

ROZANY MUCHA DUFLOTH

**CRITÉRIOS MORFOLÓGICOS PREDITIVOS DE
NEOPLASIA INTRA-EPITELIAL CERVICAL EM
MULHERES COM EXAME CITOLÓGICO ANORMAL**

Dissertação de Mestrado

**ORIENTADOR: Prof. Dr. LUIZ CARLOS ZEFERINO
CO-ORIENTADORA: Prof^ª. Dr^ª. LILIANA A. L. A. ANDRADE**

**UNICAMP
2002**

ROZANY MUCHA DUFLOTH

**CRITÉRIOS MORFOLÓGICOS PREDITIVOS DE
NEOPLASIA INTRA-EPITELIAL CERVICAL EM
MULHERES COM EXAME CITOLÓGICO ANORMAL**

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

ORIENTADOR: Prof. Dr. LUIZ CARLOS ZEFERINO
CO-ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. LILIANA A. L. A. ANDRADE

UNICAMP
2002

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

D874c Dufloth, Rozany Mucha
 Critérios morfológicos preditivos de neoplasia intra-
epitelial cervical em mulheres com exame citológico
anormal / Rozany Mucha Dufloth. Campinas, SP : [s.n.],
2002.

 Orientadores : Luiz Carlos Zeferino, Liliana Lucci de
Angelo Andrade

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

 1. Patologia. 2. Colo uterino. 3. Citologia. I. Luiz
Carlos Zeferino. II. Liliana Lucci de Angelo Andrade . III.
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Ciências Médicas. IV. Título.

BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluna: ROZANY MUCHA DUFLOTH

Orientador: Prof. Dr. LUIZ CARLOS ZEFERINO

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. LILIANA A. L. A. ANDRADE

Membros:

1.

2.

3.

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

Data: 05/07/2002

À minha família, com amor.

Agradecimentos

Nossos agradecimentos aos orientadores.

Sinceros agradecimentos ao Prof. Dr. Celso di Loreto, Prof^a Dra. Liliana A. L. A. Andrade e Dr. Douglas M. Munhoz pelo apoio e valiosa colaboração na realização da leitura microscópica.

Agradecemos a todos os amigos, docentes e funcionários do CAISM, Departamento de Anatomia Patológica, Biblioteca, Diretoria de Apoio Didático, Científico, Estatístico e Computacional pela ajuda inestimável, fundamental para a realização deste trabalho.

*Não porque eu venci,
mas porque juntos vencemos mais um desafio.*

*Mas um dia, quando a saudade nos fizer abrir essas páginas,
tudo será revivido como se novamente acontecendo.*

*E que diante dos próximos desafios,
Deus permita sentir a maravilhosa magia deste momento.*

Sumário

Símbolos, Siglas e Abreviaturas	
Resumo	
Summary	
1. Introdução	14
2. Objetivos	27
2.1. Objetivo geral	27
2.2. Objetivos específicos	27
3. Sujeitos e Métodos.....	28
3.1. Tipo de estudo.....	28
3.2. Seleção de sujeitos	28
3.3. Rotina assistencial.....	29
3.4. Variáveis em estudo.....	30
3.4.1. Variáveis independentes.....	30
3.4.2. Variáveis dependentes.....	35
3.4.3. Variáveis de controle.....	40
3.5. Coleta de dados	40
3.6. Processamento de dados.....	41
3.7. Análise estatística	42
3.8. Aspectos éticos	43
4. Resultados	45
5. Discussão.....	60
6. Conclusões	69
7. Referências Bibliográficas.....	71
8. Bibliografia de Normatizações	80
9. Anexos	81
9.1. ANEXO 1 – Ficha para coleta de dados	81
9.2. ANEXO 2 – Ficha para coleta de dados – Critérios morfológicos	83
9.3. ANEXO 3 – Ficha para coleta de dados – Critérios morfológicos	84
9.4. ANEXO 4 – Ficha para coleta de dados histológicos	85

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

ASCUS	Células escamosas atípicas de significado indeterminado
AGUS	Atipias de células do epitélio glandular de significado indeterminado
ASC-US	Células escamosas atípicas de significado indeterminado
ASC-H	Células escamosas atípicas, não se podendo excluir HSIL
HPV	Papilomavírus humano
NIC	Neoplasia intra-epitelial cervical
LSIL	Lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau
HSIL	Lesão intra-epitelial escamosa de alto grau
DNA	Ácido desoxirribonucléico
OR	<i>Odds ratio</i>
N/C	Núcleo: citoplasmática (relação)
PAPA X	Esfregaço corado pelo método de Papanicolaou e a magnitude do aumento microscópico
CEC	Carcinoma espinocelular (ou escamocelular)

Resumo

INTRODUÇÃO: A precisão do diagnóstico citológico no rastreamento do câncer do colo uterino pode ser estimada pelo nível de correlação com a citologia e a histologia. A técnica de colheita, informações clínicas e interpretação, pelo citopatologista, dos achados morfológicos são fatores determinantes do diagnóstico citológico. **OBJETIVO:** Avaliar a presença de critérios morfológicos no esfregaço citológico anormal de rastreamento do câncer cervical e identificar aqueles mais associados com o diagnóstico histológico. **MÉTODOS:** Foram selecionadas 206 mulheres que apresentaram um exame citológico alterado no Ambulatório de Patologia Cervical do Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher da Universidade Estadual de Campinas. Todos os esfregaços foram revistos por três citopatologistas para identificar a presença de 28 critérios morfológicos preestabelecidos. Todos os exames histológicos foram revistos. Foram incluídos 47 casos de ASCUS, 30 de LSIL e 124 HSIL. Destes, 180 mulheres tiveram biópsias e 26 casos apresentaram exame colposcópico negativo. A associação dos critérios morfológicos com o diagnóstico histológico foi avaliada através de *odds ratio* com os respectivos intervalos de confiança de 95%. A análise da interação

dos critérios morfológicos com a predição do diagnóstico histológico foi feita através de modelos de regressão logística. Foram também calculados os valores preditivos para os diagnósticos citológicos de lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau e lesão intra-epitelial escamosa de alto grau. Para construir uma estrutura preditiva entre os critérios morfológicos e o diagnóstico final foi utilizada a *Chi-square Automatic Iterative Detection*. **RESULTADOS:** O exame histológico mostrou 41 NIC 1, 22 NIC 2, 76 NIC 3 e 67 resultados negativos. Os critérios morfológicos associados com o diagnóstico histológico de NIC 2 ou NIC 3, foram: aumento da relação núcleo-citoplasmática (OR=12,43); anisocariose (OR=10,39); aumento do volume nuclear das células metaplásicas (OR=9,91); quantidade de células atípicas (OR=8,73); cromatina de distribuição irregular (OR=8,24); membrana nuclear espessa (OR=8,04); hiperchromasia (OR=7,98); membrana nuclear irregular (OR=6,16). A borda citoplasmática espessa (OR=3,27) e o aumento da relação núcleo-citoplasmática (OR=2,49) associaram-se com NIC 1. Os critérios morfológicos que apresentaram associação independente para NIC 2 ou NIC 3 foram: aumento da relação núcleo-citoplasmática (OR=7,35) e alteração em célula metaplásica madura (OR=3,95). Para NIC 1, a borda citoplasmática espessa apresentou associação independente (OR=3,07). O valor preditivo para HSIL foi de 63% antes da revisão, aumentando para 89% após a revisão. O valor preditivo para LSIL foi de 43% antes da revisão, aumentando para 46% após a revisão. Utilizando a técnica de CHAID, a variável independente selecionada foi a relação núcleo-citoplasmática (N/C). Quando se observou aumento acentuado da relação N/C, o valor preditivo para o diagnóstico final de NIC 2 ou NIC 3 foi de 90%. Quando se associou com o critério anisocariose acentuada o

valor preditivo para estas lesões aumentou para 95%. **CONCLUSÃO:** Os critérios morfológicos mais associados com diagnóstico histológico de NIC 2 ou NIC 3 foram: aumento da relação núcleo-citoplasmática e alterações em células metaplásicas maduras, para NIC 1, borda citoplasmática espessa. A revisão dos exames citológicos a partir da identificação de critérios morfológicos contribuiu para aumentar a precisão diagnóstica e também para aumentar o valor preditivo de HSIL.

Summary

Introduction: Pap smear test accuracy in cervical cancer screening may be estimated by cyto-histologic correlation. Specimen collection, clinical information and morphologic criteria cytopathologist interpretation are of utmost importance for precise cytologic diagnosis.. **Objective:** The aim of study was to evaluate the presence of cytomorphic criteria in abnormal screening tests and to identify their association with the histological diagnosis. **Methods:** A total of 206 eligible women with one abnormal screening smear participated in the study in *Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher of Universidade Estadual de Campinas*. All Pap smears were reviewed blindly according to 28 pre-established cytomorphic criteria by three cytopathologists. All biopsies were reviewed by two pathologists. A total of 47 ASCUS cases, 30 LSIL cases and 124 HSIL were included. Of these, 180 women underwent biopsy and 26 cases had negative colposcopic exam. Odds ratio and 95% confidence interval were used. A logistic regression model was used to estimate the associations between cytologic criteria and diagnosis of CIN made on biopsies. The predictive value of a positive test was calculated for LSIL and HSIL, before and after review. The Square Automatic Iterative

Detection was used to estimate the predictive value for cytologic criteria and CIN diagnosis association. **Results:** Histologic diagnosis included 41 CIN 1, 22 CIN 2, 76 CIN 3 and 67 negative results. The cytomorphologic criteria associated with histologic diagnosis of CIN 2 or CIN 3 were: increased nuclear/cytoplasmic ratio (OR=12.43), anisokaryosis (OR=10.39), increased nuclear volume of metaplastic cells (OR=9.91), quantity of atypical cells (OR=8.73), irregular chromatin distribution (OR=8.24), thickened nuclear membrane (OR=8.04), hypercromasia (OR=7.98), irregular nuclear membrane (OR=6.16). Peripheral rim of thickened cytoplasm (OR=3.27) and increased nuclear/cytoplasmic ratio (OR=2.49) were associated with CIN 1. Two independent predictors of CIN 2 or CIN 3 were identified: increased nuclear/cytoplasmic ratio and cellular alteration in mature metaplastic cell. The independent parameter associated with CIN 1 was the peripheral rim of thickened cytoplasm. The predictive value of HSIL was 63% before and 89% after cases reviewed. The predictive value of LSIL was 43% before and 46% after reviewed. Distribution of selected cytologic criteria according to Automatic Iterative Detection was: highly increased nuclear/cytoplasmic ratio associated with severe anisokaryosis. This showed that the predictive value was 95% to CIN 2 or CIN 3. **Conclusion:** The most associated cytomorphologic criteria with histologic diagnosis of CIN 2 or CIN 3 were: increased nuclear/cytoplasmic ratio and alteration in mature metaplastic cell. The peripheral rim of thickened cytoplasm was associated with CIN 1. Systematic cytomorphologic finding identification may help cytopathologists performing a more accurate diagnosis contributing therefore for HSIL positive predictive value increase.

1. Introdução

Os programas de rastreamento do câncer do colo uterino têm como objetivo final reduzir a mortalidade e a morbidade através da detecção das lesões precursoras pelos exames citológico, clínico e colposcópico, sendo definidas pelo exame histológico. O exame citológico é o método mais difundido mundialmente para rastreamento destas lesões precursoras. Desde sua introdução por George Papanicolaou na década de 40, uma significativa redução das taxas (>70%) de incidência e mortalidade por câncer de colo uterino foi alcançada (PAPANICOLAOU & TRAUT, 1941; SIGURDSSON, 1993; SIGURDSSON, 1999; LIU et al., 2001).

Com o passar dos anos, várias classificações para diagnóstico citológico foram elaboradas, reflexos de um melhor conhecimento da história natural do carcinoma cervical e da morfologia das lesões precursoras (SYRJÄNEN, 2000).

PAPANICOLAOU & TRAUT (1941) descreveram o método de identificar células anormais em esfregaços vaginais, baseado nas características morfológicas celulares. *A posteriori*, foi divulgado o sistema de classificação numérica de Papanicolaou. As classes de Papanicolaou visavam identificar o grau de certeza

da presença de um câncer, porém os autores não faziam menção ao tipo de células envolvidas ou ao tipo de neoplasia (PAPANICOLAOU & TRAUT, 1941). Os trabalhos de Papanicolaou e daqueles que o seguiram exercem uma influência dominante na citologia moderna (DEMAY, 1996).

O termo displasia, utilizado na histologia, foi introduzido por REAGAN, SIEDEMANN, SARACUSA (1953) e em 1961, no “*I International Congress of Exfoliative Cytology*”. Este termo foi, posteriormente, adaptado para o diagnóstico citológico. Tratava-se de uma classificação destinada ao exame citológico do colo do útero para identificar as lesões pré-neoplásicas precursoras, porém com referenciais morfológicos pouco pormenorizados. No conjunto, discriminavam-se três categorias de gravidade crescente, designadas de displasia, às quais era agregado o diagnóstico de carcinoma *in situ*.

Com base em alguns estudos clínicos e na análise da ploidia do ácido desoxirribonucléico (DNA), admitiu-se que a displasia acentuada e o carcinoma *in situ* eram condições relacionadas e surgiu uma nova terminologia, unindo ambas as lesões. RICHARD (1967) propôs a denominação de neoplasia Intra-epitelial cervical (NIC) para a fase pré-invasora da neoplasia do colo uterino, subdividindo-a em três graus: 1, 2 e 3, ou displasia leve, moderada ou acentuada, respectivamente (RICHARD, 1967). Esta designação incorporava o termo intra-epitelial e identificava o órgão, no caso o colo uterino (cervical).

O aumento do entendimento da patogênese e da biologia da doença gerou a necessidade da emissão de conclusões mais precisas, surgindo então uma terminologia usada pela *British Society of Clinical Cytology* (BSCC) em 1980.

Essa classificação correlacionou a histologia com anormalidades citológicas, baseada na análise do núcleo, usando o termo discariose com subdivisões em discreta, moderada e acentuada, o que corresponde histologicamente aos graus 1, 2 e 3 da neoplasia intra-epitelial (EVANS et al., 1986). O uso desta classificação é quase restrita ao Reino Unido.

Uma nova sistemática para o diagnóstico citológico de esfregaços cérvico-vaginais foi introduzida pelo *National Cancer Institute* dos Estados Unidos da América, em 1988, conhecida como Sistema de Bethesda. Esta classificação tem como características principais a identificação do tipo de célula, se escamosa ou glandular, que apresenta atipias. Para as células escamosas foram definidas apenas duas categorias de alterações: baixo grau e alto grau, de acordo com o potencial evolutivo, o que significou colocar na categoria de lesões de alto grau, os diagnósticos citológicos de NIC 2 e NIC 3. Também, passou-se a adotar a designação de lesão, o que representava a compreensão de que se tratava de uma entidade de potencial biológico não determinado e que, portanto, não merecia a designação de neoplasia (NATIONAL CANCER INSTITUTE WORKSHOP, 1989).

Quando foi proposto o Sistema de Bethesda já era evidente a associação do vírus do Papiloma Humano (HPV) com o carcinoma do colo uterino e suas lesões precursoras, de tal forma que se fossem observados os sinais morfológicos sugestivos de infecção por HPV, sem outras alterações celulares, o esfregaço era classificado como lesão de baixo grau (DURST et al., 1983; GISSMANN, 1984).

Neste Sistema surgiu também uma nova classe de diagnóstico citológico que visava dirimir dúvidas referentes ao fenótipo das células alteradas: células escamosas

ou glandulares, que foi designada de “células escamosas (ou glandulares) atípicas de significado indeterminado”. Os critérios morfológicos referentes a esta classe de diagnóstico inicialmente não foram bem definidos. Recomendava-se o seguimento da mulher (NATIONAL CANCER INSTITUTE WORKSHOP, 1989).

