo, HAMASAKI, Kunshige et al. An adenocarcinoma *in situ* of the uterine cervix that developed into invasive adenocarcinoma after 5 years: case report. **Gynecol. Oncol.**, New York, v. 36, p. 128 - 133, 1990.

- KORHONEN, Matti. Adenocarcinoma of the uterine cervix: an evaluation of the available diagnostic methods. **Acta Path. Microb. Scand.**, v. 274, p. 1 - 59. 1978. [Suplemento].
- _____. Epidemiological differences between adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the uterine cervix. **Gynecol. Oncol.**, New York, v.10, p.312 - 317, 1980.
- KURMAN, Robert, NORRIS, Henry, WILKINSON, Edward. In: **Tumors of the cervix, vagina, and vulva**. Terceira série, Fascículo 4. Washington: Armed Forces Institute of Pathology, 1992. 262 p. ISBN 11-881041-02-6.
- LAUCLAN, Stuart, PENNER, D. Simultaneous adenocarcinoma *in situ* and epidermoid carcinoma *in situ*: report of two cases. **Cancer**, Philadelphia, v. 20, n. 12, p.2250- 2254, 1967.
- LAUCLAN, Stuart. Metaplasias and neoplasias of Müllerian epithelium. **Histopathology**, Oxford, v. 8, p. 543 - 557, 1984.
- LAWRENCE, Dwaine. Advances in the pathology of the uterine cervix. **Hum. Pathol.**, Philadelphia, v. 22, n. 8, p. 792 - 806, 1991.
- LEADER, M, COLLINS, M, PATEL, J, HENRY, K. Vimentin: an evaluation of its role as a tumour marker. **Histopathology**, Oxford, v.11, p. 63 - 72, 1987.
- LEIMAN, Gladwin. Diagnostic dilemmas. **Diagn. Cytopathol.**, New York, v. 9, n. 1, p. 103 - 105, 1993. [Comentários editoriais].
- LEONG, Anthony. The expression of vimentin in epithelial neoplasms. In: FENOGLIO-PREISER, Cecilia, WOLFF, Marianne, RILKE, Franco. **Progress in surgical pathology**. Volume XII, USA: Field & Wood. 1992. p. 31-48.
- LOPES de FARIA, José. Distúrbios do crescimento e da diferenciação (alterações celulares progressivas). In: **Patologia Geral: fundamentos das doenças, com aplicações clínicas**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. p.254 - 406.
- LUESLEY, D, JORDAN, J, WOODMAN, C, WATSON, N et al. A retrospective review of adenocarcinoma *in situ* and glandular atypia of the uterine cervix. **Br. J. Obstet. Gynaecol.**, Oxford, v. 94, p. 669 - 703, 1987.

- MADILE, Beatriz. The cervical epithelium from fetal age to adolescence. **Obstet. Gynecol.**, New York, v. 47, n.5, p. 536 - 539, 1976.
- MAES, Greet, FLEUREN, Gert, BARA, Jacques, NAP, Marius. The distribution of mucins, carcinoembryonic antigen, and mucus - associated antigens in endocervical and endometrial adenocarcinomas. **Int. J. Gynecol Pathol.** New York, v. 7, n. 2, p. 112 - 122, 1988.
- MAIER, Robert, NORRIS, H. Coexistence of cervical intraepithelial neoplasia with primary adenocarcinoma of the endocervix. **Obstet. Gynecol.**, New York, v.56, n. 3, p. 361 - 364, 1980.
- MATSUKUMA, Keita, TSUKAMOTO, Naoki, KAKU, TSUNEHISA, MATSUMURA, Mariko et al. Early adenocarcinoma of the uterine cervix: its histologic and immunohistologic study. **Gynecol. Oncol.**, New York, v. 35, p. 38 - 43, 1989.
- McMINN, Robert, HUTCHINGS, R. In: **Atlas de anatomia humana**. 2.ed. Tradução por Orlando Jorge Aidar. São Paulo: Manole, 1990. 357p. p. 253 - 5. Tradução de **A colour atlas of human anatomy**.
- MUNTZ, Howard, BELL, Debra, LAGE, Janice, GOFF, Barbara et al. Adenocarcinoma *in situ* of the uterine cervix. **Obstet. Gynecol.**, New York, v. 80, n. 6, p. 935 - 939, 1992.
- NANBU, Yoshihiko, FUJII, Shingo, KONISHI, Ikijo et al. Immunohistochemical localization of CA 125, CEA, and CA 19-9 in normal and neoplastic glandular cells of the uterine cervix. **Cancer**, Philadelphia, v. 62, n. 12, p. 2580 - 2588, 1988.
- NASU, Ichiro, MEURER, William, FU, Yao. Endocervical glandular atypia and adenocarcinoma: a correlation of cytology and histology. **Int. J. Gynecol. Pathol.**, v.12, n.3, p. 208 - 218, 1993.
- NEUNTEUFEL, W, BREITENECKER, G. Tissue expression of CA 125 in benign and malignant lesions of ovary and Fallopian tube: a comparison with CA 19-9 and CEA. **Gynecol. Oncol.**, New York, v. 32, p. 297 - 302, 1989.
- NOVAK, Emil. The morphology of the genital epithelia, with special reference to differentiation anomalies. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St Louis, v. 24, n. 5, p. 635- 653, 1932.
- NOVOTNY, Debra, MAYGARDEN, Susan, JOHNSON, Danna, FRABLE, William. Tubal metaplasia: a frequent potential pitfall in the cytologic

- diagnosis of endocervical glandular dysplasia on cervical smears. **Acta Cytol.**, St Louis, v. 36, n. 1, p. 1 - 10, **1992**.
- ODOR, Louise. The question of "basal" cells in oviductal and endocervical epithelium. **Fertil. Steril.**, Birmingham, v. 25, n. 12, p. 1047 - 1062, **1974**.
- PACEY, Frank, AYER, Bhuvana, GREENBERG, Merle. The cytologic diagnosis of adenocarcinoma *in situ* of the cervix uteri and related lesions III. Pitfalls in diagnosis. **Acta Cytol.**, St Louis, v. 32, n. 3, p. 325 - 330, **1988**.
- PICKARTZ, Henry. Differential diagnosis of peritoneal lesions of Müllerian type and similar epithelial tumors of the peritoneum. **Int. J. Gynecol. Pathol.**, New York, v. 12, n.2, p. 116 - 119, **1993**.
- QIZILBASH, Ali. *In situ* and microinvasive adenocarcinoma of the uterine cervix: a clinical, cytologic and histologic study of 14 cases. **Am. J. Clin. Pathol.**, Philadelphia, v. 64, p. 155 - 170, **1975**.
- ROBBOY, Stanley, YOUNG, Robert, WELCH, William, TRUSLOW, Geri. Atypical vaginal adenosis and cervical ectropion: association with clear cell adenocarcinoma in diethylstilbestrol - exposed offspring. **Cancer**, Philadelphia, v. 54, p. 869 - 875, **1984**.
- ROBLEDO, M, VASQUEZ, J, CONTRERAS-MEJUTO, F, LOPEZ-GARCIA, G. Sebaceous glands and hair follicles in the cervix uteri. **Histopathology**, Oxford, v. 21, p. 278 - 280, **1992**.
- ROSAI, Juan. Special techniques in surgical pathology. In: **Ackerman's surgical pathology**. 7. ed. St. Louis: Mosby, **1989**. Volume I, 969 p. p. 31 - 52.
- SCHELLHAS, Helmut, HEATH, Glenna. Cell renewal in the human cervix uteri: a radioautographic study of DNA, RNA, and protein synthesis. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St Louis, v. 104, n. 5, p. 617 - 632, **1969**.
- SCHULTE, B, RAO, K, KREUTNER, A, THOMOPOULOS, G. Histochemical examination of glycoconjugates of epithelial cells in the human Fallopian tube. **Lab. Invest.**, Baltimore, v. 52, n. 2, p. 207 - 219, **1985**.
- SCULLY, R, BONFIGLIO, T, KURMAN, R, SILVERBERG, S, WILKINSON, E. In: **Histological typing of female genital tract**