O Sistema de Bethesda foi reavaliado em 1991, o que resultou em um atlas com ilustrações e critérios diagnósticos mais definidos (KURMAN & SOLOMON, 1994). As modificações foram discretas e concentraram-se nos diagnósticos de células atípicas de significado indeterminado. Adotaram-se as siglas ASCUS, quando se tratava de células escamosas, e AGUS, quando se tratava de células glandulares; siglas estas que não eram mencionadas na versão de 1988. Com o melhor conhecimento da morfologia das células escamosas atípicas foi proposto que, na medida do possível, o diagnóstico de ASCUS fosse qualificado em “favorável a neoplasia” ou “favorável a processo reativo” (THE INTERNATIONAL ACADEMY OF CYTOLOGY, 1993).

Dez anos após, em 2001, ocorreu a segunda reavaliação do Sistema de Bethesda. As principais modificações também foram em relação às células atípicas de significado indeterminado. Foi proposto o diagnóstico de ASC, “células escamosas atípicas”, para representar alterações celulares sugestivas de lesão intra-epitelial escamosa mas que, qualitativamente e quantitativamente, não são suficientes para a interpretação definitiva. Deve-se considerar ASC-US quando há alterações sugestivas, mas não conclusivas, de lesão intra-epitelial de baixo grau e ASC-H quando presentes alterações sugestivas de lesão de alto grau, mas faltando critérios para a conclusão definitiva (NATIONAL CANCER INSTITUTE

WORKSHOP, 2001). As etiologias possíveis para tais entidades seriam uma reação epitelial exuberante, conseqüente a um processo inflamatório ou reparativo ou a alterações celulares, precedendo a instalação de uma lesão intra-epitelial ou que acompanham o seu processo de remissão espontânea. Artefatos da técnica de preparo e manuseio do esfregaço citológico podem modificar a apresentação das células e ser responsáveis por diagnósticos inconclusivos (KURMAN & SOLOMON, 1994; NATIONAL CANCER INSTITUTE WORKSHOP, 2001).

Tem-se tentado caracterizar as modificações celulares de natureza reativa, inflamatória ou neoplásica para a correta interpretação morfológica do diagnóstico citológico do epitélio do colo uterino.

Nas alterações de natureza reativa, vários critérios citológicos podem ser observados. Dentre eles estão a anofilia ou orangeofilia, vacuolização citoplasmática, espaço claro perinuclear, binucleação e multinucleação, cromatina delicada, núcleo aumentado uma vez a uma vez e meia do núcleo normal da célula intermediária, ausência de aumento significativo na relação núcleo-citoplasmática, ausência de hipercromasia, contorno nuclear liso e degeneração nuclear (MARSHALL, et al., 1997) (Figura 1).

As modificações celulares inflamatórias incluem aumento de volume nuclear e, por vezes, binucleação, hipercromasia com alguma marginação da cromatina, pequeno halo perinuclear e alguma vacuolização citoplasmática. Muitos organismos estão associados com modificações inflamatórias. Dentre eles encontram-se: *Trichomonas vaginalis*, *Haemophilus vaginalis*, *Herpes simplex* e *Candida sp* (McKEE, 1997) (Figura 2).

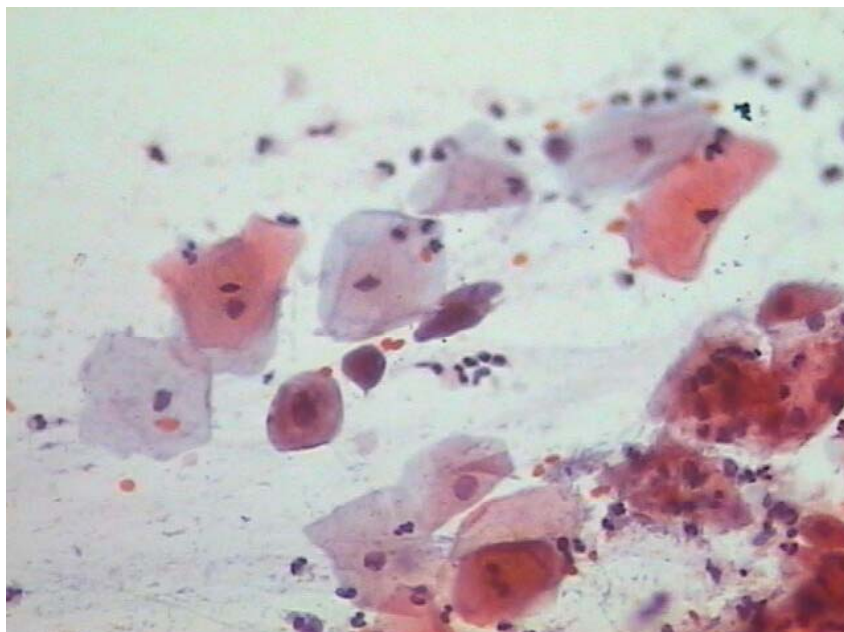


Figura 1. **Alterações reativas** – Papa, aumento original X 20. Células escamosas com discreto aumento de volume nuclear e alguma afinidade tintorial anormal.

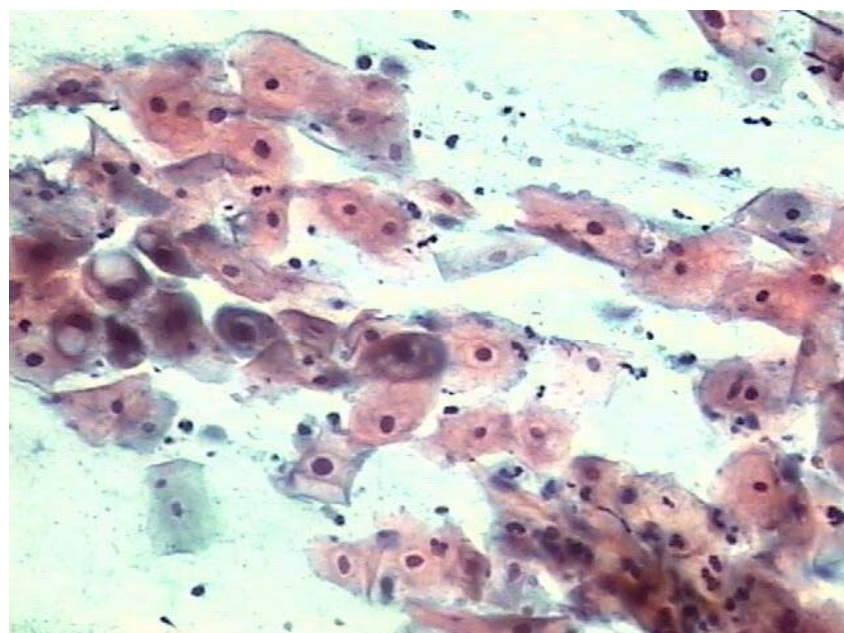


Figura 2. **Alterações inflamatórias** – Papa, aumento original X 20. Células escamosas com diversas alterações características de inflamação: aumento do volume do núcleo, vacuolização citoplasmática, halo perinuclear. Presença de *Trichomonas vaginalis*.

Nas alterações de natureza neoplásica, as células podem apresentar discariose discreta, moderada ou acentuada. Na *discariose discreta*, evidenciam-se células superficiais e/ou intermediárias com núcleos aumentados de até 50% do tamanho da célula, com perfil irregular, cromatina geralmente em grumos grosseiros, podendo mostrar núcleos pálidos, representando a eucromatina ativa, multinucleação e fagocitose (Figura 3).

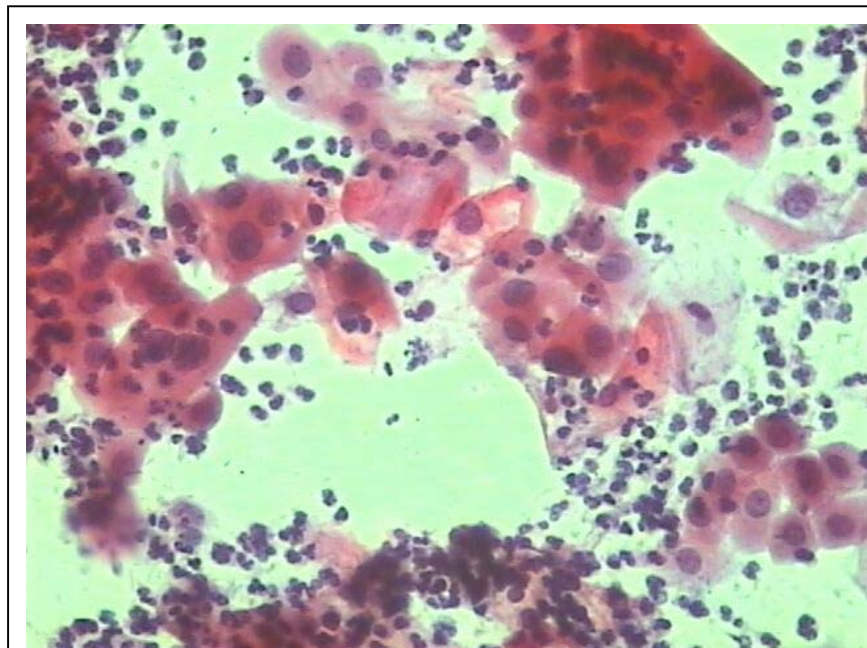


Figura 3. **LSIL** - Papa, aumento original X 20. Células, com núcleos aumentados de volume e hipercromáticos. As células têm o citoplasma do tamanho das intermediárias, e núcleos com menos da metade do tamanho de toda a célula. Presença de halos claros perinucleares e espessamento do limite citoplasmático.

Células com *discariose moderada* mostram alterações mais intensas. As células são menos maduras, em relação ao tamanho das células parabasais, núcleo aumentado de até dois terços do tamanho da célula, com perfil irregular, usualmente hipercromático, com marcada formação de grumos de cromatina, podendo haver núcleos hipocromáticos. A multinucleação e a fagocitose também podem estar presentes (Figura 4).

A *discariose intensa* pode ser dividida grosseiramente em três tipos:

- a-** Células de tipo pequeno (acreditando-se que evoluem de células de reserva endocervicais).
- b-** Células de tipo grande (surgindo da junção escamo- colunar).
- c-** Células ceratinizadas (surgindo da ectocérnix).

O tipo mais freqüente de células pequenas caracteriza-se por células menores que as parabasais, com núcleo preenchendo quase toda a célula, respeitando apenas um delicado anel citoplasmático, com perfil nuclear irregular, cromatina grosseira, em agregados, e geralmente com hipercromasia, arranjadas sob a forma de sincícios (McKEE, 1997) (Figura 5).

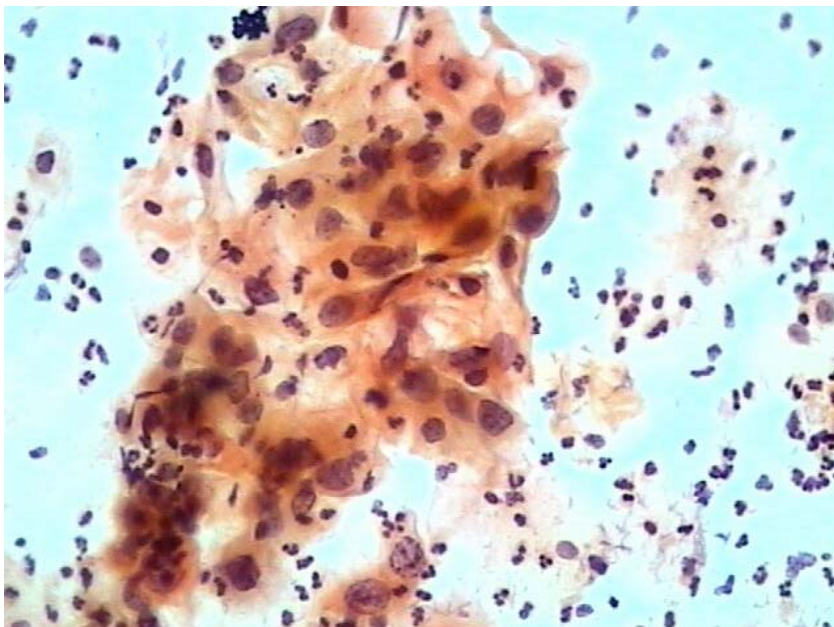


Figura 4. **HSIL** – Papa, aumento original X 20. Células escamosas com núcleo de contorno irregular, volumoso e hipercromático.



Figura 5. **HSIL** – Papa, aumento original X 100. Células intensamente discarióticas, núcleo hipercromático grande e muito irregular. Uma delas mostra citoplasma queratinizado.

Nos últimos anos tem-se evidenciado que nem todas as lesões precursoras progridem para carcinoma invasivo do colo uterino.

Um estudo de metanálise sobre a história natural das lesões intra-epiteliais mostrou que estas lesões regredem e que apenas uma minoria evoluiria para carcinoma invasivo. A maior parte das NIC 1 regride espontaneamente e um terço das classificadas como NIC2 e NIC3, respectivamente, também o fazem. Enfatizou-se, então, o conhecimento de que o carcinoma do colo uterino evolui a partir da lesão precursora incipiente, embora nem todas as lesões evoluam para carcinoma invasivo (ÖSTÖR, 1993).

Do ponto de vista da prática clínica, sabe-se que lesões precursoras em mulheres mais jovens têm maior chance de regredir, em relação às mais velhas (NASSIEL, NASSIEL, VACLAVINKOVÁ, 1983; NASSIEL, ROGER, NASSIEL, 1986; OORTMARSEN & HABBEMA, 1991).

A falta de uniformidade mais precisa para a utilização de critérios morfológicos para avaliação citológica é fato; porém é mais evidente em relação ao ASCUS e ao AGUS. A prevalência do diagnóstico de ASCUS varia muito entre diferentes serviços e não tem uma correspondência histológica predominante. Estudos relatam que entre 25% e 60% das lesões de ASCUS podem ser associadas com neoplasia intra-epitelial, no seguimento. Entretanto, grande número dessas lesões são NIC 1 e de 15% a 30% são NIC 2 ou 3 (DAVEY et al., 1994; SELVAGGI & HAEFNER, 1995; WRIGHT, SUN, KOULOS, 1995; SHEILS & WILBUR, 1997; WILLIAMS et al., 1997; KINNEY et al., 1998; NYIRJESY, BILLINGSLEY, FORMAN, 1998).

MORIN, et al. (2000) realizaram estudo caso-controle no sentido de melhor caracterizar os critérios morfológicos específicos, identificando parâmetros citológicos em 360 mulheres com esfregaço de ASCUS. O diagnóstico de NIC foi encontrado em 80 mulheres (22,2%). Destas, 61 (16,9%) apresentaram NIC 1 e 19 (5,3%) apresentaram NIC 2 ou NIC 3, na biópsia. Foram analisados vários critérios morfológicos presentes no esfregaço citológico, tendo sido demonstrado que a presença de espaço claro perinuclear e moderada atipia nuclear relacionavam-se a NIC1 no diagnóstico histológico e a presença de hipercromasia, moderada anisocarise, aumento do volume nuclear das células metaplásicas e espaço claro perinuclear relacionavam-se com o diagnóstico histológico de NIC2 ou NIC3.

Ainda que o Sistema de Bethesda, revisado em 2001, tenha avançado ao estabelecer os diagnósticos de ASC-US e ASC-H, tem sido um desafio aprimorar a descrição dos critérios morfológicos dos esfregaços com células escamosas atípicas.

No entanto, quando o diagnóstico citológico inicial é de lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau (LSIL) ou de lesão intra-epitelial escamosa de alto grau (HSIL), em um percentual significativo destas mulheres não se confirma este diagnóstico na avaliação histológica e, inversamente, esfregaços descritos como de natureza reativa ou inflamatória podem estar associados à lesão neoplásica do colo uterino. Tais fatos demonstram que o universo de critérios morfológicos que caracteriza o padrão celular na análise microscópica não é preciso (GRENKO et al., 2000; SHERMAN, SOLOMON, SHIFFMAN, 2001; STOLER & SHIFFMAN, 2001).

Outro aspecto a destacar é a alta discordância nos resultados citológicos entre diferentes observadores, principalmente em relação às atipias inconclusivas e às lesões de baixo grau (BARRES & BERGERON, 2000; HEATLEY 2001; JUSKEVICIUS, ZOU, CIBAS, 2001; RENSHAW, GENEST, CIBAS, 2001; SHERMAN et al., 2001; SOLOMON, SHIFFMAN, TARONE, 2001; STOLER & SHIFFMAN, 2001).

Ademais, o Sistema de Bethesda estabeleceu a união das NIC2 e NIC 3 em um único diagnóstico citológico, mas existem evidências epidemiológicas e clínicas de que a NIC 2 é mais semelhante à NIC 1 do que a NIC 3. Pelo que se pode depreender do conhecimento de que as lesões evoluam progressivamente, mas também podem involuir ou desaparecer, as NIC 1 e NIC 2 seriam lesões de curta duração, cerca de dois anos, enquanto que as NIC 3 evoluiriam por cerca de dez anos. As idades médias ao diagnóstico das NIC 1 e NIC 2 são semelhantes e cerca de seis a dez anos menores do que a idade média da NIC 3 (ZEFERINO et al., 1998). O potencial evolutivo da NIC 1 e NIC 2 também é baixo (NASSIEL et al., 1983; NASSIEL et al., 1986; ÖSTÖR, 1993; SYRJANEN, 1996). Portanto, há questionamentos sobre o porque se unir, no diagnóstico citológico, a NIC 2 junto com a NIC 3, e não junto com a NIC 1 (ZEFERINO et al., 1998; NATIONAL CANCER INSTITUTE WORKSHOP, 2001).

Uma das críticas mais contundentes ao exame citológico é devido às altas taxas de diagnósticos falsos-negativos. Os resultados falsos-positivos, ainda que de repercussão menos graves, também ocorrem, o que pode causar morbidade e elevação dos custos desnecessariamente. Para a análise precisa da morfologia

celular são necessárias amostras adequadas e minuciosa leitura microscópica (GAY, DONALDSON, GOELLNER, 1985; KOSS, 1989; MITCHEL & MEDDLEY, 1995; FERENCZY et al., 1997).

O diagnóstico citológico baseia-se em critérios morfológicos que usualmente referem-se a um conjunto de características do citoplasma e do núcleo. Em um esfregaço convencional adequado são vistas entre 8.000 e 10.000 células, o que demonstra o quanto desafiador é estabelecer um diagnóstico, principalmente quando as alterações estão presentes em um pequeno número de células (VALENTE, SCHANTZ, TRABAL, 1991; O'SULLIVAN et al., 1998).

Assim, interessa saber se no escrutínio citológico podem-se identificar critérios morfológicos mais efetivos, que se associem mais estritamente à evolução clínica da lesão precursora e ao diagnóstico histológico final.

A identificação de critérios morfológicos específicos no esfregaço citológico que pudessem prever o diagnóstico de NIC, poderiam melhorar a concordância diagnóstica com o exame histológico e a reprodutibilidade inter e intra-observador, diminuir as taxas de falsos-negativos e auxiliar na definição da abordagem clínica mais adequada para cada mulher. Dessa forma a morbidade, conseqüente à realização de procedimentos desnecessários ou à falta de procedimentos necessários seria minimizada. No conjunto, os custos assistenciais dos programas de rastreamentos seriam reduzidos e o impacto na redução da mortalidade por carcinoma do colo uterino seria maior.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Avaliar se há critérios morfológicos presentes no esfregaço citológico anormal realizado para o rastreamento do carcinoma do colo uterino, que sejam preditivos do diagnóstico de neoplasia intra-epitelial cervical no diagnóstico histológico, melhorando a precisão diagnóstica do exame citológico.

2.2. Objetivos específicos

1. Analisar a associação dos critérios morfológicos individuais presentes no exame citológico com o diagnóstico histológico final de NIC 1.
2. Analisar a associação dos critérios morfológicos individuais presentes no exame citológico com o diagnóstico histológico final de NIC 2 ou NIC 3.
3. Comparar o desempenho do exame citológico de rastreamento antes da revisão e depois da revisão, com base nestes critérios morfológicos, através do valor preditivo positivo.

3. Sujeitos e Métodos

3.1. Tipo de estudo

Este foi um estudo do tipo corte-transversal, com componentes descritivo e comparativo.

3.2. Seleção de sujeitos

Todos os prontuários médicos das mulheres agendadas para consulta de retorno no Ambulatório de Patologia do Trato Genital Inferior do Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher (CAISM) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), no período de outubro de 2001 a março de 2002, foram vistos pela pesquisadora. Foram selecionadas 206 mulheres que foram admitidas no estudo por apresentarem no rastreamento do carcinoma do colo uterino um exame citológico alterado.

Foram excluídas as mulheres com história de doença cervical neoplásica prévia, portadoras de carcinoma clinicamente invasivo, submetidas à radioterapia

pélvica ou à quimioterapia prévia, grávidas e aquelas que não completaram a abordagem diagnóstica proposta no Ambulatório.

3.3. Rotina assistencial

A rotina diagnóstica do Programa de Controle de Câncer do Colo Uterino de Campinas e região, vigente durante a realização deste estudo, estabelecia que as mulheres com o diagnóstico de ASCUS/LSIL deviam repetir o exame citológico em seis meses. Quando se constatava qualquer anormalidade no segundo exame citológico, a mulher devia ser encaminhada para exame colposcópico e biópsia.

Portanto, as mulheres com diagnóstico citológico de HSIL, carcinoma escamoso, AGUS e adenocarcinoma deviam ser encaminhadas diretamente para exame colposcópico e biópsia .

A biópsia era realizada com base no exame colposcópico. Alguns casos foram submetidos à cirurgia de conização, à cirurgia de alta frequência ou a bisturi a frio, quando os procedimentos prévios não foram suficientes para definir o diagnóstico.

Todavia, foi incluído neste estudo um contingente de mulheres com o diagnóstico de ASCUS/LSIL, tendo sido encaminhadas diretamente para o exame colposcópico após o primeiro exame citológico alterado.

3.4. Variáveis em estudo

3.4.1. Variáveis independentes

Os critérios morfológicos preestabelecidos, no total de 28, foram analisados, um a um, através da revisão microscópica do exame citológico alterado, resultando na inclusão das mulheres neste estudo (QUADRO 1).

QUADRO 1. VARIÁVEIS INDEPENDENTES

VARIÁVEL	DEFINIÇÃO	CATEGORIZAÇÃO
Padrão do esfregaço: Trófico	Variável com a fase do ciclo menstrual.	Presente ou Ausente
Padrão do esfregaço: Atrofico	Predominam as células parabasais e profundas.	Presente ou ausente
Inflamação	Presença de modificações celulares reversíveis associadas ou não a um microorganismo identificável na amostra. São modificações inflamatórias inespecíficas: hipercromasia, halo perinuclear e vacuolização citoplasmática	Presente ou ausente
Quantidade de células atípicas	Avaliação geral do esfregaço quanto à presença de células atípicas.	0: ausência de células atípicas +: células atípicas presentes, mas difíceis de encontrar ++: células atípicas em vários campos +++ : células atípicas muito facilmente encontradas (teve muitos campos)
Célula alterada parabasal	Discariose em célula do tamanho da parabasal	Presente ou ausente
Célula alterada intermediária	Discariose em célula do tamanho da intermediária	Presente ou ausente

Célula alterada superficial	Discariose em célula do tamanho da superficial	Presente ou ausente
Célula alterada do tipo metaplásica madura	Discariose em células de padrão metaplásico maduro	Presente ou ausente
Célula alterada do tipo metaplásica imatura	Discariose em células de padrão metaplásico imaturo	Presente ou ausente
Célula alterada endocervical	Discariose em células de padrão glandular	Presente ou ausente
Espaço claro perinuclear	Espaço claro perinuclear, grandes halos claros, porém sem condensação citoplasmática periférica.	0: alterações ausentes +: alterações presentes, mas muito difíceis de encontrar ++: alterações presentes em vários campos +++: alterações muito fáceis de encontrar (teve muitos campos)
Disceratose	Células superficiais em miniatura, com núcleo picnótico e o citoplasma orageófilico, arranjadas sozinhas ou em pequenos grupos, apresentando perda da polaridade nuclear.	Presente ou ausente
Borda citoplasmática espessa	Superfície periférica espessa e irregular de citoplasma denso.	Presente ou ausente
Binucleação	Célula binucleada.	Presente ou ausente
Multinucleação	Célula multinucleada.	Presente ou ausente
Relação núcleo-citoplasmática	A relação núcleo-citoplasmática, em citologia, reflete a maturidade celular. Quanto mais imatura uma célula, maior será a relação núcleo-citoplasmática.	0: alteração ausente +: alteração presente- discreta ++: alteração presente-moderada +++: alteração presente-acentuada
Anisocarise	Variação do tamanho nuclear	0: alteração ausente +: alteração presente- discreta ++: alteração presente-moderada +++: alteração presente-acentuada
Hipercromasia	Gradação da afinidade tintorial basofílica do núcleo, comparada com o núcleo normal da célula intermediária.	0: alteração ausente +: alteração presente- discreta ++: alteração presente-moderada +++: alteração presente-acentuada

Membrana nuclear irregular	Perfil nuclear com sulcos e indentações	Presente ou ausente
Membrana nuclear regular	Perfil nuclear liso, nítido, bem definido	Presente ou ausente
Membrana nuclear espessada	Contorno nuclear espesso. Melhor observado em microscopia eletrônica.	Presente ou ausente
Membrana nuclear delicada	Contorno nuclear delicado, fino. Melhor observado em microscopia eletrônica.	Presente ou ausente
Cromatina de distribuição irregular	Cromatina distribuída de forma irregular, arranjada em grumos, quando o núcleo é dividido em quatro quadrantes	Presente ou ausente
Cromatina de distribuição regular	Núcleo de padrão vesicular.	Presente ou ausente
Nucléolo	Uma área dentro do núcleo, onde o ácido ribonucléico é sintetizado. Valorizado quando anormalmente grande, ou de forma irregular ou múltipla (vistos na objetiva de 40X)	Presente ou ausente
Volume do núcleo das células metaplásicas maior de uma vez e meia	Núcleo das células metaplásicas maior que uma vez e meia o núcleo normal da célula intermediária	Presente ou ausente
Volume do núcleo das células maduras de 2,5 a 3 vezes	Núcleo das células intermediárias ou superficiais maior que duas e meia a três vezes o núcleo normal da célula intermediária	Presente ou ausente
Volume do núcleo das células maduras maior de 3 vezes	Núcleo das células intermediárias ou superficiais maior que três vezes o núcleo normal das células intermediárias.	Presente ou ausente

Adaptado de KOSS, 1989; DEMAY, 1996; MCKEE, 1997

As figuras que seguem ilustram alguns dos critérios morfológicos analisados neste estudo (Figuras 6 a 9).

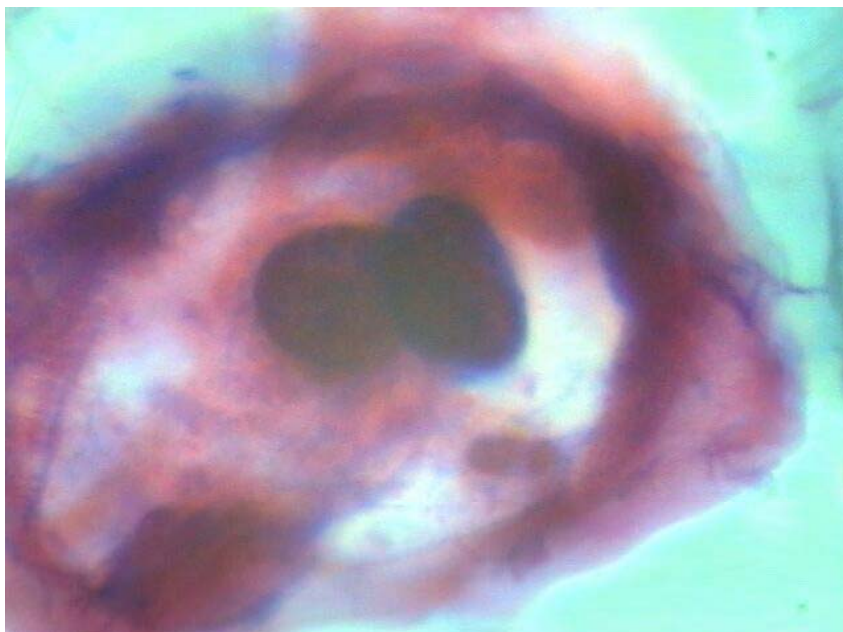


Figura 6. Alterações citopáticas do HPV. PAPA, aumento original X 100 Coilócito típico, mostrando binucleação, núcleo anormal e borda citoplasmática espessa.

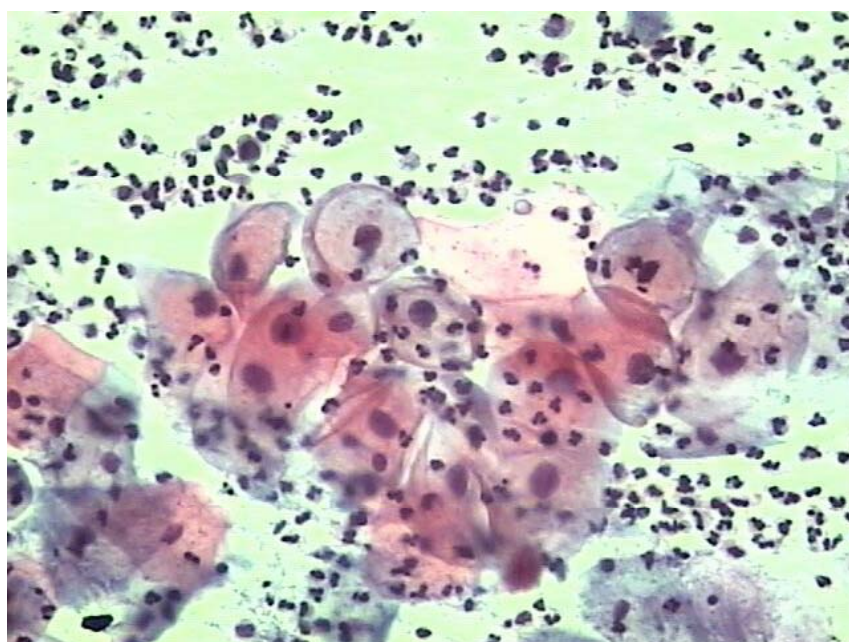


Figura 7. ASC-US– Papa, aumento original X 20. Células escamosas superficiais e intermediárias com discreto aumento do volume nuclear, porém ainda com perfil liso e cromatina vesicular. Presença de halos sem espessamento do limite citoplasmático.



*Figura 8. **HSIL** – Papa, aumento original X 20. Células intensamente discarióticas com grande aumento da relação N/C, anisocariose, hipercromasia com distribuição irregular da cromatina, membrana nuclear espessa e, ainda, sulcos e indentações.*



*Figura 9. **HSIL** – Papa, aumento original X 10. As células intensamente discarióticas mostradas neste campo são pequenas, com núcleos hipercromáticos e muito irregulares, com arranjo em “fila indiana”.*

3.4.2. Variáveis dependentes

3.4.2.1 Diagnóstico citológico antes da revisão

Diagnóstico inicial que foi atribuído pelos citopatologistas aos exames citológicos de rastreamento, na rotina assistencial do Laboratório de Citopatologia do CAISM/UNICAMP, baseado no Sistema de Bethesda 1991.

3.4.2.2 Diagnóstico citológico após revisão

Novo diagnóstico foi atribuído aos mesmos esfregaços citológicos de rastreamento que apresentaram resultados originalmente alterados, com base na análise dos 28 critérios morfológicos individuais. A revisão das lâminas foi realizada pela pesquisadora e mais dois citopatologistas, sendo um Sênior. Foi adotada a classificação proposta pelo Sistema de Bethesda 2001, o que significou a inclusão dos diagnósticos de ASC-US, ASC-H e anormalidade de células glandulares e a exclusão de ASCUS e AGUS (Quadro 2).