- tumours.** Germany: Springer-Verlag, 1994. 189p. ISBN 3-540-57157-4.
- SEGAL, Glenn, HART, William. Cystic endocervical tunnel clusters. **Am. J. Surg. Pathol.**, New York, v. 14, n. 10, p. 895 - 903, 1990.
- SHEAHAN, Kieran, O'BRIEN, Michael, BURKE, Bohdana, DERVAN, Peter. Differential reactivities of carcinoembryonic antigen (CEA) and CEA-related monoclonal and polyclonal antibodies in common epithelial malignancies. **Am. J. Clin. Pathol.**, Philadelphia, v. 94, n. 2, p. 157 - 164, 1990.
- SHINGLETON, Hugh, GORE, Hazel, BRADLEY, Dorothy, SOONG, Seng-Jaw. Adenocarcinoma of the cervix. I. Clinical evaluation and pathologic features. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St Louis, v. 139, n. 7, p. 799 - 814, 1981.
- SHINTAKU, M UEDA, H. Serous papillary adenocarcinoma of the uterine cervix. **Histopathology**, Oxford, v. 22, p. 506 - 507, 1993.
- SHORROCK, K, JOHNSON, J, JOHNSON, I. Epidemiological changes in cervical carcinoma with particular reference to mucin-secreting subtypes. **Histopathology**, Oxford, v. 17, p. 53 - 57, 1990.
- SINGH, Eric, BOSS, Sheila. Effects of oral contraceptives on anions and cations of human cervical mucus. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St Louis, v. 116, n. 7, p. 1017 - 1022, 1973.
- SLACK, J. Cell differentiation. Epithelial metaplasia and the second anatomy. **Lancet**, London, aug 2, p. 268 - 271, 1986.
- SMEDTS, Frank, RAMAEKERS, Frans, VOOLJIS, Peter. The dynamics of keratin expression in malignant transformation of cervical epithelium: a review. **Obstet. Gynecol.**, New York, v. 82, n. 3, p. 465 - 474, 1993.
- SPEERS, Wendell, PICASO, Lisa, SILVERBERG, Steven. Immunohistochemical localization of carcinoembryonic antigen in microglandular hyperplasia and adenocarcinoma of the endocervix. **Am. J. Clin. Pathol.**, New York, v. 79, n. 1, p. 105 - 107, 1983.
- SUH, Kwang-Sun, SILVERBERG, Steven. Tubal metaplasia of the uterine cervix. **Int. J. Gynecol. Pathol.**, New York, v. 9, n. 2, p. 122 - 128, 1990.

- SWAN, D, RODDICK, J. A clinical - pathological correlation of cell type classification for cervical cancer. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St. Louis, v. 116, n. 5, p. 666 - 670, 1973.
- TESHIMA, Shinichi, SHIMOSATO, Yukio, KISHI, Kiyiozo, TATSUHIRO, Kasamatsu et al. Early stage adenocarcinoma of the uterine cervix: histopathologic analysis with consideration of histogenesis. **Cancer**, Philadelphia, v. 56, n. 1, p. 167 - 172, 1985.
- TOBÓN, Hector, DAVE, Harikrishina. Adenocarcinoma *in situ* of the cervix: clinicopathologic observations of 11 cases. **Int. J. Gynecol. Pathol.**, New York, v. 7, n. 2, p. 139 -151, 1988.
- TOPKINS, Paul. The histologic appearance of the endocervix during the menstrual cycle. **Am. J. Obstet. Gynecol.** St. Louis, v. 58, n. 4, p. 654 - 663, 1949.
- TRAURIG, Harold. Embryogenesis of the female reproductive system. In: TWEEDDALE, Duane, DUBILIER, Louis. **Cytopathology of female genital tract neoplasms**. Chicago: Year Book Medical Publishers, 1972. 245p. p. 51 -57. ISBN 0-8151-8890-0.
- TWEEDDALE, Duane, DUBILIER, Louis. The cervix uteri: anatomic and cytologic considerations. In: **Cytopathology of female genital tract neoplasms**. Chicago: Year Book Medical Publishers, 1972, 245p. p. 58 - 72. ISBN 0-8151-8890-0.
- VAN LE, Linda, NOVOTNY, Debra, DOTTERS, Deborah. Distinguishing tubal metaplasia from endocervical dysplasia on cervical Papanicolaou smears. **Obstet. Gynecol.**, New York, v. 78, n. 5, parte II, p. 974 - 976, 1991.
- VAN ROON, E, BOON, M, KURVER, P, BAAK, J. The association between precancerous-columnar and squamous lesions of the cervix: a morphometric study. **Histopathology**, Oxford, v. 7, p. 887 - 896, 1983.
- VASSALLO, José. Avanços técnicos no diagnóstico histopatológico das neoplasias: imuno-histoquímica. **Revista da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP**, v. IV, n.1, p.31 - 34, 1993.
- VESTERINEN, Ervo, FORSS, Matti, NIEMINEN, Usko. Increase of cervical adenocarcinoma: a report of 520 cases of cervical carcinoma including 112 tumors with glandular elements. **Gynecol. Oncol.**, New York, v. 33, p.49 - 53, 1989.