QUADRO 2. CLASSIFICAÇÃO DO RESULTADO DO EXAME CITOLÓGICO

DIAGNÓSTICO	DESCRIÇÃO
Normal	Células dentro dos limites da normalidade.
Outros achados de natureza não neoplásica	Células com alterações reativas, células glandulares com alterações benignas, algumas alterações benignas vistas em esfregaços atróficos.
Células escamosas atípicas (ASC-US e ASC-H)	Alterações celulares sugestivas de lesão intra-epitelial escamosa, mas que qualitativamente e quantitativamente são insuficientes para definição do diagnóstico. A categoria ASC-US inclui: poucos casos classificados anteriormente (Bethesda 1991), como ASCUS, SOE ou ASCUS favorecendo lesão intra-epitelial com critérios incompletos para LSIL. A categoria ASC-H inclui alterações celulares que são sugestivas de HSIL, mas faltam critérios definitivos.
Lesão intra epitelial de baixo grau	Células superficiais e/ou intermediárias com núcleos aumentados em até 50% do tamanho habitual, com perfil irregular, cromatina geralmente em grumos grosseiros, podendo mostrar núcleos pálidos, multinucleação, além de efeito citopático de HPV.
Lesão intra epitelial de alto grau	As células alteradas são menos maduras, aproximadamente do tamanho das células parabasais, com núcleo aumentado em até dois terços do tamanho habitual, com perfil irregular, usualmente hipercromático, com marcada formação de grumos de cromatina, podendo haver núcleos hipocromáticos. Há multinucleação. As células podem ainda ser menores que as parabasais, com núcleo preenchendo quase toda a célula, respeitando apenas um delicado anel citoplasmático, com perfil nuclear irregular, cromatina grosseira, em agregados, e geralmente hipercromasia.; por vezes, com arranjo sincicial.
Carcinoma de células escamosas	Células isoladas, ou células alongadas, em fila indiana, com aumento nuclear, hipercromasia acentuada, cromatina irregular, membrana nuclear espessa e irregular e diátese tumoral.

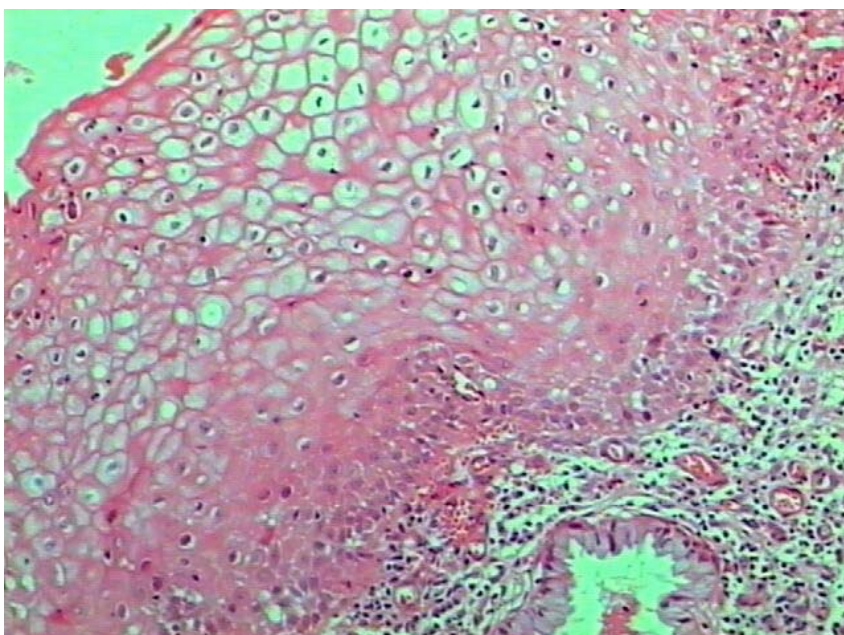
Adaptado do Sistema de Bethesda (KURMAN & SOLOMON, 1994; McKEE, 1997;
<http://www.bethesda2001.cancer.gov>)

3.4.2.3 Diagnóstico histológico final

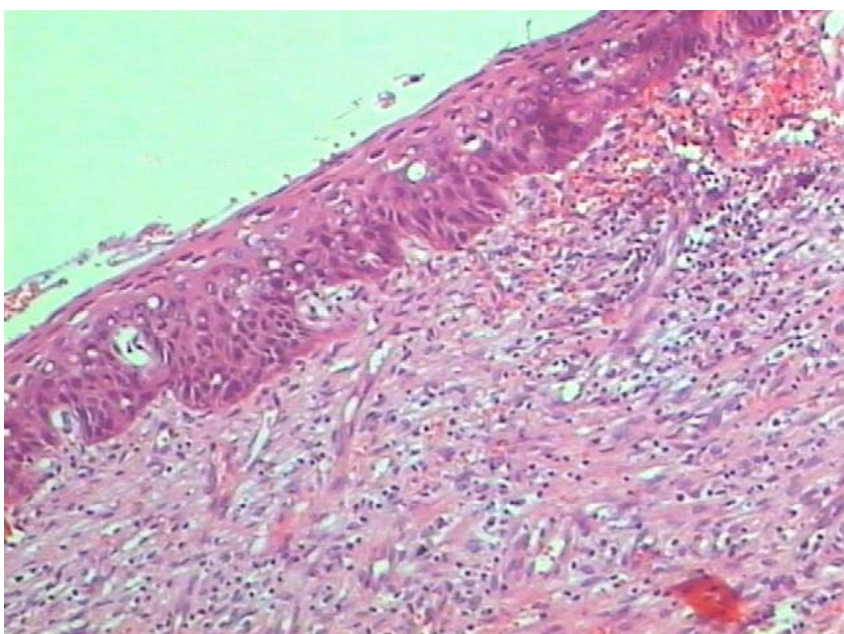
O diagnóstico histológico final foi aquele atribuído por dois patologistas – sendo um a pesquisadora e o outro Sênior– ao exame histológico, de acordo com a classificação proposta pela Organização Mundial da Saúde (SCULLY et al., 1994). Quando houve mais de um exame histológico devido à biópsia, conização do colo uterino e histerectomia, considerou-se o diagnóstico mais grave.

Para a análise dos dados, os diagnósticos histológicos foram agrupados da seguinte forma:

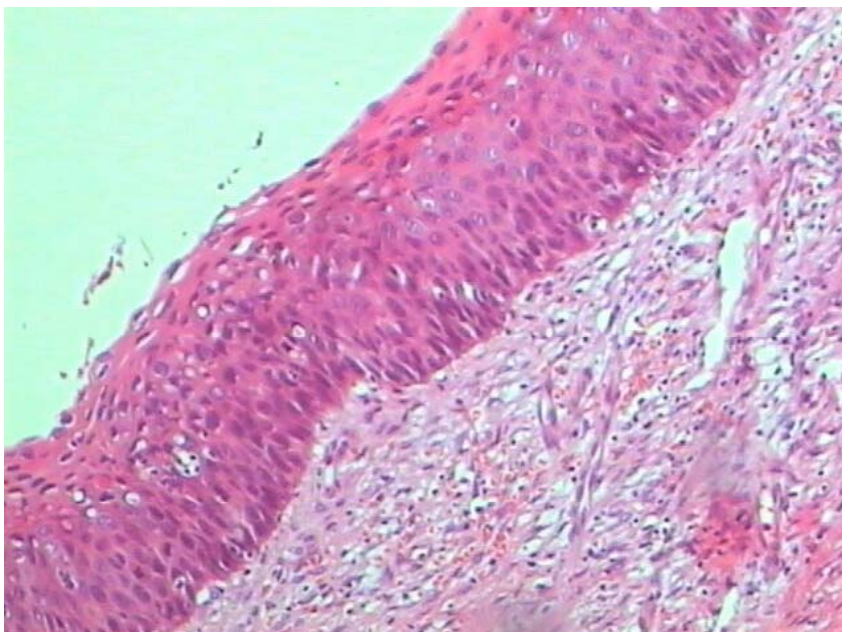
- *Sem neoplasia*: Resultado do exame histológico da revisão, negativo ou sem lesão de HPV, ou com cervicite crônica com leve atipia coliocitótica (Figura 10).
- *NIC 1*: Resultado do exame histológico da revisão de NIC 1 (Figura 11).
- *NIC 2 ou NIC 3*: Resultado do exame histológico da revisão de NIC 2 ou NIC 3 (Figuras 12 e 13).



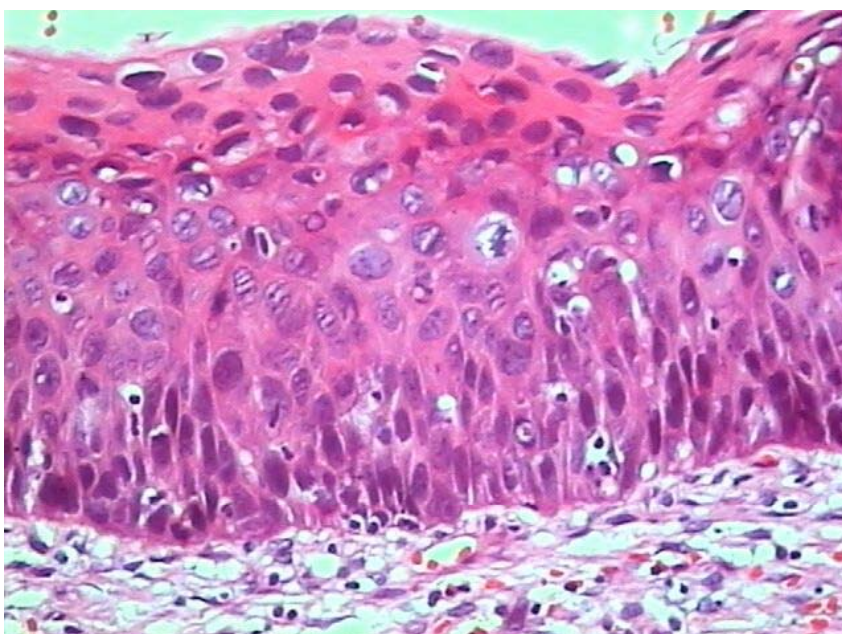
*Figura 10. **Cervicite crônica com leve atipia colilocitótica** – H&E, aumento original X 40. Epitélio pavimentoso estratificado metaplásico com maturação preservada. Presença de alguns halos claros perinucleares nos dois terços externos e importante infiltrado inflamatório no córion.*



*Figura 11. **Neoplasia intra-epitelial cervical 1** – H&E, aumento original X 10. Epitélio estratificado metaplásico apresentando células atípicas ocupando o terço basal do epitélio, com maturação evidente, porém com células anormais nos dois terços superiores. Presença de atipias colilocitóticas.*



*Figura 12. **Neoplasia intra-epitelial cervical 2** – H&E, aumento original X 10. Células indiferenciadas e desarranjo arquitetural ocupando os dois terços inferiores do epitélio.*



*Figura 13. **Neoplasia intra-epitelial cervical 3** – H&E, aumento original X 20. Células indiferenciadas ocupam quase a totalidade do epitélio, notando-se figuras de mitose e ceratinização.*

3.4.2.4 Diagnóstico final

Considerou-se como diagnóstico final o diagnóstico histológico mais grave da revisão quando o caso teve avaliação histológica. Os casos que tiveram exames citológicos e colposcópico negativos, realizados no Ambulatório de Patologia do Trato Genital Inferior, e que não foram submetidos à biópsia, foram considerados como sem neoplasia e analisados em conjunto com os casos cujo exame histológico não mostrou neoplasia intra-epitelial cervical.

O diagnóstico final foi considerado como padrão-ouro para calcular o valor preditivo positivo do exame citológico.

3.4.3. Variáveis de controle

- Idade da mulher, em anos completos, no dia da coleta do exame citológico de rastreamento
- Intervalo de tempo, em meses, entre a data do exame citológico de rastreamento e a data do(s) exame(s) que definiram o diagnóstico final.

3.5. Coleta de dados

Os dados foram coletados através dos seguintes passos:

- a) Os casos incluídos receberam um número seqüencial.
- b) As lâminas dos exames citológicos receberam nova identificação e foram separadas do arquivo do Laboratório de Citopatologia – CAISM.

- c) As lâminas dos exames histológicos de maior gravidade foram novamente identificadas e separadas do arquivo do Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital das Clínicas – UNICAMP.
- d) As lâminas do exame citológico de rastreamento foram submetidas à revisão em microscópio de co-observação, para a identificação e qualificação dos critérios morfológicos.
- e) As lâminas do exame histológico foram submetidas à revisão em microscópio de co-observação.
- f) Os patologistas envolvidos na revisão não tinham conhecimento dos laudos dos demais exames envolvidos no estudo, bem como informações clínicas da mulher.
- g) Todos os dados de diagnóstico e de seguimento das mulheres, necessários à pesquisa, foram anotados em uma ficha pré-codificada, especialmente elaborada para este estudo (Anexos 1, 2, 3 e 4).

3.6. Processamento de dados

Foi realizada revisão manual das fichas pré-codificadas e as falhas ou inconsistências detectadas foram corrigidas. Após, os dados anotados na ficha foram duplamente digitados em um banco de dados construído em *software* EXCEL. Após a digitação foram realizadas tabelas descritivas para avaliação da consistência dos dados.

3.7. Análise estatística

A análise da magnitude da associação dos critérios morfológicos individuais dos exames citológicos com o diagnóstico final foi realizada por valores estimados de *odds ratio* com os respectivos intervalos de confiança a 95%. O *odds ratio* foi considerado significativo quando o intervalo de confiança não incluiu o valor 1. A análise da associação dos critérios morfológicos na predição do diagnóstico histológico também foi feita através de modelos de regressão logística, com a inclusão de todos os critérios, sendo aplicada uma seleção tipo *backward*. Os resultados da análise de regressão logística foram expressos em valores de OR, com os respectivos intervalos de confiança a 95%. Para construir uma estrutura preditiva entre os critérios morfológicos e o diagnóstico final foi utilizada a *Chi-Square Automatic Iterative Detection* (CHAID) (KASS, 1980). Esta técnica procura classificar os critérios morfológicos estudando-se as partições e agrupamentos do grupo de categorias em subgrupos, procurando aquela que possui o maior valor da estatística: qui-quadrado de Person ou Razão de Verossimilhança. Tal classificação começa na partição múltipla das categorias, analisando cada um dos critérios morfológicos de tal forma que sejam formados grupos de combinação de níveis ou categorias. Trata-se de uma relação entre o diagnóstico final e os critérios morfológicos, como uma regressão por *stepwise*. O valor do nível de significância foi fixado em $p = 0,05$ para comparação dos testes das respectivas tabelas de contingência CHAID. Utilizou-se o *software* SPSS Answer Tree Release 2.11 (1999).

3.8. Aspectos éticos

O estudo foi retrospectivo com mulheres que realizaram exames citológicos de rastreamento para prevenção do câncer do colo uterino nas Unidades Básicas do Sistema Único de Saúde e as lâminas encontravam-se no Laboratório de Citopatologia do CAISM/ UNICAMP. Os dados das mulheres foram obtidos de seus prontuários médicos no Ambulatório de Patologia do Trato Genital Inferior e as lâminas dos exames citológicos foram retiradas do arquivo do laboratório. A coleta de dados foi realizada após a conclusão da abordagem diagnóstica proposta no Ambulatório e, portanto, não interferiu no atendimento ou na conduta clínica das mulheres.

Quando, na revisão dos exames citológicos, foi encontrado um diagnóstico de natureza mais grave que o inicial, o Ambulatório de Patologia Cervical foi informado visando verificar se seria necessário ajustar a conduta diagnóstica ou terapêutica já adotada, em benefício da mulher.

Após a conclusão da coleta de dados e da análise de consistência foi removido do formulário o segmento em que constava o nome das mulheres, que a partir de então, foram identificadas apenas através do número do caso.

Entendeu-se que não foi necessário termo de consentimento porque:

- 1-** Os dados foram colhidos após o atendimento.
- 2-** Nenhum dos pesquisadores teve contato direto com as mulheres.

3- As informações do estudo foram obtidas a partir da análise de exames citológicos, histológicos e do laudo do exame colposcópico.

4- Não houve qualquer risco para as mulheres incluídas no estudo, uma vez que a rotina assistencial permaneceu inalterada.

Concluindo, foram obedecidos os preceitos do Código de Ética Médica para a utilização científica de dados de pacientes e respeitados os princípios enunciados na DECLARAÇÃO DE HELSINQUE (2000), emendada em Edimburgo, Escócia e na Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 1996).