- WAHLSTRÖM, Torsten, KORHONEN, Matti, LINDGREN, Jan, SEPPÄLÄ, Markku. Distinction between endocervical and endometrial adenocarcinoma with immunoperoxidase staining of carcinoembryonic antigen in routine histological tissue specimens. **Lancet**, London, dec 1, p. 1159 - 1160, 1979.
- WEIKEL, W, WAGNER, R, MOLL, R. Characterization of subcolumnar reserve cells and other epithelia of human uterine cervix: demonstration of diverse cytokeratin polypeptides in reserve cells. **Virchows Arch.**, Berlin, v. 54, p. 98 - 110, 1987.
- WEISBROT, Irwin, STABINSKY, Charles, DAVIS, Ann. Adenocarcinoma *in situ* of the uterine cervix. **Cancer**, Philadelphia, v. 29, p. 1179 - 1187, 1972.
- WELLS, M, BROWN, L. Glandular lesions of the uterine cervix : the present state of our knowledge. **Histopathology**, Oxford, v. 10, p. 777 - 792, 1986.
- WHEATHER, P, BURKITT, H, DANIELS, V. Female reproductive system. In: **Functional histology**. London: Churchill Livingstone, 1979. 278 p. p. 268. ISBN 0-443-01658-5.
- WHEELER, James. Diseases of Fallopian tube. In: KURMAN, Robert. **Blaustein's pathology of the female genital tract**. 4. ed. New York: Springer - Verlag, 1994, 1280 p. p. 529- 561. ISBN 0-387-94166-5
- WOLFE, Samuel, MACKLES, Abraham, GREENE, Harry. Endometriosis of the cervix: classification and analysis of 17 cases. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v. 81, n. 1, p. 111 - 123, 1961.
- WOLLNER, Anthony. The menstrual cycle in the human cervical mucosa and its clinical significance. **Am. J. Surg.**, Newton, v. 57, n. 2, p. 331 - 335, 1942.
- WRIGHT, Thomas, KURMAN, Robert, FERENCZY, Alex. Precancerous lesions of the cervix. In: KURMAN, Robert. **Blaustein's pathology of the female genital tract**. 4. ed. New York: Springer-Verlag, 1994, 1280 p. p. 229 - 277. ISBN 0-387-94166-5.
- YAJIMA, Akira, FUKUDA, Masaki, NODA, Kiichiro. Histopathological findings concerning the morphogenesis of mixed carcinoma of the uterine cervix. **Gynecol. Oncol.**, New York, v. 18, p. 157-164, 1984.

YEH, I-Tien, LIVOLSI, Virginia, NOUMOFF, J. Endocervical carcinoma. **Pathol. Res. Pract.**, v. 187, p. 129 - 144, 1991.

_____, BRONNER, Margaret, LIVOLSI, Virginia. Endometrial metaplasia of the uterine endocervix. **Arch. Pathol. Lab. Med.**, Chicago, v.117, p. 734 -735, 1993.

YOUNG, Robert, SCULLY, Robert. Atypical forms of microglandular hyperplasia of the cervix simulating carcinoma: a report of five cases and review of the literature. **Am. J. Surg. Pathol.**, New York, v. 13, n. 1, p. 50 - 56, 1989.

_____, _____. Minimal-deviation endometrioid adenocarcinoma of the uterine cervix: a report of five cases of a distinctive neoplasm that may be misinterpreted as benign. **Am.J.Surg.Pathol.**, New York, v.17, n. 7, p. 660 - 665, 1993.

YOUNG, Robert, CLEMENT, Philip. Tumorlike lesions of the uterine cervix. In: **Tumor and tumorlike lesions of the uterine corpus and cervix**. New York: Churchill Livingstone, 1993. 486p. p. 1 - 50. ISBN 0-443-08801-2.

_____, SCULLY, Robert. Premalignant and malignant glandular lesions of the uterine cervix. In: CLEMENT, Philip, YOUNG, Robert. **Tumor and tumorlike lesions of the uterine corpus and cervix**. New York: Churchill Livingstone, 1993. 486p. p. 85 - 136. ISBN 0-443-08801-2.

YUREWICZ, Edward, MOGHISSI, Kamran. Purification of human midcycle cervical mucin and characterization of its oligosaccharides with respect to size, composition, and microheterogeneity. **J. Biol. Chem.**, Baltimore, v. 256, n. 22, p. 11895 - 11904, 1981.

Referências apresentadas segundo as normas da ABNT / FCM -UNICAMP.