O projeto foi aprovado pela Comissão de Pesquisa do CAISM e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas – UNICAMP.

4. Resultados

Dentre as 206 mulheres incluídas no estudo, 60,7% apresentavam diagnóstico citológico inicial de HSIL, sendo que 22,8% e 14,6% das mulheres apresentavam, respectivamente, diagnóstico de ASCUS e LSIL (Tabela 1).

TABELA 1
Diagnóstico do exame citológico de rastreamento antes da revisão

Diagnóstico	n	%
ASCUS	47	23
LSIL	30	14
HSIL	124	61
Carcinoma escamoso	2	1
AGUS	3	2
Total	206	100,0

As freqüências de diagnósticos de ASC-US e de ASC-H foram de aproximadamente 15%. Após a revisão, 7,3% dos exames foram considerados negativos para células alteradas/atípicas/neoplásicas (Tabela 2).

TABELA 2

Diagnóstico do exame citológico de rastreamento após a revisão

Diagnóstico	n	%
Negativo	15	7
ASC-US	29	14
ASC-H	33	16
LSIL	37	18
HSIL	87	42
Carcinoma escamoso	2	1
Anormalidade de célula glandular	3	2
Total	206	100,0

Após a revisão, a freqüência do diagnóstico de LSIL aumentou cerca de 20%. Observou-se que 60% dos diagnósticos de ASCUS foram reclassificados como ASC-US ou ASC-H e 21,2% foram reclassificados como negativos para neoplasia (Tabela 3).

Dos 124 exames citológicos diagnosticados como de HSIL antes da revisão, 3% foram reclassificados como negativos, 7% como ASC-US, 13% como ASC-H e 15% como LSIL. Assim, 46 casos (37,1%) de HSIL receberam diagnósticos

menos graves após a revisão. Observou-se também que 9% dos ASC-US e 17% dos LSIL foram reclassificados como HSIL (Tabela 3).

Houve dois casos com diagnóstico citológico de carcinoma de células escamosas (antes da revisão), que foram incluídos no estudo porque, ao término da abordagem diagnóstica, não foi confirmado este diagnóstico nos exames histológicos.

TABELA 3
Comparação do diagnóstico citológico de rastreamento antes e após a revisão

Diagnóstico após Revisão	Diagnóstico antes da revisão											
	ASCUS		LSIL		HSIL		Ca Escamoso		AGUS		Total	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Negativo	10	21	1	3	4	3	0	-	0	-	15	7,3
ASC-US	17	37	3	10	8	7	0	-	1	33	29	14,1
ASC-H	11	23	5	17	16	13	0	-	1	33	33	16,0
LSIL	3	6	16	53	18	15	0	-	0	-	37	18
HSIL	4	9	5	17	75	61	2	100	1	33	87	42,2
CEC	1	2	0	0	1	1	0	-	0	-	2	0,9
Atipias de células Glandulares	1	2	0	0	2	2	0	-	0	-	3	1,4
Total	47	100	30	100	124	100	2	100	3	100	206	100

Dentre as mulheres com diagnóstico de HSIL antes da revisão, 21% não apresentaram diagnóstico histológico de neoplasia, o que também ocorreu com 61,7% das mulheres com ASCUS e com 40% daquelas com LSIL (Tabela 4).

O diagnóstico citológico de LSIL foi confirmado como NIC 1 em 43,3% das mulheres. O diagnóstico de HSIL foi confirmado em 62,9%, sendo 12,1% de NIC 2 e 50,8% de NIC 3 (Tabela 4).

TABELA 4
Correlação entre o diagnóstico da citologia de rastreamento antes da revisão e o diagnóstico final

Diagnóstico final	Diagnóstico citológico antes da revisão											
	ASCUS		LSIL		HSIL		Carcinoma Escamoso		AGUS		Total	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Negativo	29	62	12	40	26	21	0	-	0	-	67	32,5
NIC1	7	14	13	43	20	16	0	-	1	33	41	19,9
NIC2	5	11	1	3	15	12	0	-	1	33	22	10,7
NIC3	6	13	4	13	63	51	2	100	1	33	76	36,9
Total	47	100	30	100	124	100	2	100	3	100	206	100

Após a revisão do exame citológico, dentre as mulheres que tiveram diagnóstico citológico de HSIL 11% não apresentaram diagnóstico neoplásico, o que também ocorreu com 39% das mulheres que tiveram ASC-H, 62% das que tiveram ASC-US e em 37% das mulheres que tiveram LSIL (Tabela 5).

O diagnóstico citológico de LSIL foi confirmado como NIC 1 em 46% das mulheres. O diagnóstico de HSIL foi confirmado em 79%, sendo 16% de NIC 2 e 63% de NIC 3 (Tabela 5).

TABELA 5
**Associação do diagnóstico citológico de rastreamento
depois da revisão com o diagnóstico final**

Diag. Final	Diagnóstico após a revisão															
	Neg		ASC-US		ASC-H		LSIL		HSIL		CEC		A C G*		Total	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Não neopl.	11	73	18	62	13	39	14	37	10	11	0	-	1	33	67	32,5
NIC1	4	27	3	10	9	27	17	46	8	9,2	0	-	0	-	41	19,9
NIC2	0	0	3	10	3	9	2	5,4	14	16	0	-	0	-	22	10,6
NIC3	0	0	5	17	8	24	4	11	55	63	2	100	2	66	76	36,8
Total	15	100	29	100	33	100	37	100	87	100	2	100	3	100	206	100

* Anormalidade de célula glandular

Após a revisão dos exames citológicos, o valor preditivo positivo para HSIL aumentou de 62,9% para 88,7%, enquanto o valor preditivo positivo para LSIL aumentou apenas 2,6% (Tabela 6).

TABELA 6
**Valores preditivos positivos para os diagnósticos
citológicos de LSIL e HSIL antes e após a revisão**

	Antes da revisão	Após a revisão
LSIL	43,3%	45,9%
HSIL	62,9%	88,7%

A quase totalidade das mulheres apresentaram esfregaços tróficos e alterações de natureza inflamatória. Observou-se que 46% das mulheres com diagnóstico final de NIC 1 apresentaram células com borda citoplasmática espessa, o que correspondeu a aproximadamente o dobro do observado naquelas sem neoplasia ou com NIC 2 ou 3 (Tabela 7).

Dentre os casos com diagnóstico final de NIC 2 ou NIC 3, observou-se que (Tabela 7):

- 85% dos esfregaços apresentaram moderada ou acentuada quantidade de células atípicas;
- as células intermediárias e as metaplásicas maduras encontravam-se alteradas em cerca de 80% dos esfregaços;
- volume nuclear das células metaplásicas foi, pelo menos, uma vez e meia maior que o volume nuclear das células intermediárias normais em 85% dos casos;
- cerca de 80% dos esfregaços apresentaram moderado ou acentuado aumento da relação núcleo-citoplasmática;
- cerca de 80% dos esfregaços apresentaram moderada ou acentuada anisocariose;
- todos os esfregaços apresentaram hipercromasia, sendo que em cerca de 80% era de moderada ou acentuada intensidade;
- cerca de 80% dos esfregaços apresentaram células com núcleo exibindo distribuição irregular da cromatina;
- cerca de 80% e 60% dos esfregaços apresentaram, respectivamente, células com membrana nuclear irregular e membrana nuclear espessa.

TABELA 7

Distribuição dos critérios morfológicos individuais identificados na
revisão do exame citológico com o diagnóstico histológico final

Critérios morfológicos presentes	Diagnóstico histológico final			Total
	Não neoplásico	NIC 1	NIC 2/3	
Características do esfregaço				
Esfregaço trófico	66	40	90	196
Esfregaço atrófico	1	1	8	10
Alterações inflamatórias	60	41	96	197
Quantidade de células atípicas				
0	9	4	0	13
+	32	11	15	58
++	21	24	35	80
+++	5	2	48	55
Alterações em células				
Parabasais	2	4	19	25
Intermediárias	46	30	82	158
Superficiais	39	28	70	137
Metaplásicas maduras	20	13	78	111
Metaplásicas imaturas	7	6	30	43
Endocervicais	4	2	3	9
Critérios citoplasmáticos				
Espaço claro perinuclear	29	13	30	72
0	35	23	59	117
+				
++	3	5	9	17
+++	-	-	-	-
Disceratose	23	19	59	101
Borda citoplasmática espessa	14	19	28	61
Critérios nucleares				
Binucleação	50	35	91	176
Multinucleação	14	6	40	60
Relação núcleo-citoplasmática				
0	17	5	2	24
+	34	18	18	70
++	13	16	33	62
+++	3	2	45	50
Anisocariose				
0	19	7	5	31
+	32	18	18	68
++	13	14	31	58
+++	3	2	44	49
Hipercromasia				
0	11	4	0	15
+	34	16	20	70
++	20	20	34	74
+++	2	1	44	47
Membrana nuclear irregular	25	16	77	118
Membrana nuclear delicada	52	32	39	123
Membrana nuclear espessa	11	7	60	78
Cromatina de distribuição irregular	19	18	75	112
Núcleo	3	1	1	5
Volume nuclear cel. Meta > 1,5	24	17	83	124
Volume nuclear cel. Madura	22	6	11	39
>2,5-3.0				
Volume nuclear cel. Madura > 3,0	24	22	50	96
Total	67	41	98	206

Para estimar os valores de *odds ratio* bruto, ajustados pela idade e intervalo de tempo entre o exame citológico e o diagnóstico final, na análise univariada das variáveis categóricas ordenadas, foram agrupadas as categorias zero e uma cruz, que passaram, juntas, a ser nova categoria de referência, sendo também agrupadas as categorias duas e três cruzeiras.

Os critérios morfológicos referentes ao núcleo da célula que se mostraram associados positivamente ao diagnóstico histológico de NIC 2 ou NIC 3, em ordem decrescente, de acordo com os valores de *odds ratio* bruto, e estão descritos na Tabela 8, foram:

- aumento da relação núcleo-citoplasmática;
- anisocariose;
- volume nuclear das células metaplásicas maior de 1,5;
- cromatina de distribuição irregular;
- membrana nuclear espessa;
- hipercromasia;
- membrana nuclear irregular;
- binucleação;
- multinucleação.

De acordo com a análise univariada, a maior quantidade de células atípicas nos esfregaços citológicos associou-se com o diagnóstico histológico de NIC 2 ou NIC 3. O tipo de célula que continha as alterações variou, sendo que as células metaplásicas maduras e as células parabasais foram as que apresentaram maiores

OR, seguidas das células metaplásicas imaturas e células intermediárias. O único critério citoplasmático que se associou com o diagnóstico de NIC 2 ou NIC 3 foi a disceratose (Tabela 9).

Quando o OR foi ajustado pela idade da mulher, observou-se aumento da magnitude da associação com o diagnóstico histológico de NIC 2 ou NIC 3 para a multinucleação e a hipercromasia. O ajuste pelo intervalo entre o exame e o diagnóstico final não mostrou variação importante dos *odds ratios* (Tabela 9).

Os critérios referentes ao núcleo da célula que se associaram inversamente (OR menor de 1) com o diagnóstico histológico de NIC 2 ou NIC 3 foram a membrana nuclear de espessura delicada e o volume nuclear em células maduras de 2,5 a 3 vezes maior que o núcleo da célula intermediária normal. Os ajustes pela idade e intervalo não modificaram a magnitude dessa associação (Tabela 9).

A maior quantidade de células atípicas nos esfregaços citológicos associou-se ao diagnóstico histológico de NIC 1, com OR de 2,73. Todavia, o OR encontrado para este critério, para o diagnóstico histológico de NIC 2 ou NIC 3 foi de 8,73 (Tabelas 8 e 9).

Nenhum tipo de célula associou-se com o diagnóstico histológico de NIC 1, tendo como referência o padrão dos esfregaços que não apresentaram diagnóstico neoplásico. A borda citoplasmática espessada e o aumento da relação núcleo-citoplasmática associaram-se positivamente com o diagnóstico histológico de NIC 1. A disceratose associou-se apenas quando a análise foi ajustada pela idade das mulheres (Tabela 8).

TABELA 8

Odds ratios (bruto, ajustado pela idade, pelo intervalo e pela idade e intervalo) dos critérios morfológicos em mulheres com diagnóstico histológico final de NIC 1

Critério	NIC 1							
	<i>Odds ratio</i> bruto		Idade		Intervalo		Idade e intervalo	
	OR*	IC 95%	OR	IC 95%	OR	IC 95%	OR	IC 95%
Esfregaço trófico	0,61	0,04 a 9,96	0,59	0,03 a 10,38	0,59	0,03 a 10,03	0,60	0,03 a 10,94
Quantidade de células atípicas	2,73	1,22 a 6,10	3,00	1,31 a 6,88	2,80	1,22 a 6,43	3,11	1,31 a 7,36
Alterações em células								
Parabasais	3,51	0,61 a 20,11	3,75	0,64 a 21,91	3,43	0,59 a 19,35	3,74	0,63 a 22,28
Intermediárias	1,25	0,53 a 2,95	1,28	0,52 a 3,15	1,22	0,51 a 2,92	1,30	0,52 a 3,23
Superficiais	1,55	0,68 a 3,50	1,62	0,70 a 3,74	1,54	0,67 a 3,54	1,65	0,70 a 3,90
Metaplásicas maduras	1,09	0,47 a 2,53	1,20	0,05 a 2,87	1,01	0,43 a 2,40	1,22	0,49 a 3,04
Metaplásicas imaturas	1,47	0,46 a 4,72	1,49	0,45 a 4,90	1,54	0,47 a 5,01	1,58	0,47 a 5,25
Endocervicais	0,81	0,14 a 4,62	0,70	0,10 a 4,31	0,90	0,15 a 5,57	0,72	0,11 a 4,80
Critério citoplasmático								
Espaço claro perinuclear	1,64	0,73 a 3,72	1,78	0,75 a 4,21	1,77	0,76 a 4,13	2,00	0,81 a 4,90
Disceratose	1,65	0,75 a 3,66	1,83	0,81 a 4,15	4,63	2,06 a 10,43	1,94	0,84 a 4,48
Borda citoplasmática	3,27	1,40 a 7,65	3,59	1,47 a 8,79	3,28	1,37 a 7,89	3,69	1,47 a 9,24
Critério nuclear								
Binucleação	1,98	0,71 a 5,53	2,28	0,78 a 6,65	1,98	0,70 a 5,61	2,28	0,77 a 6,74
Multinucleação	0,65	0,23 a 1,85	0,62	0,21 a 1,86	0,63	0,22 a 1,81	0,58	0,19 a 1,78
Relação N/C	2,49	1,08 a 5,74	2,84	1,19 a 6,76	2,64	1,12 a 6,27	3,07	1,25 a 7,55
Anisocariose	2,04	0,88 a 4,74	2,25	0,94 a 5,38	2,14	0,90 a 5,10	2,38	0,97 a 5,84
Hipercromasia	2,17	0,97 a 4,76	2,30	1,01 a 5,25	2,29	1,01 a 5,21	2,50	1,07 a 5,84
Membrana nuclear irregular	1,08	0,48 a 2,39	1,14	0,50 a 2,59	1,08	0,48 a 2,45	1,16	0,50 a 2,70
Membrana nuclear delicada	1,03	0,40 a 2,62	0,96	0,37 a 2,48	1,03	0,40 a 2,66	0,96	0,36 a 3,50
Membrana nuclear espessa	1,05	0,37 a 2,96	1,16	0,40 a 3,36	1,03	0,36 a 2,95	1,16	0,40 a 3,39
Cromatina irregular	1,98	0,88 a 4,46	2,03	0,88 a 4,66	2,05	0,90 a 4,69	2,13	0,91 a 4,98
Núcleo	0,53	0,05 a 5,31	0,38	0,03 a 4,32	0,54	0,05 a 5,67	0,35	0,03 a 4,36
Volume nuclear das células metapáticas >1,5	1,27	0,57 a 2,82	1,38	0,61 a 3,13	1,29	0,57 a 2,92	1,39	0,60 a 3,23
Volume nuclear das células maduras >2,5-3,0	0,35	0,13 a 0,96	0,32	0,11 a 0,93	0,31	0,11 a 0,88	0,28	0,09 a 0,83
Volume nuclear das células maduras >3,0	2,07	0,94 a 4,58	2,23	0,98 a 5,08	2,03	0,91 a 4,53	2,25	0,97 a 5,19

TABELA 9

Odd ratios (bruto, ajustado pela idade, pelo intervalo e pela idade e intervalo) dos critérios morfológicos em mulheres que tiveram diagnóstico histológico final de NIC 2 ou 3

Critério	NIC 2 ou 3							
	Odds ratio bruto		Idade		Intervalo		Idade e intervalo	
	OR*	IC 95%	OR	IC 95%	OR	IC 95%	OR	IC 95%
Esfregaço trófico	0,17	0,02 a 1,40	0,19	0,02 a 1,62	0,19	0,02 a 1,63	0,21	0,02 a 1,88
Quantidade de células atípicas	8,73	4,17 a 18,24	9,77	4,46 a 21,39	8,86	4,15 a 18,94	10,10	4,52 a 22,60
Alterações em células								
Parabasais	7,82	1,76 a 34,81	7,09	1,56 a 32,22	7,34	1,63 a 33,07	6,83	1,48 a 31,48
Intermediárias	2,34	1,11 a 4,92	2,75	1,25 a 6,05	2,32	1,09 a 4,93	2,77	1,24 a 6,17
Superficiais	1,79	0,93 a 3,45	1,83	0,92 a 3,64	1,78	0,91 a 3,45	1,81	0,90 a 3,63
Metaplásicas maduras	9,17	4,47 a 18,79	9,44	4,39 a 20,29	9,83	4,65 a 20,76	0,32	4,65 a 22,90
Metaplásicas imaturas	3,78	1,55 a 9,24	3,57	1,42 a 8,96	3,86	1,56 a 9,42	3,68	1,45 a 9,38
Endocervicais	0,50	0,11 a 2,30	0,43	0,09 a 2,15	0,39	0,08 a 1,92	0,35	0,07 a 1,85
Critério citoplasmático								
Espaço claro perinuclear	1,73	0,91 a 3,30	1,95	0,97 a 3,91	1,74	0,89 a 3,40	1,98	0,96 a 4,08
Disqueratose	2,89	1,52 a 5,52	3,40	1,70 a 6,78	2,87	1,49 a 5,55	3,45	1,70 a 6,99
Borda citoplasmática	1,51	0,73 a 3,16	1,84	0,84 a 4,05	1,62	0,76 a 3,45	2,00	0,89 a 4,49
Critério nuclear								
Binucleação	4,42	1,72 a 11,38	4,45	1,64 a 12,09	4,64	1,77 a 12,14	4,66	1,68 a 12,92
Multinucleação	2,61	1,28 a 5,33	4,00	1,77 a 9,03	2,57	1,25 a 5,28	3,99	1,75 a 9,07
Relação N/C	12,43	5,89 a 26,22	12,88	5,87 a 28,26	3,41	6,16 a 29,19	4,14	6,25 a 32,00
Anisocariose	10,39	5,01 a 21,58	10,69	4,95 a 23,05	1,17	5,23 a 23,86	11,55	5,22 a 25,55
Hipercromasia	7,98	3,93 a 16,19	9,28	4,34 a 19,82	8,45	4,07 a 17,75	10,00	4,57 a 21,87
Membrana nuclear irregular	6,16	3,09 a 12,30	6,36	3,07 a 13,19	6,72	3,29 a 13,74	6,87	3,25 a 14,45
Membrana nuclear delicada	0,19	0,09 a 0,38	0,20	0,10 a 0,42	0,19	0,10 a 0,40	0,21	0,10 a 1,43
Membrana nuclear espessa	8,04	3,75 a 17,25	7,52	3,42 a 16,53	7,87	3,64 a 16,99	7,48	3,37 a 16,56
Cromatina irregular	8,24	4,06 a 16,71	7,95	3,82 a 16,57	8,52	4,14 a 17,52	8,23	3,91 a 17,34
Núcleo	0,22	0,02 a 2,16	0,12	0,01 a 1,29	0,25	0,02 a 2,55	0,13	0,01 a 1,49
Volume nuclear das células metapáticas >1,5	9,91	4,72 a 20,84	9,50	4,40 a 20,53	10,38	4,85 a 22,24	10,12	4,49 a 22,28
Volume nuclear das células maduras >2,5-3,0	0,26	0,12 a 0,58	0,23	0,10 a 1,56	0,25	0,11 a 0,58	0,21	0,08 a 0,53
Volume nuclear das células maduras >3,0	1,87	0,99 a 3,53	2,12	1,07 a 4,20	1,88	0,99 a 3,59	2,17	1,18 a 4,34

A análise dos resultados dos critérios morfológicos individuais, avaliados como variável categórica ordenada, mostrou que o aumento moderado da relação núcleo-citoplasmática associou-se com o diagnóstico histológico de NIC 1. O aumento moderado e acentuado da relação núcleo-citoplasmática e a anisocariose moderada e acentuada associaram-se ao diagnóstico histológico de NIC 2 ou NIC 3. Destacando, o aumento acentuado da relação núcleo-citoplasmática e a anisocariose acentuada associaram-se fortemente com o diagnóstico de NIC 2 ou NIC 3, pois apresentaram, respectivamente, OR brutos de 127,5 e 55,73 (Tabela 10). Não foi possível calcular os *odds ratios* e respectivos intervalos de confiança para quantidade de células atípicas e hiperchromasia quando o diagnóstico histológico foi NIC 2 ou NIC 3, porque não houve nenhum caso na categoria de referência (zero cruz) (Tabelas 7 e 10).

Os critérios que apresentaram associação independente com o diagnóstico de NIC 2 ou NIC 3 foram: alterações em células metaplásicas maduras e aumento da relação núcleo-citoplasmática. A borda citoplasmática espessa foi o critério que apresentou associação independente com o diagnóstico de NIC 1 (Tabela 11).

TABELA 10

Associação dos critérios morfológicos individuais avaliados como variável categórica ordenada e o diagnóstico final

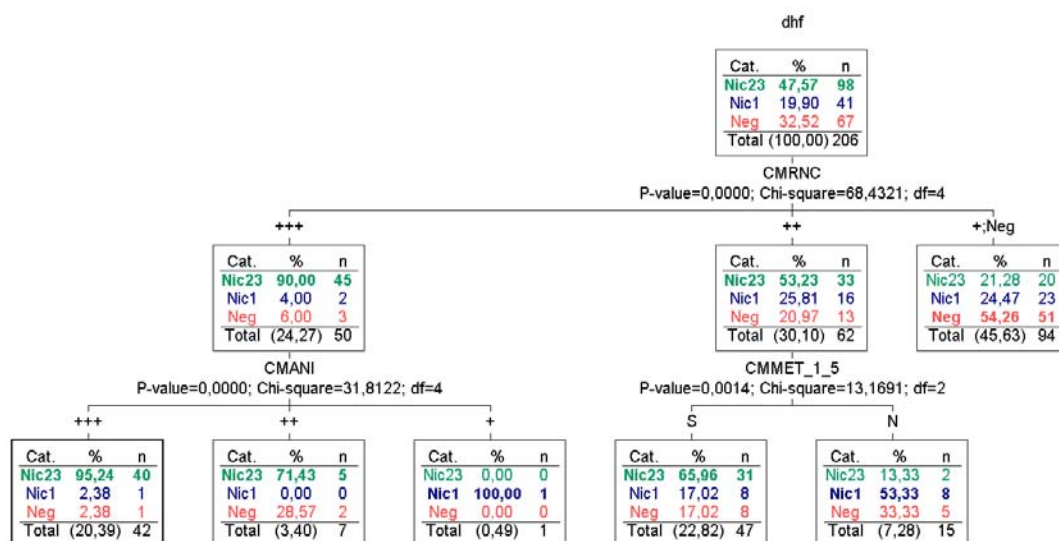
Critérios morfológicos	Diagnóstico histológico final			
	NIC 1		NIC 2/3	
	OR bruto	IC – 95%	OR bruto	IC – 95%
Quantidade de células atípicas				
0	1	-	-	-
+	0,77	0,20 a 3,02	-	-
++	2,57	0,69 a 9,58	-	-
+++	0,90	0,12 a 6,78	-	-
Espaço claro perinuclear				
0	1	-	1	-
+	1,47	0,63 a 3,39	1,63	0,84 a 3,15
++	3,72	0,77 a 17,94	2,90	0,71 a 11,79
Relação núcleo-citoplasmática				
0	1	-	1	-
+	1,80	0,57 a 5,68	4,50	0,93 a 21,69
++	4,18	1,21 a 14,42	21,58	4,36 a 106,83
+++	2,27	0,29 a 17,58	127,50	19,57 a 830,75
Anisocariose				
0	1	-	1	-
+	1,53	0,54 a 4,33	2,14	0,68 a 6,70
++	2,92	0,99 a 9,23	9,06	2,79 a 29,46
+++	1,81	0,25 a 13,21	55,73	12,08 a 257,17
Hipercromasia				
0	1	-	-	-
+	1,29	0,36 a 4,70	-	-
++	2,75	0,75 a 10,11	-	-
+++	1,38	0,10 a 19,64	-	-

TABELA 11

Critérios morfológicos associados com o diagnóstico histológico final de acordo com a regressão logística

Critérios morfológicos	Diagnóstico histológico final			
	NIC 1		NIC 2/3	
	OR	IC 95%	OR	IC 95%
Alteração em célula metaplásica madura	0,63	0,21 a 1,89	3,95	1,58 a 9,87
Borda citoplasmática espessada	3,07	1,18 a 8,01	1,14	0,44 a 2,98
Aumento da relação núcleo/citoplasmática	2,88	0,98 a 8,43	7,35	2,89 a 18,68

Utilizando a técnica de CHAID, a variável independente selecionada foi a relação núcleo-citoplasmática (N/C). Quando se observou aumento acentuado da relação N/C, o valor preditivo para diagnóstico final de NIC 2 ou NIC 3 foi de 90%. Quando se associou com o critério anisocariose acentuada, o valor preditivo para estas lesões aumentou para 95%. Quando se associou com anisocariose moderada o valor preditivo foi de 71%. Quando se observou aumento moderado da relação N/C, apresentou valor preditivo para o diagnóstico final de NIC 2 ou NIC 3 de 53%. Quando este critério estava associado com a presença de células metaplásicas que tinham volume nuclear maior que uma vez e meia o núcleo normal da célula intermediária, o valor preditivo para o diagnóstico final de NIC 2 ou NIC 3 foi de 66%. Por outro lado, quando essas células estavam ausentes, o valor preditivo para NIC 2 ou NIC 3 diminuiu para 13%, e os valores preditivos para os diagnósticos de NIC 1 e negativo para neoplasia foram, respectivamente, 53% e 33%. Entretanto, quando não se observou aumento da relação N/C ou este aumento foi discreto, a maioria dos diagnósticos finais foi negativo para neoplasia (Figura 12).



CMRNC - Critério morfológico: relação núcleo-citoplasmática

CMANI - Critério morfológico: anisocariose

CMMET - Critério morfológico: núcleo das células metaplásicas >1,5 vezes o núcleo normal das células intermediárias.

Figura 14. Valores preditivos dos critérios morfológicos obtidos pela técnica Chi-square Automatic Interactive Detection (CHAID)

5. Discussão

Neste estudo, o aumento da relação núcleo-citoplasmática e alterações em células metaplásicas maduras no esfregaço citológico de rastreamento para carcinoma do colo uterino foram os critérios morfológicos mais fortemente associados com o diagnóstico final de NIC 2 ou NIC 3 no exame histológico.

Isso ficou evidente na análise de regressão logística, onde o aumento da relação núcleo-citoplasmática foi o único critério morfológico, referente ao núcleo, que apresentou associação com o diagnóstico histológico. Na análise univariada este foi o critério morfológico com maior *odds ratio* (OR), sendo que nos casos em que o aumento foi considerado acentuado, o OR foi de 127,50. Assim, conforme mostrou a árvore de decisão realizada neste estudo, se fosse adotado somente o aumento acentuado da relação núcleo-citoplasmática como único critério para estabelecer o diagnóstico de HSIL no exame citológico de rastreamento, a confirmação histológica de NIC 2 ou NIC 3 seria de 45 em 50 casos, ou seja de 90%.

Sabe-se que em citologia a diminuição da relação núcleo-citoplasmática reflete a maturidade celular. Quanto mais imatura uma célula, maior será a relação núcleo-citoplasmática. Isso ocorre porque o núcleo se divide antes que o citoplasma esteja adequadamente constituído, deixando uma quantidade inadequada de citoplasma para as células-filhas (DEMAY, 1996).

MAEDA et al. (1997) realizaram estudo de morfometria utilizando um sistema de análise de imagem para determinar a relação núcleo-citoplasmática de NIC, através da medida das áreas do núcleo e do citoplasma da célula. O valor médio encontrado para esta relação na NIC 1-HPV com discariose foi de 0,122; na NIC 2 foi de 0,225 e na NIC 3 foi de 0,385, demonstrando diferenças significantes entre os três graus de NIC .

A importância de alterações em células metaplásicas também foi observada em outros estudos (WILBUR, 1997; MORIN et al., 2000; SHERMAN et al., 2001).

De especial atenção, a metaplasia escamosa e os processos de reparo traduzem na célula um discreto aumento na relação núcleo-citoplasmática. Esses processos estão envolvidos na dinâmica fisiológica das mucosas do colo uterino e assumem também importância sob as óticas clínica e biológica. Embora o resultado final desses processos costume ser um tecido normal, pode representar o ponto de partida para uma neoplasia (DEMAY, 1996). Sabe-se que, na maioria dos casos, as lesões precursoras do epitélio do colo uterino localizam-se na zona de transformação, onde o epitélio escamoso originou-se a partir do processo de metaplasia (BURGHARDT & ÖSTÖR, 1983).

Estudo conduzido por QUDDUS et al., 2001 sobre células metaplásicas atípicas no esfregaço citológico tentou identificar critérios diagnósticos que poderiam prever o resultado da biópsia. Os autores concluíram que 62% dos casos que apresentaram células escamosas atípicas estavam associados com NIC na biópsia, principalmente lesão de alto grau. Acrescentaram que é importante subcategorizar as células escamosas atípicas presentes no esfregaço, porém como a reprodutibilidade é baixa, sugeriram que os critérios morfológicos precisariam ser refinados.

Mulheres com diagnóstico de ASCUS em esfregaços com células metaplásicas atípicas também apresentam maior associação com NIC. Em estudo com acompanhamento, por até cinco anos, de mulheres com ASCUS, mostrou que dentre aquelas com diagnóstico final de NIC, 30,4%, 41,7% e 60,0% corresponderam a lesões de alto grau, quando as células atípicas eram, respectivamente, escamosas maduras, metaplásicas maduras e metaplásicas imaturas (SHEILS & WILBUR, 1997).

Os resultados falsos-negativos podem estar mais comumente associados a erro de escrutínio, sendo que as células atípicas do tipo metaplásico imaturo são as de mais difícil interpretação por serem células pequenas, de núcleo hipercromático, irregular e com elevada relação núcleo-citoplasmática. Como essas células podem se encontrar isoladas ou em pequenos grupos, elas podem ser interpretadas como histiócitos (HATEM & WILBUR., 1995). Sabe-se que a revisão de esfregaços citológicos negativos em mulheres que apresentam

NIC 2 ou NIC 3, freqüentemente revelam a presença de células metaplásicas imaturas atípicas (MONTES et al., 1999).

O diagnóstico de malignidade em citologia fundamenta-se, na prática, no achado de “atípias”, respondendo a um desvio da normalidade, não existindo um critério único que defina malignidade (KOSS, 1979a; 1979b).

Neste estudo, vários critérios também se associaram ao diagnóstico de NIC 2 ou NIC 3: presença de moderada ou acentuada quantidade de células atípicas, aumento do volume nuclear das células metaplásicas maduras, hipercromasia, anisocariose, cromatina de distribuição irregular, membrana nuclear irregular e espessa, binucleação, multinucleação e disceratose.

Classicamente, o aumento da relação núcleo-citoplasmática, hipercromasia e anisocariose são reconhecidos como fatores diagnósticos de malignidade em citologia. A hipercromasia reflete, de uma maneira geral, a intensidade da afinidade tintorial basofílica do núcleo, sendo proporcional à quantidade de DNA presente no núcleo (DEMAY, 1996). A anisocariose está na dependência de eventos biológicos do ciclo celular, traduzindo anormalidades do DNA que resultam de formação anormal de proteína. A consequência final é o aumento do volume nuclear (KOSS, 1979a; 1979b). Portanto, a rigor, estes critérios são interdependentes.

MORIN et al. (2000) seguiram 360 mulheres com ASCUS e observaram que anisocariose, hipercromasia e aumento do volume nuclear das células metaplásicas presentes no exame citológico foram critérios associados ao diagnóstico histológico de NIC 2 ou NIC 3.

Um aspecto a se destacar é a maneira de quantificar as células atípicas. Essa questão ainda é objeto de debate entre pesquisadores da citologia. Há dificuldades em se encontrar parâmetros que permitam uma graduação, uma vez que no escrutínio de rotina não é exeqüível contar as células atípicas e a citologia, por si só, é um exame com muitos componentes subjetivos (SHERMAN & KELLY, 1992; WILBUR, 1997; SHERMAN et al., 1999).

Um esfregaço com poucas células atípicas não representa necessariamente uma lesão atípica de menor gravidade ou pouco extensa. Deve-se considerar que a técnica de colheita pode interferir neste parâmetro. Em um esfregaço convencional a representação dos vários padrões celulares presentes no epitélio não é *randômica*, como ocorre quando se utiliza o meio líquido (SPRENGER et al., 1996; BISHOP et al., 1998).

Um estudo mostrou que os esfregaços citológicos com menos de 200 células discarióticas apresentaram maior chance de não serem identificados como positivos no exame citológico, em mulheres que apresentaram diagnóstico de NIC 3 no exame histológico. Quando existiam menos de 50 células discarióticas, esses esfregaços apresentaram chance 26 vezes maior de serem diagnosticados como negativos quando comparados com esfregaços com mais de 200 células discarióticas (O'SULLIVAN et al., 1998).

Outro estudo analisou retrospectivamente esfregaços de mulheres com NIC 2 ou NIC 3 na biópsia através de um método de análise semi-quantitativa para avaliar a celularidade. A lâmina foi dividida em 15 retângulos iguais, cada

retângulo medindo 10mm e o esfregaço foi *escaneado* sistematicamente em menor aumento. Para cada retângulo foi aferido um valor de zero a 1, se pelo menos 50% da sua área contivessem células epiteliais bem preservadas. O estudo encontrou 15,8% de resultados falsos-negativos, sendo 6,1% devidos a erro de interpretação e 9,7% devidos a erro de amostra (VALENTE et al., 1991).

De acordo com os resultados deste estudo, o aumento de uma vez e meia do volume nuclear de células metaplásicas, em relação ao volume nuclear normal das células intermediárias, está fortemente associado com o diagnóstico final de NIC 2 ou NIC 3. Por outro lado, o aumento entre duas vezes e meia a três vezes do volume nuclear das células escamosas maduras não está associado com o diagnóstico histológico de NIC 2 ou NIC 3 e o aumento maior de três vezes apresentaria apenas fraca associação. Portanto, o tipo de célula que apresenta aumento do volume nuclear tem importância na predição do diagnóstico histológico.

A membrana nuclear irregular e a membrana nuclear espessa foram critérios que se relacionaram a NIC 2 ou NIC 3. Como a análise desses critérios representa uma certa subjetividade em nível de microscopia ótica, restringiu-se em analisar células viáveis, para evitar a análise de células que poderiam ser apoptóticas ou de possuir imperfeições inerentes a artefatos de fixação. Há evidências de que quando há células no esfregaço que apresentam núcleo indentado, ranhuras ou irregularidade, as mulheres apresentam mais freqüentemente diagnóstico histológico de NIC 2 ou mais grave (SHERMAN et al., 2001).

De acordo com os resultados deste estudo, a borda citoplasmática espessa está associada com o diagnóstico histológico de NIC 1. Também estão

associados, ainda que não de maneira independente, o aumento da relação núcleo-citoplasmática e a quantidade de células atípicas.

A borda citoplasmática espessa é um dos critérios morfológicos para identificar o efeito citopático de infecção pelo HPV (SYRJÄNEN & SYRJÄNEN, 2000), que provavelmente também poderia ter expressões colposcópica e histológica.

Todavia, a magnitude da associação desses critérios com o diagnóstico de NIC 1, estimada através dos valores de *odds ratio*, foi menor do que a magnitude da associação de diversos critérios com o diagnóstico de NIC 2 ou NIC 3. Além disso, o número de critérios que apresentaram associação com o diagnóstico de NIC 2 ou NIC 3 foi maior. Na prática, esta característica justifica a melhor concordância observada entre os diagnósticos citológico e histológico para as lesões intra-epiteliais escamosas de alto grau (HUDOCK & HANAN, 1995; CLAVEL et al., 2001; MARTINS et al., 2001).

Não encontramos associação do espaço claro perinuclear com NIC 1. Em estudo que incluiu apenas casos com ASCUS, esta associação foi observada, porém a diferença de resultados pode ser atribuída à diferença nos critérios de inclusão (MORIN et al., 2000).

DEMAY, em seu livro *The Art & Science of Cytopathology* (1996), ao sugerir alguns critérios para o diagnóstico de displasia, destaca que uma célula é displásica em função dos aspectos nucleares. Segundo este autor, a displasia se inicia quando o volume nuclear é maior que $120\mu\text{m}^2$, ou seja, maior ou igual a três vezes e meia

o núcleo (normal) da célula intermediária. Quando o núcleo é duas a três vezes maior que o da célula intermediária, encontramos-nos diante de atipia nuclear. A célula que está determinada a ser displásica apresenta a relação núcleo-citoplasmática aumentada. Células binucleadas ou multinucleadas podem ser displásicas, mas não servem para avaliar o grau de displasia ou a relação núcleo-citoplasmática. Salienta, ainda, que as lesões são graduadas nos esfregaços, não pelo número de células anormais, mas pelo tipo predominante de células (DEMAY, 1996).

Em resumo, os critérios nucleares são fundamentais para definir a gravidade das lesões e, conseqüentemente, o diagnóstico de NIC 2 ou NIC 3. Um princípio geral do diagnóstico citológico aponta para o núcleo que reflete o “estado de saúde” da célula, enquanto que o citoplasma reflete a origem e a diferenciação funcional (DEMAY, 1996).

Utilizando estes critérios para revisar os exames neste estudo, observou-se que 39% dos ASC-H receberam diagnóstico final negativo, 27% receberam NIC 1 e 33% confirmaram o diagnóstico de NIC 2 ou NIC 3. Quanto aos diagnósticos de ASC-US, 62% receberam diagnóstico final negativo e 10% e 27%, respectivamente, receberam diagnósticos de NIC 1 e NIC 2 ou NIC 3. Portanto, o diagnóstico de ASC-H no exame citológico de rastreamento correspondeu a um percentual maior de NIC.

Um estudo do *National Cancer Institute* (SHERMAN et al., 2001) mostrou que seria possível identificar morfologicamente uma categoria de ASCUS, cujo diagnóstico diferencial se faria com HSIL (ASCUS-H). Esta representaria uma

entidade distinta que teria a LSIL (ASCUS-L) como diagnóstico diferencial e o próprio HSIL. Observou-se que podem haver dificuldades na identificação das células escamosas metaplásicas ou células de reserva com núcleo reativo, reparativo ou degenerativo, o que dificultaria estabelecer o diagnóstico de HSIL. A porcentagem de mulheres com diagnóstico de NIC 2 ou mais grave foi de 11,6% para ASCUS-L, 40,5% para ASC-H e 59,2 % para HSIL. Portanto, o diagnóstico de ASCUS-H teve uma interpretação incomum, com alto valor preditivo para NIC 2 ou mais grave (SHERMAN et al., 2001). Este estudo serviu de base para definir o diagnóstico de ASC-H e ASC-US na revisão do Sistema de Bethesda de 2001.

Esta revisão dos esfregaços citológicos a partir da identificação individual de critérios morfológicos resultou em melhora do valor preditivo positivo ao diagnóstico de HSIL, o que não ocorreu para LSIL. Portanto, esfregaços citológicos que se associam com o diagnóstico de NIC 1 são de mais difícil interpretação. Uma das conseqüências é que a reprodutibilidade e a concordância diagnóstica citologia-histologia também tendem a ser baixas para estes diagnósticos.

Em resumo, os resultados deste trabalho podem contribuir para aumentar a precisão diagnóstica do exame citológico, principalmente para as NIC 2 ou NIC 3, selecionando-se mais adequadamente as mulheres que precisam submeter-se imediatamente a uma abordagem diagnóstica complementar, dentre as que podem ser acompanhadas apenas com exame citológico, na expectativa de que as alterações regredam.

6. Conclusões

1. Os critérios morfológicos do esfregaço citológico que se associaram com o diagnóstico histológico final de NIC 1 foram:

- Moderada quantidade de células atípicas;
- Predomínio de alterações em células intermediárias;
- Borda citoplasmática espessada;
- Moderado aumento da relação núcleo-citoplasmática;

Destes critérios, o único que apresentou associação independente dos demais para o diagnóstico histológico de NIC 1 foi a borda citoplasmática espessada.

2. Os critérios morfológicos do esfregaço citológico que se associaram com o diagnóstico histológico final de NIC 2 ou NIC 3 foram:

- Moderada ou acentuada quantidade de células atípicas;
- Predomínio de alterações em células intermediárias e metaplásicas maduras;

- Aumento do volume nuclear das células metaplásicas;
- Aumento da relação núcleo-citoplasmática;
- Anisocariose;
- Hiperchromasia;
- Distribuição irregular da cromatina;
- Membrana nuclear irregular e espessa.

Destes critérios, as alterações em células metaplásicas maduras e o aumento da relação núcleo-citoplasmática apresentaram associação independente dos demais para os diagnósticos de NIC 2 ou 3.

- 3.** O desempenho do exame citológico, após a identificação individual de critérios morfológicos, melhorou para o diagnóstico de HSIL, avaliado através do aumento do valor preditivo positivo para NIC 2 ou NIC 3. O desempenho não se alterou para o diagnóstico de LSIL.

7. Referências Bibliográficas

- BARRES, D. & BERGERON, C. - Reproducibility of cytologic diagnosis: study of CRISAP Ile-de-France. **Gynecol. Obstet. Fertil.**, **28**:120-6, 2000.
- BISHOP, J.W.; BIGNER, S.H.; COLGAN, T.J.; HUSAIN, M.; HOWELL, L.P.; McINTOSH, K.M.; TAYLOR, D.A.; SADEGHI, M.H. - Multicenter masked evaluation of AutoCyte PREP thin layers with matched conventional smears. Including initial biopsy results. **Acta Cytol.**, **42**:189-97, 1998.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 196/96 sobre pesquisa envolvendo em seres humanos. Inf. Epidemiol. SUS, v.2. 1996.
- BURGHARDT, E. & OSTOR, A.G. - Site and origin of squamous cervical cancer: a histomorphologic study. **Obstet Gynecol.**, **62**:117-27, 1983.
- CLAVEL, C.; MASURE, M.; BORY, J-P.; PUTAUD, I.; MANGEONJEAN, C.; LORENZATO, M.; NAZEYROLLAS, P.; GABRIEL, R.; QUEREUX, C.; BIREMBAUT, P. - Human papillomavirus testing in primary screening for the detection of high-grade cervical lesions: a study of 7932 women. **Br. J. Cancer**, **89**:1616-23, 2001.

- DAVEY, D.D.; NARYSHKIN, S.; NIELSEN, L.M.; KLINE, S.T. - Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance: Interlaboratory Comparison and Quality Assurance Monitors. **Diagn. Cytopathol.**, **11**:390-6, 1994.
- DEMAY, R.M. - The Pap smear. In: DEMAY RM. **The art & science of cytopathology**. Chicago, IL: ASCP Press, 1996. p.39-205.
- DECLARAÇÃO DE HELSINKE III: Sobre os princípios éticos para pesquisas em seres humanos. (online) Edimburgo, Escócia, 2000 (citada em 7 de outubro de 2001). Avaliável na Internet:
<http://www.ibemol.com.br/declarações/helsinque>
- DURST, M.; GISSMANN, L.; ILKENBERG, H.; ZUR HAUSEN, H. – A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, **80**:3812-5, 1983.
- EVANS, D.M.; HUDSON, E.A.; BROWN, CL.; BODDINGTON, MM.; HUGHES, HE.; MACKENZIE, EFD.; MARHALL, T. - Terminology in gynaecological cytopathology: report of the Working Party of the British Society for Clinical Cytology. **J. Clin. Pathol.**, **39**:933-44, 1986.
- FERENCZY, A.; KOSS, L.; SHERMAN, M.; McGOOGAN, E.; HAKAMA, M.; MONSONEGO, J. – Cervical pap smears: advantages, limitations and optimization. In: MONSONEGO, J. E. & FRANCO, E. (eds). Eurogyn-Who International joint meeting. **Cervical cancer control, general statements and guidelines**, 1997. p.20-3.
- GAY, J.D.; DONALDSON, L.D.; GOELLNER, J.R. - False-negative results in cervical cytology studies. **Acta Cytol.**, **29**:1043-6, 1985.

- GISSMANN, L. - Human papillomavirus DNA in genital tumours. **IARC. Sci. Publ.**, **63**:405-11, 1984.
- GRENKO, R.T.; ABENDROTH, C.S.; FRAUENHOFFER, E.E; RUGGIERO, F.M.; ZAINO, R.J. – Variance in the interpretation of cervical biopsy specimens obtained for atypical squamous cells of undetermined significance. **Am. J. Clin. Pathol.**, **114**:735-40, 2000.
- HATEM, F. & WILBUR, D.C. - High grade squamous cervical lesion following negative Papanicolaou smears: false-negative cervical cytology or rapid progression. **Diagn. Cytopathol.**, **12**:135-41, 1995.
- HEATLEY, M.K. - The prognosis in cervical epithelial changes of uncertain significance is similar to that of cervical intraepithelial neoplasia grade 1. **J. Clin. Pathol**, **54**:474-5, 2001.
- HUDOCK, J. & HANAU, A.C. - Predictors of human papilloma virus in patients with keratinization. **Diagn. Cytopathol.**, **12**: 8-31, 1995.
- JUSKEVICIUS, R.; ZOU, H.K.; CIBAS, S.E. - An analysis of factors that influence the ASCUS/SIL ratio of pathologists. **Am. J. Clin. Pathol.**, **116**:331-5, 2001.
- KASS, G.V. - An exploratory technique for investigating large quantities for categorical data. **Appl. Statist.**, **29**:119-27, 1980.
- KINNEY, K.W.; MANOS, M.M.; HURLEY, B.L.; RANSLEY, E.J. – Where's the high-grade cervical neoplasia? The importance of minimally abnormal papanicolaou diagnosis. **Obstet. Ginecol.**, **91**:973-6, 1998.

- KOSS, L.G:- Some benign pathologic processes affecting cells. In: KOSS, L.G. - **Diagnostic cytology and its histopathology base**. 2^a ed, Edited by Lippincott, New York, 1979a. p.61-4.
- KOSS, L.G:- General pathology and cytology of neoplasms or tumors. In: KOSS, L.G. - **Diagnostic cytology and its histopathology base**. 2^a ed, Edited by Lippincott, New York, 1979b. p.65-98.
- KOSS, L.G. -The Papanicolaou test for cervical cancer detection. A triumph and a tragedy. **JAMA**, **261**:737-43, 1989.
- KURMAN, R. J. & SOLOMON, D. - **The Bethesda system for reporting cervical/vaginal cytologic diagnosis**. Springer-Verlag, New York, 1994. 81p.
- LIU, S.; SEMENCIW, R.; PROBERT, A.; MAO, Y. - Cervical cancer in Canada: changing patterns in incidence and mortality. **Int. J. Gynecol. Cancer**, **11**:24-31, 2001.
- MAEDA, S.Y.M.; DiLORETO, C.; SHIRATA, K.N.; SHIN, S.W.L.; CAVALIERI, J.M.; LONGATO, A.; ALVES, F.A.V. - Image analysis of nuclear/cytoplasmic ratio in cervical smears to discriminate three grades of cervical intraepithelial neoplasia. **Acta Cytol.**, **41**:744- 8, 1997.
- MARSHALL, L.M.; CASON, Z.; CARBANIS, D.E.; LEMOS, L.B.; BENGHUZZI, H.A. – Reative cell change in cervicovaginal smears. **Biomed. Sci. Instrum.**, **33**:298-304,1997.
- MARTINS, R.M.C.; ALVES, F.A.V.; SANTOS, M.T.R.; MARTINEZ, Z.E.; SYRJÄNEN, J.K.; DERCHAIN, M.F.S. - Value of morfological criteria in diagnosing cervical HPV lesions confirmed by in situ hybridization and Hybrid capture assay. **Pathol. Res. Pract.**, **197**:677-82, 2001.

- McKEE, T.G. – **Citopatologia**. Trad. Nilson de Martello. Artes médicas Ltda, São Paulo, 1997. p.52-63.
- MITHELL, H. & MEDDLEY, G. - Differences between Papanicolaou smears with correct and incorrect diagnosis. **Cytopatology**, **6**:368-75, 1995.
- MONTES, A.M.; CIBASS, E.; DINISCO A.S.; LEE, R. K. - Cytologic characteristics of abnormal cells in prior “normal” cervical/vaginal papanicolaou smears from women with a high grade squamous intraepithelial lesion. **Cancer Cytopathol.**, **87**: 56-9, 1999.
- MORIN, C.; BAIRATI, I.; BOUCHARD, C.; FORTIER, M.; ROY, M.; MOORE, L.; MEISELS A. - Cytologic predictors of cervical intraepithelial neoplasia in women on ASCUS pap smear. **Acta Cytol.**, **44**:576-86, 2000.
- NASSIEL, K.; NASSIEL, M.; VACLAVINKOVÁ, V. - Behavior of moderate cervical dysplasia during long-term follow-up. **Obstet. Gynecol.**, **61**:609-14, 1983.
- NASSIEL, K.; ROGER, V.; NASSIEL, M. - Behavior of mild cervical dysplasia during long-term follow-up. **Obstet Gynecol.**, **67**:665-9, 1986.
- NATIONAL Cancer Institute Workshop – The 1988 Bethesda system for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses. **Acta Cytol.**, **33**:567-75, 1989.
- NATIONAL CANCER INSTITUTE WORKSHOP. The Bethesda System 2001. (Citada em 13 de outubro de 2001). Disponível na internet <http://www.bethesda2001.cancer.gov/>.

- NYIRJESY, I.; BILLINGSLEY, S.F.; FORMAN, R.M. – Evaluation of atypical and low-grade cervical cytology in private practice. **Obst. Gynecol.**, **92**:601-7, 1998.
- OORTMARSSSEN, G. J. HABBEMA J.D.F. - Epidemiological evidence for age-dependent regression of pre-invasive cervical cancer. **Br. J. Cancer.**, **64**:559-65, 1991.
- ÖSTOR, A.G. - Natural history of cervical intraepithelial neoplasia. A critical review. In. **J. Gynecol. Pathol.**, **12**:186-92, 1993.
- O'SULLIVAN, J.P.; A'HERN, R.P.; CHARPMAN, P.A.; JENKINS, L.; SMITH, R.; al-NAFUSSI, A.; BREAT, M.T.; HERBERT, A.; McKEAN, M.E.; WADDELL, C.A. - A case-control study of true-positive versus false-negative cervical smears in women with cervical intraepithelial neoplasia (CIN) III. **Cytopatology**, **9**:155-61, 1998.
- PAPANICOLAOU, G.N. & TRAUT, H.F. - The diagnostic value of vaginal smears in carcinoma of the uterus. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, **42**:193-206, 1941.
- QUDDUS, R.M.; SUNG, J.C.; STEINHOFF, M.M.; LAUHLAN, C.S.; SINGER, B.D.; HUTCHINSON, L.M. - Atypical squamous metaplastic cells. **Cancer**, **93**: 16-22, 2001.
- REAGAN, J.W.; SIEDEMANN, I.L.; SARACUSA, Y. - Cellular morphology of carcinoma in situ and dysplasia or atypical hyperplasia of uterine cervix cancer. **Cancer**, **6**:224-7, 1953.
- RENSHAW, M.D.; GENEST, R.D.; CIBAS, S.E. - Should atypical squamous cells of undetermined significance (ASCUS) be subcategorized? **Anatomic Pathology**. (citada em 03 de novembro). Disponível na internet <<http://www.ajcp.com/volume 116/Issue 5/20116.html>

- RICHARD, R.M. - Natural history of cervical intraepithelial neoplasia. ***Clin. Obstet. Gynecol.***, **10**:748-84, 1967.
- SELVAGGI, M.S. & HAEFNER, K.H. - Reporting of Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance on Cervical Smears: Is it Significant? ***Diagn. Cytopathol.***, **13**:352-6, 1995.
- SCULLY, R.E.; BONFIGLIO, T.A.; KURMAN, R.J.; SILVERBERG, G.S.; WILKINSON, E.J.; IN COLLABORATION WITH PATHOLOGISTS IN 10 COUNTRIES - **Histological typing of female genital tract tumours . World Health Organization** – International histological classification of tumors, 2th Ed., Springer-Verlag, Berlin, 1994.
- SHEILS, L.A. & WILBUR, D.C. - Atypical squamous cells of undetermined significance: Stratification of the risk of association with, or progression to, squamous intraepithelial lesions based on morphologic subcategorization. ***Acta Cytol.***, **41**:1065-72, 1997.
- SHERMAN, M.E. & KELLY, D. - High-grade squamous intraepithelial lesions and invasive carcinoma following the report of three negative Papanicolaou smears: screening failures or rapid progression? ***Mod. Pathol.***, **5**:337-42, 1992.
- SHERMAN, M.E.; TABBARA, S.O.; SCOTT, D.R.; KURMAN, R.J.; GLASS, A.G.; MANOS, M.N.; BURK, B.B.; SCHIFFMAN, M. - ASCUS, rule out HSIL: cytologic features, histologic correlates, and human papillomavirus detection. ***Mod Pathol.***, **12**:335-42, 1999.
- SHERMAN, E.M.; SOLOMON, D.; SHIFFMAN, M. - A comparison of equivocal LSIL and equivocal HSIL cervical cytology in the ASCUS LSIL Triage study. ***Am. J. Clin. Pathol.***, **116**:386-94, 2001.

- SIGURDSSON, K. - Effect of organized screening on the risk of cervical cancer. Evaluation of screening activity in Iceland, 1964-1991. *Int. J. Cancer.*, **54**:563-70, 1993.
- SIGURDSSON, K. - Trends in cervical intraepithelial neoplasia in Iceland through 1995: evaluation of targeted age groups and screening intervals. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, **78**:486-92, 1999.
- SOLOMON, D.; SHIFFMAN, M.; TARONE, R. - Comparison of three management strategies for patients with atypical squamous cells of undetermined significance: baseline results from a randomized trial. *J. Natl. Cancer Inst.*, **93**:252-3, 2001.
- SPRENGER, E.; SCHWARSZMANN, P.; KIRKPATRICK, M.; FOX, W.; HEINZERLING, R.H.; GEYER, J.W.; KNESEL, E.A. - The false negative rate in cervical cytology. Comparison of monolayers to conventional smears. *Acta Cytol.*, **40**:81-9, 1996.
- STOLER, M.H. & SHIFFMAN, M. - Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations. Realistic estimates from the ASCUS-LSIL Triage Study. *JAMA.*, **285**:1500-5, 2001.
- SYRJÄNEN, K.J. - Spontaneous evolution of intraepithelial lesions according to grade and type of the implicated human papillomavirus (HPV). *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, **65**:45-53, 1996.
- SYRJÄNEN, K.J. - Terminology used in cytopathology. *CME J. Gynecol. Oncol.*, **5**:12-7, 2000.
- SYRJÄNEN, K.J. & SYRJÄNEN, S.M. – Diagnostic techniques in HPV detection. In: SYRJÄNEN, K.J. & SYRJÄNEN, S.M - **Papillomavirus infections in human pathology**. Wiley & Sons, New York, 2000. p.89-115.

- THE INTERNATIONAL Academy Of Cytology - The Bethesda System For Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnosis. **Acta Cytol.**,**37**:115-23, 1993.
- VALENTE, T.P.; SCHANTZ, H.D.; TRABAL, F.J. - The determination of Papanicolaou smear adequacy using a semiquantitative method to evaluate cellularity. **Diagn. Cytopathol.**, **7**:576-80, 1991.
- ZEFERINO, L.C.; BEDONE, A.J.; FAUNDES, A.; OVAKAWA, N. – Duração da neoplasia intra-epitelial e do carcinoma invasor do colo uterino: estudo epidemiológico. **RBGO.**, **20**:565-9, 1998.
- WILBUR, D.C. - False negative in focused rescreening of Papanicolaou smears: how frequently are 'abnormal' cells detected in retrospective review of smears preceding cancer or high-grade intraepithelial neoplasia? **Arch. Pathol. Lab. Med.**, **121**:273-6, 1997.
- WILLIAMS, M.L.; RIMM, D.L.; PEDIGO, M.A.; FRABLE, W.J. - Atypical squamous cells of undetermined significance. Correlative histologic and follow-up studies from academic medical center. **Diagn. Cytopathol.**, **16**:1-7, 1997.
- WRIGHT, T.C.; SUN, X.W.; KOULOS, J. – Comparison of management algorithms for evaluation of woman with low-grade cytologic abnormalities. **Obstet. Gynecol.**, **85**:202-10, 1995.

8. Bibliografia de Normatizações

FRANÇA, J.L.; BORGES, S.M.; VASCONCELLOS, A.C.; MAGALHÃES, M.H.A.
– **Manual para normatização de publicações técnico-científicas**. 4^a ed.,
Editora UFMG, Belo Horizonte, 1998. 213p.

HERANI, M.L.G. - Normas para apresentação de dissertações e teses.
BIREME, São Paulo, 1991. 45p.

Normas e procedimentos para publicação de dissertações e teses. Faculdade
de Ciências Médicas, UNICAMP. Ed. SAD – Deliberação CCPG-001/98.

9. Anexos

9.1. ANEXO 1 – Ficha para coleta de dados

FICHA PARA COLETA DE DADOS

Matrícula (HC) | _____ | Caso | _ | _ | _ |
 Idade (anos) | _ | _ | _ | Data nascimento ____ / ____ / ____ /

CITOLOGIA

Diagnóstico	Citol 1 No _____ Colh ____ / ____ / ____	Citol 2 No _____ Colh ____ / ____ / ____
0-Normal		
0-Inflamatório		
1-ASCUS		
2-NIC 1/HPV		
3-NIC 2		
4-NIC 3		
5-Ca <i>in situ</i>		
6-Ca esc.inv.		
7-AGUS		
8-AdenoCA		
9-Outros		

COLPOSCOPIA

Diagnóstico	Colpos 1 Data ____ / ____ / ____	Colpos 2 Data ____ / ____ / ____	Colpos 3 Data ____ / ____ / ____	Colpos ____ Data ____ / ____ / ____
0-Insatisfatória				
1-Satisfatória				
2-Normal				
3-Alter menores				
4-Alter maiores				
5-Susp. de Ca				

HISTOPATOLOGIA – Procedimento: 1-biópsia 2- Cone 3- CAF 4- Histerectomia

DIAGNÓSTICO	No _____ Procedim. () Data ____/____/____	No _____ Procedim. () Data ____/____/____	No _____ Procedim () Data ____/____/____	No _____ Procedim () Data ____/____/____
0. Normal				
1. Papiloma esca.				
2. Condiloma ac.				
3. Metaplasia es.				
4. Metapl.esc.lmat				
5. Metapl.tranciso				
6. CClc/leve AK				
7. CCE c/ atipia inf.				
8. NIC 1				
9. NIC 2				
10. NIC 3-dis.gve				
11. Ca <i>in situ</i>				
12. Ca escamoso				
13. Pólipo end.				
14. Hip.Micgl En.				
15. Hip.End.Atp.				
16. Adeno <i>in situ</i>				
17. AdenoCa				
18. Outros-espe.				

OBS.:

9.2. ANEXO 2 – Ficha para coleta de dados – Critérios morfológicos

Número da citologia: _____

Número do caso: _____

LAUDO DE CONSENSO - observadores 1 e 2

CRITÉRIOS MORFOL.	Graduação	Não consenso	Número
1. Trófico			
2. Atrófico			
3. Inflamação			
4. Qt. Cél.s.atípicas			
5. Parabasal			
6. Intermediária			
7. Superficial			
8. Metaplásica madura			
9. Metaplásica imatura			
10. Endocervical			
11. Esp. claro perinuclear(+)			
12. Disqueratose			
13. Espes. cit. Periférico			
14. Binucleação			
15. Multinucleação			
16. Aum.rel N/C(+)			
17. Anisocariose(+)			
18. Hiper Cromasia(+)			
19. Memb.nucl.lisa.			
20. Memb.nucl.irregular			
21. Memb.nucl.esp.del.			
22. Memb.nucl.esp.espes.			
23. Cromat.distr.irreg.			
24. Cromat.dist.regular			
25. Nucléolo			
26. Vol.n.céls.met.>1,5			
27. Vol.n.céls.mad.>2.5-3			
28. Vol.n.céls.mad.>3			
DIAGNÓSTICO			
DIAG. se 2 ou 3 CARACTERIZE			
DIAG CONSENSO			
TEMPO min.			

OBSERVAÇÕES.:

9.3. ANEXO 3 – Ficha para coleta de dados – Critérios morfológicos

Número da citologia: _____

Número do caso: _____

LAUDO DE CONSENSO - observador *Sênior*

CRITÉRIOS MORFOL.	Graduação	Não consenso	Número
29. Trófico			
30. Atrófico			
31. Inflamação			
32. Qt. Céls.atípicas			
33. Parabasal			
34. Intermediária			
35. Superficial			
36. Metaplásica madura			
37. Metaplásica imatura			
38. Endocervical			
39. Esp. claro perinuclear(+)			
40. Disqueratose			
41. Espes. cit. Periférico			
42. Binucleação			
43. Multinucleação			
44. Aum.rel N/C(+)			
45. Anisocariose(+)			
46. Hiper Cromasia(+)			
47. Memb.nucl.lisa.			
48. Memb.nucl.irregular			
49. Memb.nucl.esp.del.			
50. Memb.nucl.esp.espes.			
51. Cromat.distr.irreg.			
52. Cromat.dist.regular			
53. Nucléolo			
54. Vol.n.céls.met.>1,5			
55. Vol.n.céls.mad.>2.5-3			
56. Vol.n.céls.mad.>3			
DIAGNÓSTICO			
DIAG. se 2 ou 3 CARACTERIZE			
DIAG CONSENSO			
TEMPO min.			

OBSERVAÇÕES.:

9.4. ANEXO 4 – Ficha para coleta de dados histológicos

FICHA PARA COLETA DE DADOS – HISTOLOGIA - REVISÃO

CASO NÚMERO I _ I _ I _ I

HISTOPATOLOGIA – Procedimento: 1-biópsia 2- Cone 3- CAF 4- Histerectomia

DIAGNÓSTICO	No Procedim. () Data _ / _ / _
0. Normal	
1. Papiloma escamoso	
2. Condiloma acuminado	
3. Metaplasia escamosa	
4. Metaplasia escamosa imatura	
5. Metaplasia trancisonal	
6. Cervicite crônica inespecífica com leve atipia coilocitótica	
7. Cervicite crônica erosiva com atipia inflamatória	
8. NIC 1	
9. NIC 2	
10. NIC 3-dis.gve	
11. Ca <i>in situ</i>	
12. Ca escamoso	
13. Pólipo endocervical	
14. Hiperplasia microglandular Endocervical	
15. Hiperplasia endocervical atípica	
16. Adenocarcinoma <i>in situ</i>	
17. Adenocarcinoma	
18. Outros-espe.	

OBS.: