

ERICA BECKER DE SOUSA XAVIER

**ESTUDO COMPARATIVO DAS DIFERENTES CLASSIFICAÇÕES
HISTOLÓGICAS DO GRAU DE DIFERENCIAÇÃO NO
ADENOCARCINOMA DE ENDOMÉTRIO**

**BELO HORIZONTE / MINAS GERAIS
2010**

ERICA BECKER DE SOUSA XAVIER

**ESTUDO COMPARATIVO DAS DIFERENTES CLASSIFICAÇÕES
HISTOLÓGICAS DO GRAU DE DIFERENCIAÇÃO NO
ADENOCARCINOMA DE ENDOMÉTRIO**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Saúde da Mulher – área de concentração Patologia Mamária e Ginecológica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, para obtenção do Título de Mestre em Ginecologia.

Orientador: Prof. Dr. Agnaldo L. Silva Filho

Coorientadora: Profa. Dra. Paula Vieira Teixeira Vidigal

**Belo Horizonte / Minas Gerais
2010**

X3e Xavier, Érica Becker de Sousa.
Estudo comparativo das diferentes classificações histológicas do grau de diferenciação no adenocarcinoma de endométrio [manuscrito]. / Érica Becker de Sousa Xavier. -- Belo Horizonte: 2010. 80f.: il.
Orientador: Agnaldo Lopes da Silva Filho.
Co-orientadora: Paula Vieira Teixeira Vidigal.
Área de concentração: Patologia Mamária e Ginecológica .
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Neoplasias do Endométrio. 2. Adenocarcinoma. 3. Endométrio. 4. Dissertações Acadêmicas. I. Silva Filho, Agnaldo Lopes da. II. Vidigal, Paula Vieira Teixeira. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WP 458

Universidade Federal de Minas Gerais
Faculdade de Medicina
Curso de Pós-Graduação em Saúde da Mulher – Área de concentração
Patologia Mamária e Ginecológica

Dissertação intitulada “Estudo comparativo das diferentes classificações histológicas do grau de diferenciação no adenocarcinoma de endométrio”, de autoria da mestrandia Erica Becker de Sousa Xavier, aprovada pela banca examinadora constituída pelos seguintes professores:

Prof. Dr. Agnaldo L. Silva Filho – Orientador

Profa. Dra. Paula Vieira Teixeira Vidigal – Coorientadora

Profa. Dra. Juliana da Silva Barra

Profa. Dra. Márcia Cristina França Ferreira

Prof. Dr. Marcos Mendonça (suplente)

Belo Horizonte, de de 2010

Dedicatória

À minha mãe, incentivadora e amiga, pelo apoio e amor incondicional,
sem a qual seria impossível a realização de todos os meus sonhos.

Sempre presente, muito amada.

Ao meu pai, exemplo de persistência, fibra e luta.

Pessoa que, muito a seu modo, sempre apoiou e se orgulhou dos filhos.

Ao meu marido, Fabrício Emílio, pelo amor, paciência, carinho e
ajuda nos piores momentos, compartilhando comigo as tristezas, decepções,
conquistas e apreensões ao longo de todo o caminho.

Aos meus filhos, Artur e Júlia, motivos de minha
alegria e luta pela vida e conhecimento.

Aos meus irmãos, Caren e Daniel, amigos e companheiros de toda uma vida.

Agradecimentos

Aos meus amigos e colegas de plantão, Juliana, Francisco e Madalena, que me apoiaram durante os momentos de dificuldade e me ajudaram na execução do meu projeto. Pelo exemplo, disponibilidade, amizade e paciência o meu muito obrigado.

Ao Dr. Ricardo Silvestre e Silva Macareno pelo apoio, atenção, disponibilidade, paciência, e sem cuja ajuda seria impossível a realização desta dissertação.

À professora Paula Vieira Vidigal pela oportunidade, atenção e carinho com que fui recebida. Por sua ajuda fundamental neste projeto.

Ao professor Dr. Henrique Vitor Leite, exemplo de força e retidão, pelo incentivo, apoio e por ter acreditado em minha capacidade.

Ao aluno Carlos Eduardo, fundamental na minha análise das lâminas.

A todos os amigos, professores, médicos e funcionários do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina de Minas Gerais que auxiliaram na realização deste trabalho e cujos nomes deixo de citar, mas que ao lerem estas palavras incorporarão meus agradecimentos.

Minha enorme gratidão ao professor Dr. Agnaldo Lopes da Silva Filho, cuja orientação foi imprescindível para a elaboração desta dissertação. Exemplo de dedicação e comprometimento.

Obrigada pela confiança, paciência, disponibilidade e oportunidade de trabalhar sob sua orientação, possibilitando meu crescimento profissional.

A TODOS VOCÊS, meu sincero muito obrigada.

Este estudo recebeu apoio do CNPq e CAPES.

RESUMO

Introdução: O grau de diferenciação histológica é considerado um dos principais fatores prognósticos no adenocarcinoma de endométrio, sendo importante no planejamento cirúrgico e indicação de terapia adjuvante. Apesar de existirem critérios bem estabelecidos para a determinação desse achado histopatológico, a interpretação pode apresentar algum grau de subjetividade. O objetivo deste estudo é avaliar as diferentes classificações histológicas do grau de diferenciação tumoral em mulheres com adenocarcinoma de endométrio.

Métodos: Foram estudadas amostras de tumor de 70 mulheres com adenocarcinoma de endométrio submetidas a tratamento cirúrgico. As lâminas foram coradas pela Hematoxilina e Eosina e processadas para marcação imunohistoquímica para a proteína ki-67. Os tumores foram classificados em relação ao grau de diferenciação pelos critérios da FIGO; FIGO modificada; Lax e Alkushi. As lâminas foram avaliadas por dois patologistas e pelo mesmo patologista em duas ocasiões distintas. Utilizou-se o índice de correlação kappa (correlações intra e interobservador), o teste do qui-quadrado e t de Student conforme indicados. O $p < 0,05$ foi considerado significativo.

Resultados: O estadiamento tumoral (FIGO) foi IA em 42 (60%) pacientes, IB em 19 (27,1%), IIA em 3 (4,3%), IIB em 1(1,4%), IIIA em 4 (5,7%) e IIIC em 1 (1,4%). A concordância intraobservador foi razoável para a classificação de FIGO (k: 0,469 e 0,538); boa para a FIGO MODIFICADA (k: 0,661 e 0,768), razoável para a classificação de LAX (k: 0,496 e 0,466) e razoável/boa para a classificação de ALKUSHI (k: 0,528 e 0,736). Nas avaliações interobservador, a concordância foi fraca na classificação de FIGO (k= 0,271 e 0,343); boa/razoável para a classificação

de FIGO modificada ($k = 0,661$ e $0,522$, respectivamente); fraca/razoável para a classificação de Lax ($k = 0,258$ e $0,465$, respectivamente); fraca para a classificação de Alkushi ($k = 0,283$ e $0,402$). Não houve associação da classificação histológica de FIGO ($p = 0,663$), FIGO modificado ($p = 0,370$); Lax ($p = 0,402$) e Alkushi ($p = 0,101$) com o estadiamento tumoral. Houve associação das classificações histológicas de FIGO ($p = 0,039$), FIGO modificado ($p = 0,017$) e ALKUSHI ($p = 0,039$) com a expressão da proteína ki-67.

Conclusão: As classificações histológicas do grau de diferenciação tumoral no adenocarcinoma de endométrio apresentam diferentes graus de subjetividade. A classificação binária da FIGO modificada apresentou a melhor concordância intra e interobservador.

SUMMARY

Introduction: The histological grade is one of the main prognostic factors in the endometrial adenocarcinoma and it is also important to the surgical planning and to the recommendation of complementary therapy. Even though there are well established criteria for the determination of this histopathologic finding, the interpretation can present some subjectivity. The objective of this study is to assess the different histologic classifications of the tumoral grade in women suffering from endometrial adenocarcinoma.

Methods: 70 patients who were suffering from endometrial adenocarcinoma and who had had surgical treatment were studied. The slides of the tumor were classified according to the tumoral grade based on the criteria of FIGO, modified FIGO (binary system), Lax and ALKUSHI. The slides were assessed by two pathologists and by the same pathologist in two separate occasions.

The tissue was processed for immunohistochemical evaluation of Ki-67. Inter- and intraobserver agreement was assessed by kappa statistics. X2 tests were used to analyze 2 x 2 or 2 x 3 tables considering $p < 0,05$ significant.

Results: The tumoral grading (FIGO) was for IA in 42 (60%) patients, IB in 19 (27,1%), IIA in 3 (4,3%), IIB in 1(1,4%), IIIA in 4 (5,7%) e IIIC in 1 (1,4%). The intraobserver agreement was moderate according to the FIGO grading system (k: 0,469 e 0,538); substantial according to the modified FIGO grading system (k: 0,661 e 0,768), moderate according to the binary grading of LAX (k: 0,496 e 0,466) and moderate/substantial according to the grading system of ALKUSHI (k: 0,528 e 0,736). In the interobserver assessment, the agreement was fair according to the FIGO grading system (k= 0,271 e 0,343); substantial/moderate to the modified FIGO

grading system ($k = 0,661$ e $0,522$); fair/moderate according to the binary grading of Lax ($k = 0,258$ e $0,465$); fair according to the grading system of Alkushi ($k = 0,283$ e $0,402$). There was no association of the histologic FIGO grading system ($p = 0,663$), modified FIGO grading system ($p = 0,370$); binary grading of Lax ($p = 0,402$) and the grading system of Alkushi ($p = 0,101$) with the tumoral stage (FIGO). There was association of the histologic FIGO grading system ($p = 0,039$), modified FIGO ($p = 0,017$) and ALKUSHI ($p = 0,039$) with Ki-67 expression.

Conclusion: The histologic grading systems in the endometrial adenocarcinoma presented high subjectivity. The modified FIGO grading system presented a better intra- and interobserver agreement.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-------------------------------|--|
| CIPAX | Laboratório de Medicina Diagnóstica de São José dos Campos |
| COEP | Comitê de Ética e Pesquisa |
| DAB | 3,3' diaminobenzidina |
| DNA | Ácido desoxirribonucléico |
| DP | Desvio-padrão |
| EDTA | Ácido etilendiamino tetra-acético |
| FIGO | Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia |
| G0 | Fase do ciclo celular na qual a célula permanece indefinidamente na intérfase |
| G1 | Tumor bem diferenciado |
| G2 | Tumor moderadamente diferenciado |
| G3 | Tumor pouco diferenciado |
| HE | Hematoxilina e eosina |
| H ₂ O ₂ | Água oxigenada |
| IHQ | Imuno-histoquímica |
| INCA | Instituto Nacional do Câncer |
| Ki-67 | Proteína não-histônica de meia-vida curta que as células em proliferação expressam nos núcleos |
| Min | Minuto |
| µm | Micrômetro |
| OMS | Organização Mundial de Saúde |
| SP | Estado de São Paulo |
| TRIS-HCL | Solução salina |
| UFMG | Universidade Federal de Minas Gerais |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 15 |
| 1.1. Adenocarcinoma de endométrio..... | 15 |
| 1.2. Fatores prognósticos no adenocarcinoma de endométrio..... | 16 |
| 1.2.1. Tipo histológico..... | 16 |
| 1.2.2. Grau de diferenciação..... | 17 |
| 1.2.3. Infiltração miometrial..... | 17 |
| 1.2.4. Metástase linfonodal..... | 18 |
| 1.2.5. Citologia peritoneal..... | 18 |
| 1.2.6. Invasão do espaço linfovascular..... | 18 |
| 1.3. Classificação histológica do grau de diferenciação tumoral..... | 19 |
| 1.3.1. Classificação da FIGO..... | 19 |
| 1.3.2. Classificação da FIGO modificada..... | 20 |
| 1.3.3 Classificação de LAX..... | 20 |
| 1.3.4. Classificação de ALKUSHI..... | 21 |
| 1.4. Proliferação celular..... | 21 |
| | |
| 2. OBJETIVOS..... | 23 |
| | |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS..... | 24 |
| 3.1. Material..... | 24 |
| 3.2. Metodologia..... | 26 |
| 3.2.1. Lâminas histológicas de encaminhamento..... | 26 |
| 3.2.2. Coleta de dados..... | 26 |
| 3.2.3. Análise pelos patologistas..... | 27 |
| 3.2.4. Classificação do grau de diferenciação: tumoral..... | 28 |
| 3.2.4.1 - Classificação de FIGO..... | 28 |
| 3.2.4.2.- Classificação de FIGO modificada..... | 32 |
| 3.2.4.3.- Classificação de LAX..... | 32 |
| 3.2.4.4.- Classificação de ALKUSHI..... | 33 |
| 3.2.5. Avaliação da expressão da proteína ki-67..... | 33 |

| | |
|---|----|
| 3.2.5.1. Técnica da Imunoistoquímica..... | 33 |
| 3.2.5.2. Interpretação das reações de imunoistoquímica..... | 36 |
| 3.3. Análise estatística..... | 41 |
| | |
| 4. RESULTADOS..... | 42 |
| 4.1. Características gerais da amostra..... | 42 |
| 4.2. Comparação intraobservador avaliando a classificação de FIGO..... | 43 |
| 4.3. Comparação intraobservador avaliando a classificação de FIGO modificada | 44 |
| 4.4. Comparação intraobservador avaliando a classificação de LAX..... | 45 |
| 4.5. Comparação intraobservador avaliando a classificação de ALKUSHI..... | 46 |
| 4.6. Comparação interobservador avaliando a classificação de FIGO..... | 47 |
| 4.7. Comparação interobservador avaliando a classificação de FIGO modificada | 48 |
| 4.8. Comparação interobservador avaliando a classificação de LAX..... | 49 |
| 4.9. Comparação interobservador avaliando a classificação de ALKUSHI..... | 50 |
| 4.10. Comparação entre as concordâncias intra e interobservador nas quatro classificações propostas..... | 51 |
| 4.11. Associação das diversas classificações histológicas do grau de diferenciação com o estadiamento do adenocarcinoma de endométrio..... | 53 |
| 4.12. Associação da classificação histológica com a proliferação celular (ki-67).. | 54 |
| | |
| 5. DISCUSSÃO..... | 56 |
| | |
| 6. CONCLUSÕES..... | 63 |
| | |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 64 |
| | |
| ANEXOS..... | 74 |
| I. Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa da UFMG (COEP)..... | 74 |
| II. Consentimento de pesquisa do CIPAX Medicina Diagnóstica de São José dos Campos..... | 75 |
| III. Estadiamento do carcinoma endometrial (FIGO, 2009)..... | 76 |
| IV. Termo de consentimento..... | 77 |
| V. Descrição cirúrgica da histerectomia radical..... | 80 |

1. INTRODUÇÃO

1.1 Adenocarcinoma de endométrio

O adenocarcinoma de endométrio ocupa a sétima posição na prevalência mundial das neoplasias femininas, com grande variação internacionalmente, sendo mais importante nos países desenvolvidos (DUARTE-FRANCO; IZADI-MOOD, 2010). Nos Estados Unidos da América, aproximadamente 34.000 novos casos são diagnosticados anualmente, resultando em 6.000 mortes. Cerca de 2 a 3% das mulheres desenvolverão neoplasia endometrial durante a vida (PARKER, 1996; ENGELSEN, 2009). Em Belo Horizonte, segundo dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA), o câncer do corpo uterino corresponde a 1,3% dos casos de neoplasias femininas registradas, com incidência progressiva a partir dos 55 anos de idade (INCA, 2003).

Existem dois tipos de neoplasias endometriais: a mais prevalente é relacionada com estados hiperestrogênicos e a segunda não está relacionada ao hiperestrogenismo, acometendo mulheres mais idosas. A primeira são tumores mais bem diferenciados e relaciona-se com melhor prognóstico e sobrevida (BOKHMAN, 1983; ENGELSEN, 2009; IZADI-MOOD, 2010).

Idade avançada, obesidade, nuliparidade, anovulação crônica, menopausa tardia, menarca precoce, uso do antiestrogênico tamoxifeno, *diabetes mellitus* e estrogênio terapia isolada são fatores de risco para neoplasia endometrial (PARAZZINI, 1991; IZADI-MOOD, 2010). A maioria das pacientes apresenta sintomatologia precoce, como sangramento ou corrimento vaginais, facilitando o diagnóstico (ENGELSEN, 2009).

O estadiamento do adenocarcinoma de endométrio é cirúrgico e o planejamento terapêutico depende de diversos fatores prognósticos (GOIS, 1993; SIDAWAY, 1992; ZAINO, 1994; YURA, 1996). Nas pacientes de grau histológico G1 e G2 e invasão até a metade do miométrio preconiza-se a histerectomia total com salpingooforectomia bilateral. Nas pacientes de grau histológico G3 preconiza-se o tratamento cirúrgico com histerectomia radical, incluindo remoção do paramétrio e terço superior da vagina, além de linfadenectomia pélvica bilateral (ZAINO, 2009). É controversa a prática da linfadenectomia de rotina nas pacientes que não se encontram no grupo de risco para acometimento linfonodal (KWON, 2009; PRISTAUZ, 2009). Aproximadamente 25% das pacientes tratadas para o adenocarcinoma de endométrio precoce evoluirão com recidiva tumoral (MORROW, 1991).

1.2. Fatores prognósticos no adenocarcinoma de endométrio

O estadiamento tumoral, o tipo histológico, o grau de diferenciação, a profundidade de invasão miometrial, a idade da paciente, a citologia peritoneal e a disseminação extrauterina da doença são fatores prognósticos (GOIS, 1993; SIDAWAY, 1992; ZAINO, 1994; YURA, 1996). Estes fatores são importantes para a definição terapêutica, incluindo a extensão da cirurgia primária e necessidade de tratamento adjuvante (WILSON, 1990).

1.2.1. Tipo histológico

O adenocarcinoma de endométrio é classificado histologicamente segundo a linha de diferenciação da célula neoplásica em proliferação: endometrióide

(corresponde a 85-95%), mucinoso, de células claras, seroso papilífero, epidermóide e indiferenciado (WILSON,1990). Os subtipos histológicos não-endometrióides possuem maior risco de recorrência e disseminação à distância (WILSON, 1990; DISAIA, 1985)

1.2.2. Grau de diferenciação

O grau de diferenciação tumoral está associado ao prognóstico. Apesar de existirem critérios bem estabelecidos para a determinação desse achado histopatológico, a interpretação pode ser subjetiva. O sistema de classificação histológica do grau de diferenciação mais amplamente utilizado para adenocarcinomas de endométrio é o sistema da Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia (FIGO), proposto em 1988 (DISAIA, 1985; AYHAN, 2003).

1.2.3. Infiltração miometrial

A profundidade da infiltração miometrial é um fator prognóstico associado à disseminação tumoral e prognóstico. Associa-se com o grau de diferenciação da lesão, presença de recidivas ou metástases linfonodais e com a sobrevida. A invasão miometrial é um indicador de um pior comportamento biológico (IZADI-MOOD, 2010). À medida que o tumor invade a metade externa do miométrio, o acometimento do sistema linfático é mais provável e, conseqüentemente, a disseminação do tumor. A sobrevida em 5 anos reduz de 80-90% para 60% com a

presença de invasão profunda do miométrio (LUTZ, 1978; KAKU, 1994; IZADI-MOOD, 2010).

1.2.4. Metástase linfonodal

O acometimento de linfonodos reduz a sobrevida, sendo o fator prognóstico mais importante nas pacientes com estadio inicial. O acometimento linfonodal aumenta em 6 vezes a probabilidade de recorrência. A sobrevida em 5 anos reduz de 90% para 54% com a presença de metástase linfonodal (LURAIN, 1991; MORROW, 1991; ZAINO, 2009; PRISTAUZ, 2009).

1.2.5. Citologia peritoneal

Existem controvérsias quanto a considerar a citologia um fator prognóstico significativo. Se a doença está limitada ao útero, citologia peritoneal positiva não seria um fator negativo no prognóstico. Os trabalhos apresentam resultados variados no que diz respeito à recorrência e citologia peritoneal positiva (EBINA, 1997; LURAIN, 1991; ZAINO, 2009). A taxa de sobrevida em 5 anos para mulheres com citologia peritoneal positiva sem comprometimento extrauterino é de 80-90% (ZAINO, 2009).

1.2.6. Invasão do espaço linfovascular

No estadio I, a invasão vascular linfática está associada à recidiva independente dos outros parâmetros avaliados. A sobrevida em 5 anos reduz em

torno de 20% com a presença de invasão vascular nos tumores endometrióides (ABELER, 1984; STEFASSON, 2004; YAMASAWA, 2001)

1.3. Classificação histológica do grau de diferenciação tumoral

Com o objetivo de melhorar o valor prognóstico da classificação histológica do grau de diferenciação do adenocarcinoma de endométrio vários autores têm proposto sistemas alternativos de classificação nos últimos anos, muitos de classificação binária (ZAINO, 2009). Todos os sistemas de classificação mostram reprodutibilidade de boa a moderada, não estando claro ainda se algum destes se sobressai ao atualmente usado quanto à reprodutibilidade, facilidade de execução e utilidade prognóstica (ZAINO, 2009; AYHAN, 2003).

1.3.1. Classificação da FIGO

O sistema FIGO de classificação do grau de diferenciação é o adotado para adenocarcinomas de endométrio de tipo histológico endometrióide, baseado primariamente na extensão de componentes sólidos não escamosos da neoplasia e, secundariamente na atipia nuclear (CREASMAN, 1989; ZAINO, 2009; ALKUSHI, 2005; AYHAN, 2003).

Há várias características deste sistema que o tornam complicado de caracterizar na prática diária do patologista. É difícil determinar se o padrão de crescimento sólido é devido a elementos escamosos, se o crescimento sólido não escamoso representa menos ou mais do que 5% da extensão da neoplasia e definir

o que constitui importante atipia nuclear é subjetivo (LAX, 2000; ALKUSHI, 2005; AYHAN, 2003).

A dimensão de tais dificuldades não é bem conhecida, pois existem poucos estudos sobre a reprodutibilidade interobservador do sistema FIGO de classificação do grau de diferenciação histológica para adenocarcinomas de endométrio, com reprodutibilidade descrita no máximo moderada (ZAINO, 2009; LAX, 2000; TAYLOR, 1999). Neste contexto, outros sistemas alternativos de graduação histológica de adenocarcinoma de endométrio têm sido propostos.

1.3.2. Classificação da FIGO modificada

Foi proposta a combinação dos graus 1 e 2 da FIGO para classificação do adenocarcinoma de endométrio (graus 1 e 2 *versus* grau 3), referindo elevada significância prognóstica com a vantagem adicional de ser reprodutível e familiar à maioria dos patologistas. O primeiro grupo deve ser considerado como de baixo grau e o segundo grupo como de alto grau (ALKUSHI, 2005; SCHOLTEN, 2004; TAYLOR, 1999).

1.3.3 Classificação de LAX

Foi proposto um sistema de graduação que estratifica os adenocarcinomas endometrióides de endométrio em dois graus: baixo e alto. Esta estratificação binária é baseada na presença de padrão de crescimento sólido (escamoso ou não) em mais de 50 % da neoplasia, presença de necrose tumoral e padrão de crescimento miometrial infiltrativo (LAX, 2000; ALKUSHI, 2005).

Este sistema é mais fácil de realizar, pois não inclui avaliação nuclear e permite ao patologista classificar a neoplasia no pequeno aumento microscópico (40 X) (LAX, 2000; ALKUSHI, 2005). A limitação do uso deste sistema é a sua inaplicabilidade a espécimes obtidos de curetagem uterina e biópsia. Uma vez que neste tipo de material não é possível avaliar o padrão de mioinvasão da neoplasia, se infiltrativo ou compressivo (ALKUSHI, 2005).

1.3.4. Classificação de ALKUSHI

Proposta uma classificação do grau de diferenciação tumoral que avaliará três parâmetros: o padrão de crescimento sólido ou papilífero, índice mitótico, atipia nuclear (ALKUSHI, 2005).

Trata-se de um sistema trabalhoso, com reprodutibilidade e valor prognóstico controversos na literatura, no qual a contagem de mitoses é realizada em cinco séries de 10 campos de grande aumento. A contagem mais elevada obtida nestas cinco séries é então documentada (ZAINO, 1994; HACHISUGA, 1997; MITTAL, 1988; NIELSEN, 1991).

1.4. Proliferação celular

O processo de carcinogênese implica, entre outros fatores, a aquisição de alelos mutantes de genes supressores de tumor, aumento na proliferação celular e necessidade de angiogênese para o crescimento tumoral (HAHN, 2002). Em decorrência dessas alterações, funções celulares que, normalmente, estariam sob controle, passam a ser exercidas de maneira desordenada, resultando na expressão

exagerada de algumas proteínas responsáveis pela proliferação celular (HANAHAN, 2000; STEWART, 2003; HAHN, 2002). As células em proliferação expressam em seus núcleos uma proteína não-histônica de meia-vida curta, chamada Ki-67. Essa proteína está presente em todos os estágios do ciclo celular, exceto na fase G0, e é utilizada como marcador de proliferação celular (DABBS, 2002).

O grau de diferenciação tumoral no adenocarcinoma de endométrio é um importante fator prognóstico utilizado para definição terapêutica. Apesar de existirem critérios bem estabelecidos para a determinação desse achado histopatológico, a interpretação pode apresentar algum grau de subjetividade. Dessa forma, a avaliação da confiabilidade na determinação do grau de diferenciação pode auxiliar na tomada de decisões no adenocarcinoma de endométrio.

2. OBJETIVOS

Objetivo Geral

- Avaliar diferentes classificações histológicas do grau de diferenciação no adenocarcinoma de endométrio.

Objetivos Específicos

- Avaliar a concordância intra e interobservador do grau de diferenciação tumoral nas diferentes classificações histológicas em mulheres com adenocarcinoma de endométrio.

- Avaliar a associação do grau de diferenciação tumoral nas diferentes classificações histológicas com o estadiamento tumoral e proliferação celular em mulheres com adenocarcinoma de endométrio.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material

Foram estudadas amostras de tumor de 70 mulheres com adenocarcinoma de endométrio submetidas a tratamento cirúrgico (FIGURA 1). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (COEP) da Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG (Parecer n. ETIC 186/09 – Anexo I) e foi aprovado no CIPAX - Laboratório de Medicina Diagnóstica de São José dos Campos. As pacientes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido da paciente, de acordo com a Resolução n. 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. O estadiamento do adenocarcinoma de endométrio foi realizado de acordo com as recomendações da FIGO (Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia, 1988).

Foram incluídas as pacientes com confirmação histológica de adenocarcinoma tipo endometrióide de endométrio, submetidas à cirurgia sem radioterapia e/ou quimioterapia prévia e cujos blocos de parafina estavam em boas condições para confecção de lâminas com qualidade adequada para análise histológica.

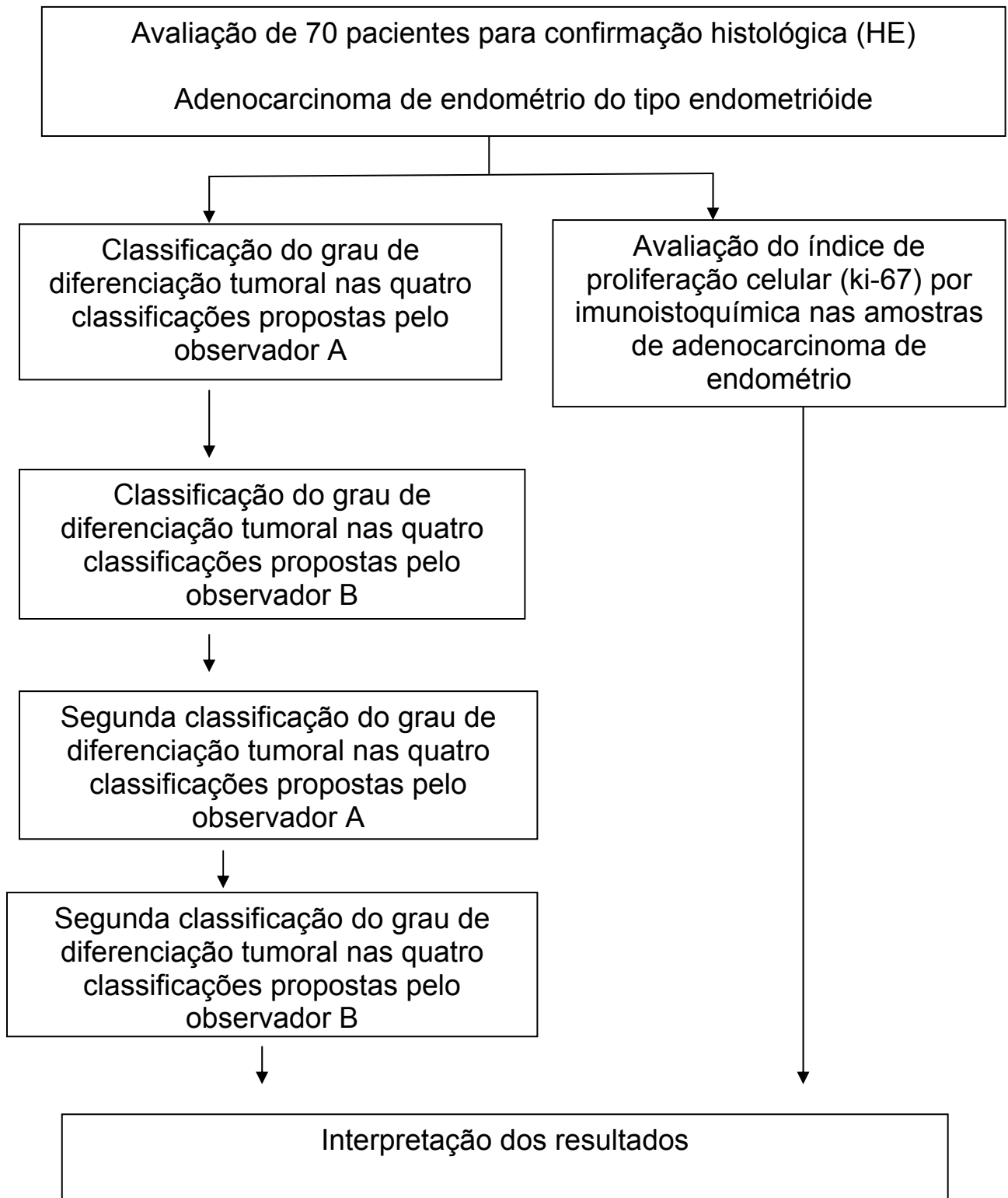


FIGURA 1 - Fluxograma esquemático do delineamento do estudo.

3.2. Metodologia

3.2.1. Lâminas histológicas de encaminhamento

Do material embocado em parafina, foram obtidos cortes histológicos por meio de micrótomo manual com espessura de 4 micrômetros (μm), que foram depositados em banho-maria a 37°C e posteriormente distendidos em lâminas para coloração com HE. A rotina para a coloração do material pela HE obedeceu à desparafinização e hidratação dos cortes, imersão em hematoxilina de Harris por 2 minutos e contracoloração em eosina. Foram obtidos cortes histológicos dos mesmos blocos de parafina para posterior imunoistoquímica.

3.2.2. Coleta de dados

Os dois patologistas envolvidos no estudo têm formação em Anatomia Patológica e atuam em diferentes centros de referência em oncologia ginecológica. Esses profissionais foram previamente treinados para a avaliação do grau de diferenciação histológica nas quatro classificações utilizadas no estudo, tiveram acesso às mesmas referências da literatura para padronização das classificações e houve oportunidade de contato entre eles para esclarecimento de eventuais dúvidas.

Foram analisadas as lâminas histológicas coradas pela técnica de hematoxilina e eosina (HE), procedendo-se à confirmação da histologia. Nenhuma lâmina foi considerada inadequada para análise. Com o objetivo de se evitar o cansaço visual e minimizar a tendência natural de se dedicar maior atenção às primeiras lâminas, prejudicando a interpretação das últimas, as análises foram feitas

em três tempos. Sendo cada tempo de no máximo 25 lâminas, com ordem de observação aleatória.

As lâminas foram codificadas por meio de numeração sequencial. Os patologistas não tinham conhecimento dos laudos dos exames, bem como de informações clínicas da paciente. Todos os dados clínicos e anatomopatológicos foram registrados em uma ficha numerada, especialmente elaborada para este estudo.

Cada observador reavaliou todas as lâminas após um período mínimo de dois meses a partir de sua última análise. Nenhum observador teve conhecimento dos valores anotados pelo outro em qualquer etapa, ou de seus próprios valores no momento da segunda etapa.

3.2.3. Análise pelos patologistas

As lâminas coradas por HE foram entregues a cada um dos dois patologistas de cada vez, denominados de A e B. A leitura das lâminas foi realizada pelos dois examinadores, de maneira cega, em microscópio óptico. Cada patologista registrou, para cada lâmina, as quatro classificações histológicas do grau de diferenciação tumoral propostas.

Após a primeira avaliação de todas as lâminas, realizadas pelos patologistas, elas foram novamente entregues aos mesmos patologistas, a fim de que eles realizassem uma nova avaliação.

3.2.4. Classificação do grau de diferenciação: tumoral

3.2.4.1. Classificação de FIGO

- Adenocarcinoma bem diferenciado (G1): tumores que apresentem padrão de crescimento sólido não-escamoso correspondendo a área inferior a 5% da neoplasia. Por fim, as neoplasias que demonstrem predomínio de crescimento sólido (mais do que 50% da extensão neoplásica) são classificadas como grau 3. (Figura 2)
- Adenocarcinoma moderadamente diferenciado (G2): Tumores que apresentam padrão sólido não escamoso de crescimento superior a 5% e inferior a 50% da área tumoral são classificados como de grau 2 arquitetural. (Figura 3)
- Adenocarcinoma pouco diferenciado (G3): as neoplasias que demonstrem predomínio de crescimento sólido (mais do que 50% da extensão neoplásica) são classificadas como grau 3. (Figura 4)
- Tumores arquiteturalmente classificados em graus 1 ou 2 são elevados a graus 2 ou 3, respectivamente, se atipia nuclear intensa estiver presente.

A classificação histológica do grau de diferenciação de adenocarcinomas de endométrio, baseada nas alterações nucleares, é utilizada como critério secundário na classificação da FIGO (ZAINO, 1995).

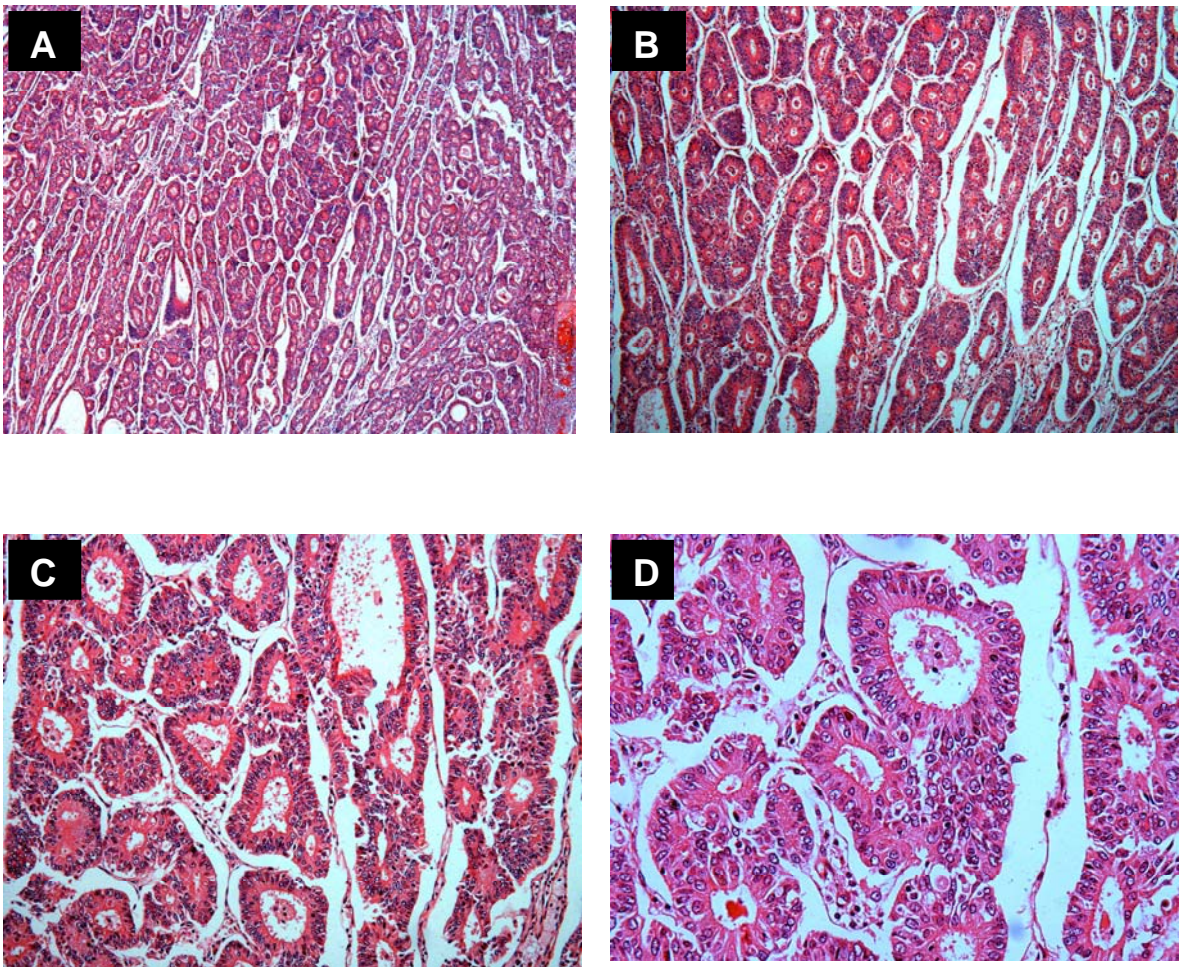


FIGURA 2 - Fotomicrografias de adenocarcinoma endometrióide bem diferenciado (G1) na classificação de FIGO corado por Hematoxilina e Eosina

Nota: Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia (FIGO).

A - aumento 40X; B – 100X; C- 200X; D – 400X

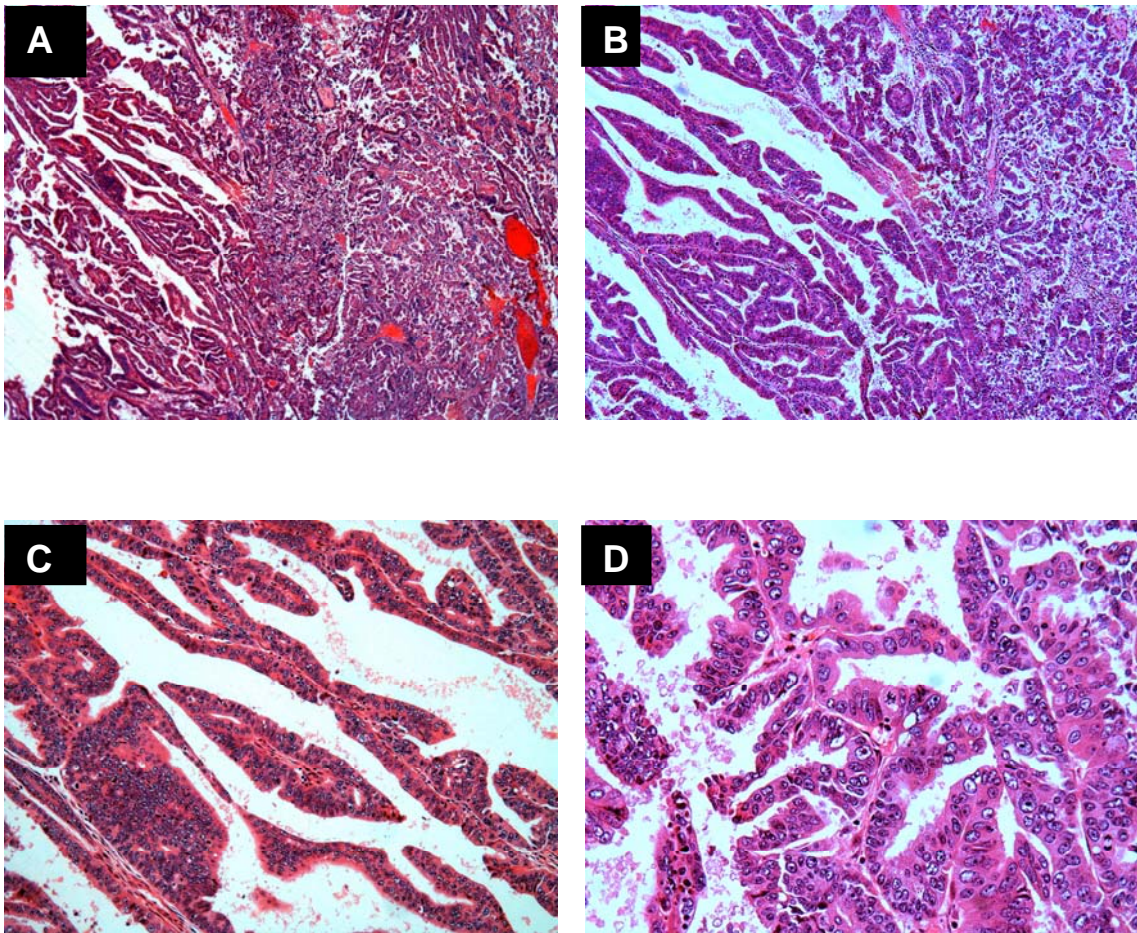


FIGURA 3 - Fotomicrografias de adenocarcinoma endometrióide moderadamente indiferenciado (G2) na classificação de FIGO corado por Hematoxilina e Eosina

Nota: Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia (FIGO).

A - aumento 40X; B – 100X; C- 200X; D – 400X

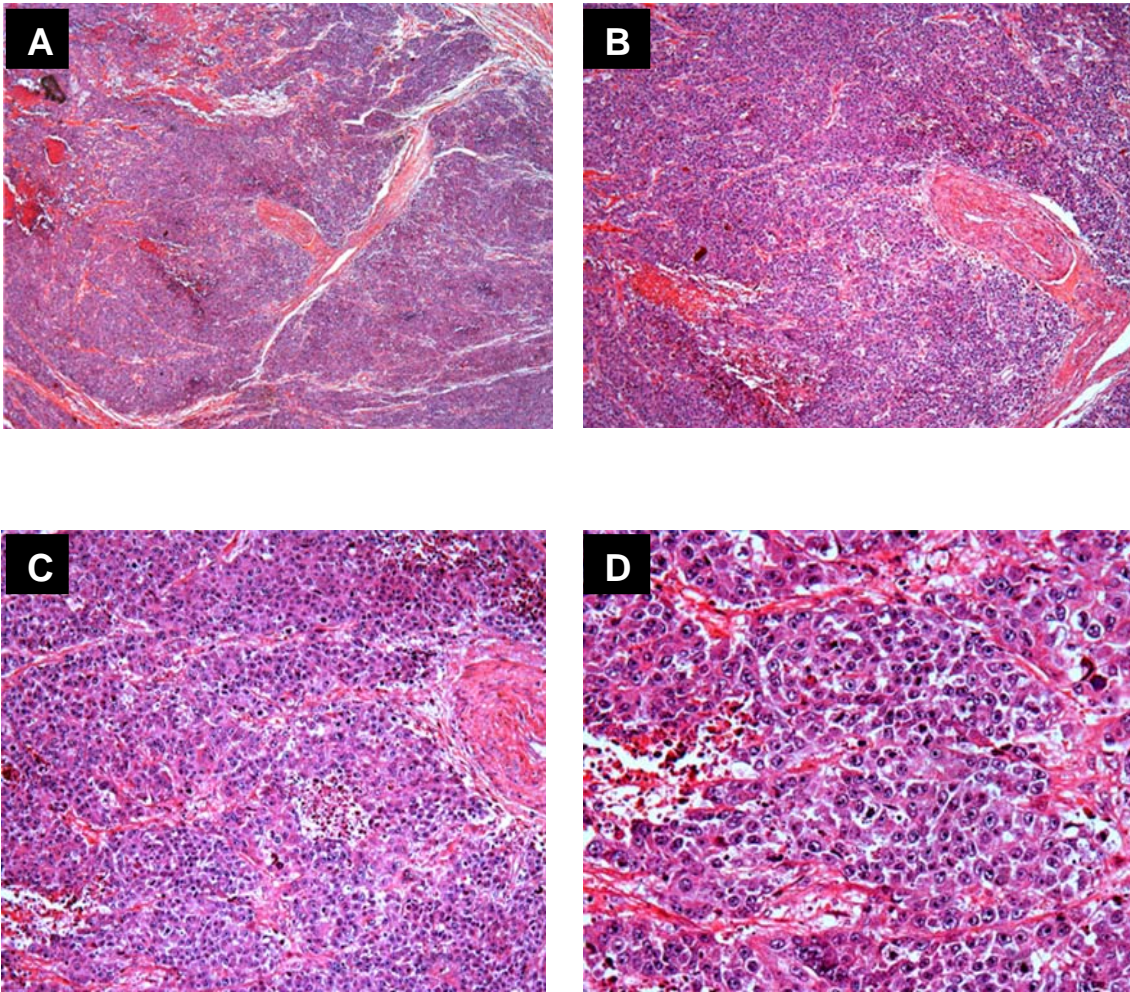


FIGURA 4 - Fotomicrografias de adenocarcinoma endometrióide pouco diferenciado (G3) pela classificação da FIGO corado por Hematoxilina e Eosina

Nota: Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia (FIGO).

A - aumento 40X; B – 100X; C - 200X; D – 400X

3.2.4.2. *Classificação de FIGO modificada*

- Adenocarcinoma de baixo grau: corresponde aos casos de adenocarcinoma de endométrio G1 ou G2 pela classificação da FIGO.
- Adenocarcinoma de alto grau: corresponde aos adenocarcinomas classificados como G3 pela classificação FIGO.

3.2.4.3. *Classificação de LAX*

- Adenocarcinomas de baixo grau: adenocarcinomas que apresentem no máximo um dos seguintes critérios:

1) presença de padrão de crescimento sólido (escamoso ou não) em mais de 50% da neoplasia;

2) presença de necrose tumoral;

3) padrão infiltrativo de crescimento miometrial. Se a neoplasia for restrita ao endométrio, o critério 3 não pode ser avaliado. Neste caso, a neoplasia é de baixo grau se apresentar no máximo um dos dois critérios restantes avaliáveis (1 e 2).

- Adenocarcinomas de alto grau: deve apresentar pelo menos dois destes três critérios histológicos. Se a neoplasia for restrita ao endométrio, o critério 3 não pode ser avaliado. Neste caso a neoplasia é de alto grau se apresentar os dois critérios restantes avaliáveis (1 e 2).

3.2.4.4. Classificação de ALKUSHI

- Adenocarcinomas de baixo grau: neoplasias que apresentam no máximo um dos seguintes critérios:

- 1) padrão de crescimento predominantemente sólido ou papilífero;
- 2) índice mitótico maior ou igual a 6 mitoses por 10 campos microscópicos de grande aumento;
- 3) atipia nuclear intensa.

- Adenocarcinomas de alto grau: neoplasias que apresentam pelo menos dois dos critérios acima.

3.2.5. Avaliação da expressão da proteína ki-67

O índice de proliferação celular (ki-67) foi avaliado em cortes histológicos pela técnica de imunistoquímica nas amostras de adenocarcinoma de endométrio (Figura 6). Foi empregado um anticorpo primário policlonal anticoelho contra antígeno nuclear presente em fase de proliferação (DAKO Corporation), na diluição 1:100.

3.2.5.1. Técnica da Imunoistoquímica

As reações de imunistoquímica foram realizadas por meio da técnica da streptavidina-biotina-peroxidase (Figura 6). Nesta técnica o tecido é incubado com

um anticorpo primário (mono ou policlonal) específico para a proteína em estudo. Em seguida, aplica-se um anticorpo secundário (que tem o anticorpo primário como alvo) previamente ligado a uma molécula de biotina. A streptavidina atua como amplificador de efeito, pois cada molécula de streptavidina que se acopla à biotina do anticorpo secundário liga-se simultaneamente a três outras moléculas de biotina conjugadas à peroxidase. A peroxidase atua sobre um corante especial e os sítios antigênicos ficam corados de forma estável, geralmente em tonalidade castanha.

(Figura 5)

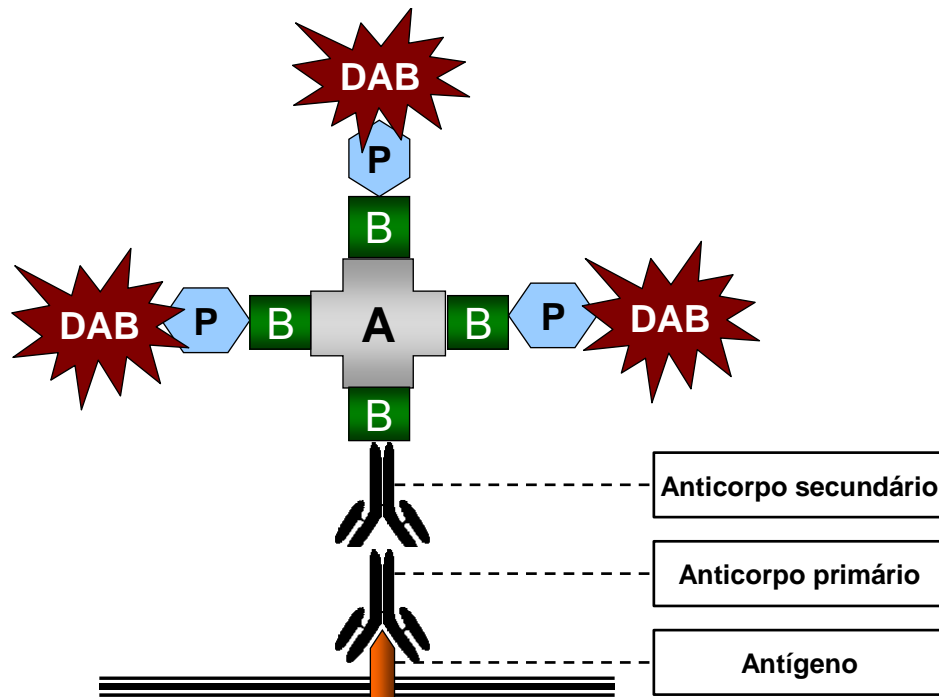


FIGURA 5 - Representação esquemática do princípio da imunohistoquímica pelo método da streptavidina-biotina-peroxidase. Observa-se o efeito amplificador da streptavidina (A) que se liga à biotina (B) do anticorpo secundário e a outras três moléculas de biotina. A peroxidase (P) reage com a 3,3'-diaminobenzidina (DAB) corando os sítios antigênicos.

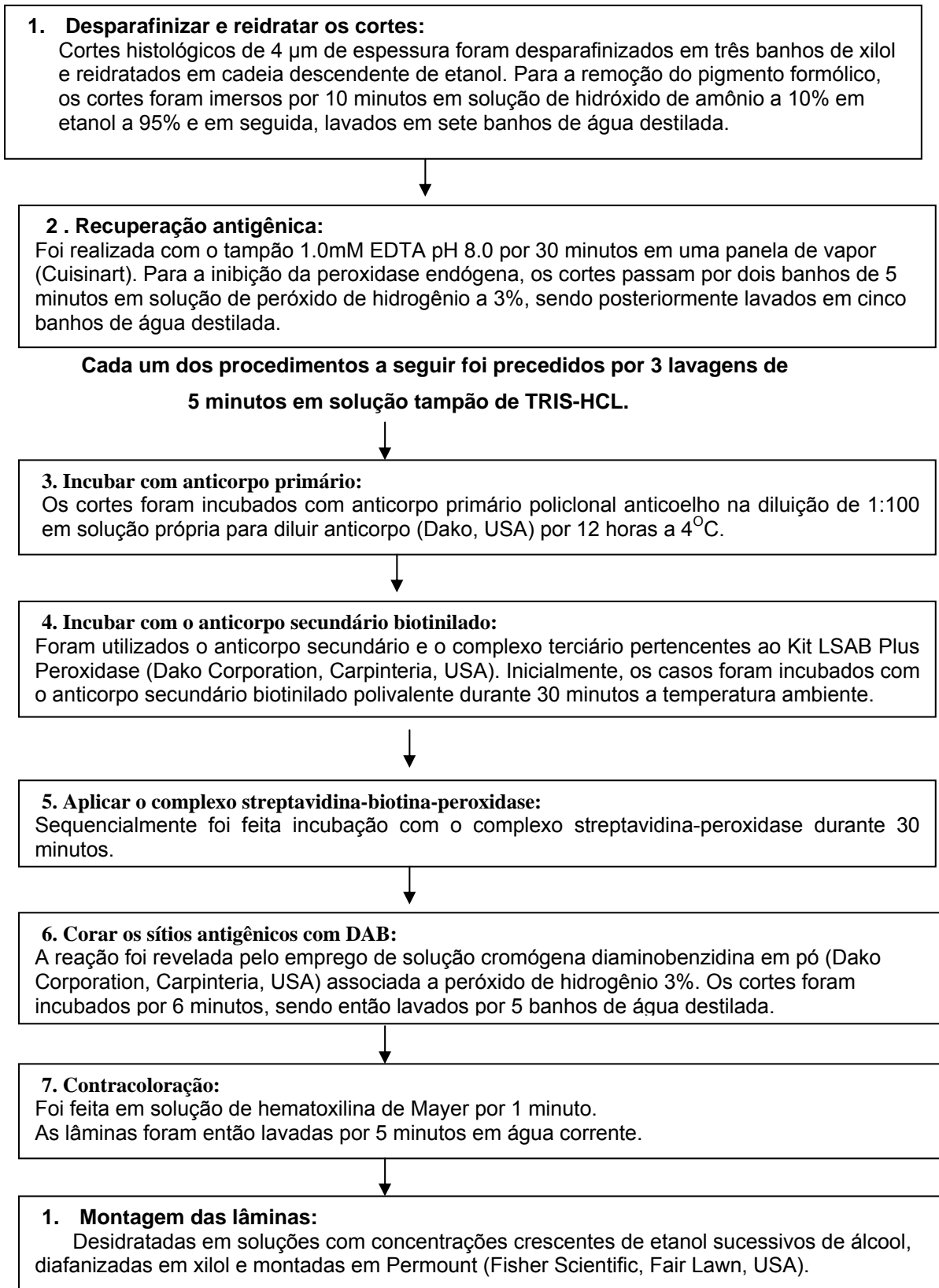


FIGURA 6 - Fluxograma do protocolo básico de imunohistoquímica pelo método da streptavidina-biotina-peroxidase para detecção da expressão da proteína Ki-67.

3.2.5.2. Interpretação das reações de imunohistoquímica

A análise da imunolocalização foi realizada utilizando-se um retículo de contagem para delimitação de campos em um microscópio de luz (Modelo KF2, Zeiss, GE), sob aumento de 400x.. Em cada campo, delimitado pelo retículo de contagem, foi mensurado o número total de células e o número de células positivas para a proteína ki-67. Foram consideradas positivas as células que apresentaram núcleo com coloração castanha, como resultado da precipitação do cromógeno diaminobenzidina, independentemente da intensidade da coloração. Em cada campo avaliado, foram quantificados o número total de células epiteliais e o número de células positivas. A partir dos dados obtidos pela avaliação de todos os campos, foi calculado o índice de marcação pela fórmula:

$$\text{Índice de marcação} = \frac{\text{soma do número de células positivas nos campos}}{\text{soma do número total de células nos campos}} \times 100$$

O índice de marcação indica, portanto, a percentagem de células positivas sobre o número total de células do campo avaliado.

As reações foram avaliadas por um único patologista, sem o conhecimento prévio da classificação do grau histológico, para aumentar a objetividade. As pacientes cujas lâminas tiveram imunohistoquímica inadequada para análise foram excluídas nesta etapa do estudo.

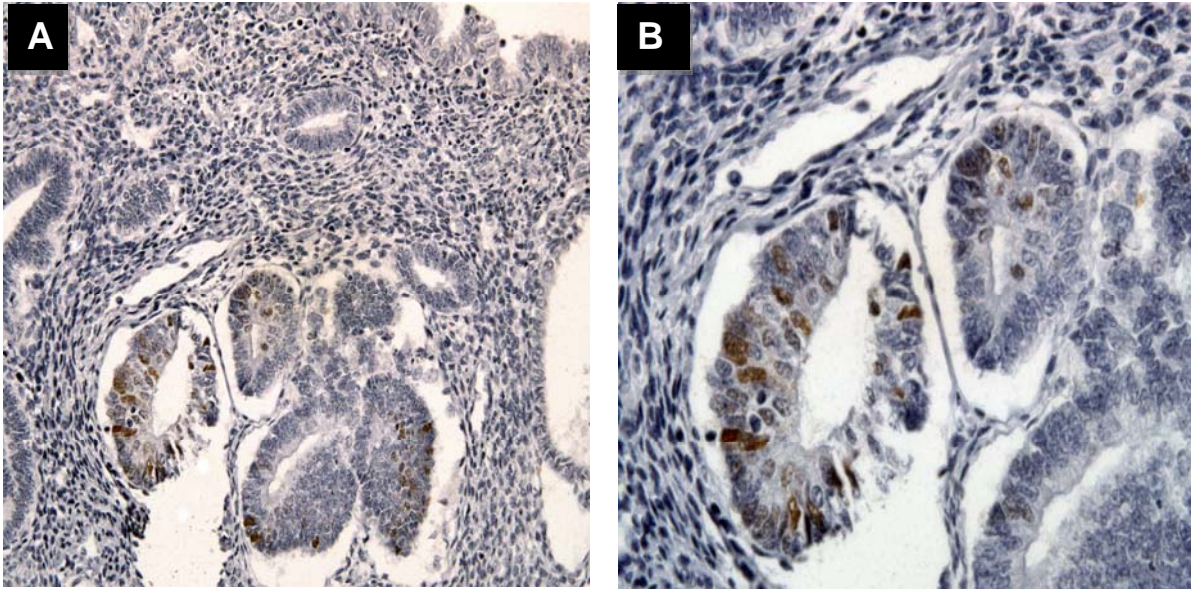


FIGURA 7 - Fotomicrografia de adenocarcinoma endometrial e expressão da proteína ki-67 em 10% dos núcleos (IHQ)

Nota: A - aumento de 200X; B – aumento de 400X

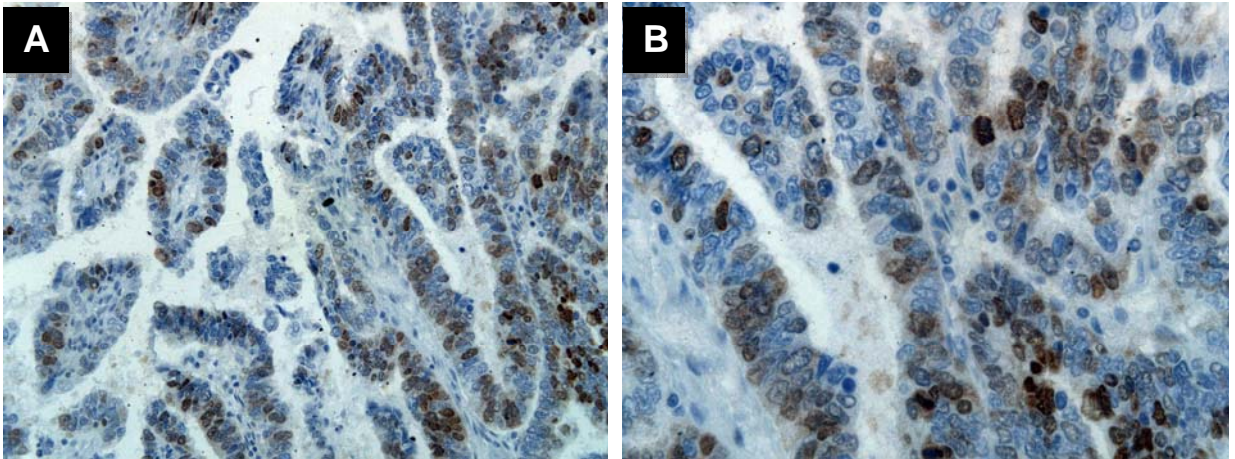


FIGURA 8 - Fotomicrografia de adenocarcinoma endometrial e expressão da proteína ki-67 em 50% dos núcleos (IHQ)

Nota: A - aumento de 200X; B – aumento de 400X

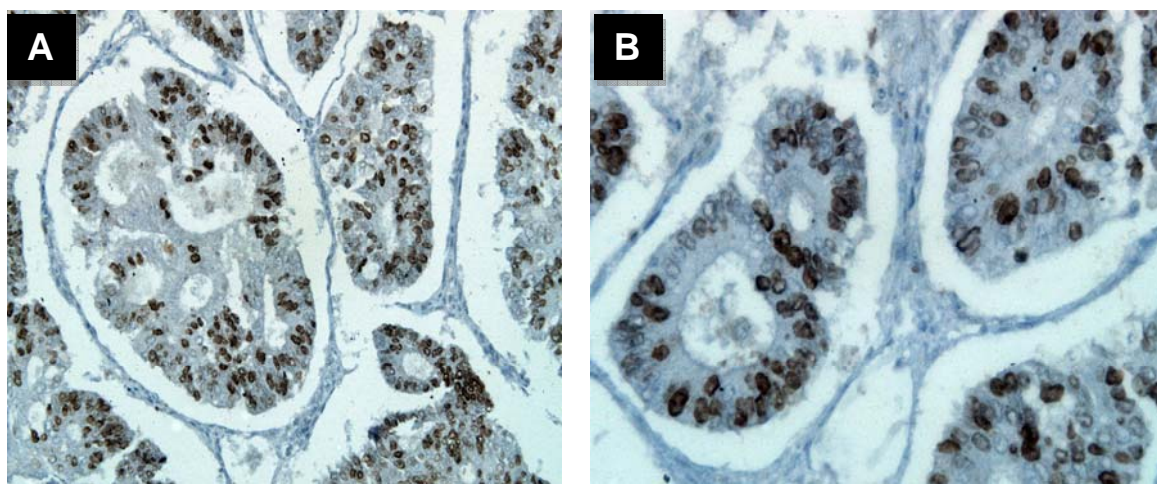


FIGURA 9 - Fotomicrografia de adenocarcinoma endometrial e expressão da proteína ki-67 em 75% dos núcleos (IHQ)

Nota: A - aumento de 200X; B – aumento de 400X

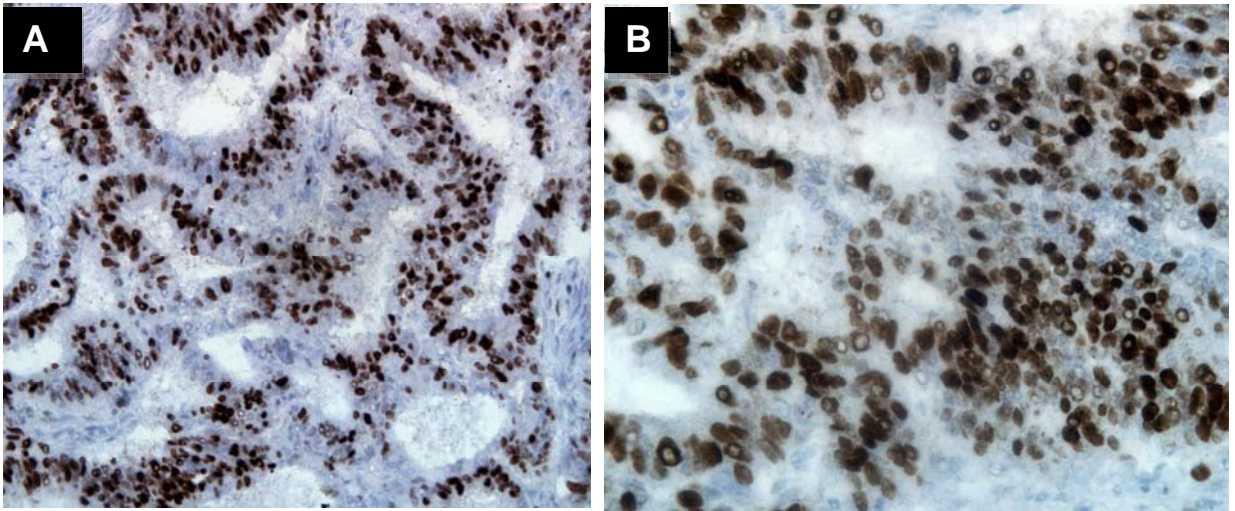


FIGURA 10 - Fotomicrografia de adenocarcinoma endometrial e expressão da proteína ki-67 em 90% dos núcleos (IHQ)

Nota: A - aumento de 200X; B – aumento de 400X

3.3. Análise estatística

Os dados recebidos foram digitados em banco de dados em Excel, sendo utilizado o programa SPSS para Windows versão 10.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA) para análise estatística.

Calculou-se o *kappa* para quantificar as variações intra e interobservador dos achados. O *kappa* é uma medida de concordância interobservador que avalia o grau de concordância além do que seria esperado tão-somente pelo acaso. Esta medida de concordância tem como valor máximo o 1, em que este valor representa total concordância e os valores próximos e até abaixo de 0 indicam nenhuma concordância, ou a concordância foi exatamente a esperada pelo acaso. Com o emprego deste teste, cinco possibilidades de acordo entre diferentes leituras poderiam ser obtidas: excelente (0,81-1,00), muito bom (0,61-0,80), moderado (0,41-0,60), regular (0,21-0,40) e fraco (0,01-0,20) (LAX, 2000; KAPUCUOGLU, 2008; SAGAE, 2004).

Os resultados obtidos na primeira avaliação feita por um patologista foram comparados com os obtidos na segunda análise pelo mesmo profissional, para que fosse observado o grau de concordância (concordância intraobservador). Compararam-se os laudos das análises dos patologistas A e B (concordância interobservador).

As diferenças entre os grupos foram feitas pelo teste do Qui-quadrado (estadiamento); *t de Student* ou ANOVA (proliferação celular), conforme indicados. O valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

4. RESULTADOS

4.1. Características gerais da amostra

A idade das pacientes variou de 30 a 86 anos (média de 62,92 anos; erro padrão da média 1,64). O estadiamento clínico-cirúrgico (FIGO) foi IA em 42 (60%) pacientes, IB em 19 (27,1%), IIA em 3 (4,3%), IIB em 1 (1,4%), IIIA em 4 (5,7%) e IIIC em 1 (1,4%).

4.2. Comparação intraobservador avaliando a classificação de FIGO

Conforme mostra a Tabela 1 houve uma concordância moderada observada entre as duas avaliações realizadas pelo observador A e pelo observador B, com um índice de *kappa* de 0,469 e de 0,538.

TABELA 1 - Achados obtidos na primeira e segunda avaliações do observador A e B (avaliação intraobservador) de acordo com o grau histológico na classificação da FIGO.

| | | FIGO | | |
|---------------------|--------|--------------|--------|--------|
| | | 2ª avaliação | | |
| | | Grau 1 | Grau 2 | Grau 3 |
| <i>Observador A</i> | | | | |
| 1ª avaliação | Grau 1 | 30 | 5 | 3 |
| | Grau 2 | 8 | 8 | 0 |
| | Grau 3 | 2 | 4 | 10 |
| <i>Observador B</i> | | | | |
| 2ª avaliação | Grau 1 | 14 | 11 | 0 |
| | Grau 2 | 4 | 21 | 5 |
| | Grau 3 | 1 | 0 | 14 |

Nota: a concordância foi avaliada pelo teste de Kappa

Observador A $k = 0,469$

Observador B $k = 0,538$

.....Média $k = 0,503$

4.3. Comparação intraobservador avaliando a classificação de FIGO modificada

Como ilustra a Tabela 2 houve uma concordância muito boa entre as duas avaliações realizadas pelo observador A e pelo observador B, com um índice de *kappa* de 0,661 e 0,768, respectivamente.

TABELA 2 - Achados obtidos na primeira e segunda avaliações do observador A e B (avaliação intraobservador) de acordo com o grau histológico na classificação da FIGO MODIFICADA.

| | | FIGO modificada | |
|---------------------|------------|-----------------|-----------|
| | | 2ª avaliação | |
| | | Baixo Grau | Alto Grau |
| <i>Observador A</i> | | | |
| 1ª avaliação | Baixo grau | 51 | 3 |
| | Alto Grau | 5 | 11 |
| <i>Observador B</i> | | | |
| 1ª avaliação | Baixo Grau | 50 | 1 |
| | Alto Grau | 5 | 14 |

Nota: a concordância foi avaliada pelo teste de Kappa

Observador A k = 0,661

Observador B k = 0,768

.....Média k = 0,714

4.4. Comparação intraobservador avaliando a classificação de LAX

Houve uma concordância moderada entre as duas avaliações realizadas pelo observador A e pelo observador B, com um índice de *kappa* de 0,496 e 0,466, respectivamente. (Tabela 3)

TABELA 3 - Achados obtidos na primeira e segunda avaliações do observador A e B (avaliação intraobservador) de acordo com o grau histológico na classificação da LAX.

| | | LAX | |
|---------------------|------------|--------------|-----------|
| | | 2ª avaliação | |
| | | Baixo Grau | Alto Grau |
| <i>Observador A</i> | | | |
| 1ª avaliação | Baixo grau | 49 | 3 |
| | Alto Grau | 9 | 9 |
| <i>Observador B</i> | | | |
| 1ª avaliação | Baixo Grau | 44 | 2 |
| | Alto Grau | 13 | 11 |

Nota: a concordância foi avaliada pelo teste de Kappa

Observador A k = 0,496

Observador B k = 0,466

.....Média k= 0,481

4.5. Comparação intraobservador avaliando a classificação de ALKUSHI

Houve uma concordância moderada entre as duas avaliações realizadas pelo observador A, com um índice de *kappa* de 0,528 e uma concordância muito boa entre as duas avaliações realizadas pelo observador B, com um índice de *kappa* de 0,736. (Tabela 4).

TABELA 4 - Achados obtidos na primeira e segunda avaliações do observador A e B (avaliação intraobservador) de acordo com o grau histológico na classificação da ALKUSHI.

| | | ALKUSHI | |
|---------------------|------------|--------------|-----------|
| | | 2ª avaliação | |
| | | Baixo Grau | Alto Grau |
| <i>Observador A</i> | | | |
| 1ª avaliação | Baixo grau | 42 | 10 |
| | Alto Grau | 4 | 14 |
| <i>Observador B</i> | | | |
| 1ª avaliação | Baixo Grau | 36 | 5 |
| | Alto Grau | 4 | 25 |

Nota: a concordância foi avaliada pelo teste de Kappa

Observador A k =0,528

Observador B k = 0,736

.....Média k= 0,632

4.6. Comparação interobservador avaliando a classificação de FIGO

Como ilustra a Tabela 5, houve uma concordância regular entre as duas primeiras e as duas segundas avaliações realizadas pelos observadores A e B, com um índice de *kappa* de 0,271 e 0,343, respectivamente.

TABELA 5 - Achados obtidos nas duas primeiras e nas duas segundas avaliações dos observadores A e B (avaliação interobservador) de acordo com o grau histológico na classificação da FIGO.

| | | FIGO | | |
|---------------------|--------|---------------------|--------|--------|
| | | <i>Observador B</i> | | |
| | | Grau 1 | Grau 2 | Grau 3 |
| 1ª avaliação | | | | |
| <i>Observador A</i> | Grau 1 | 14 | 21 | 3 |
| | Grau 2 | 5 | 8 | 3 |
| | Grau 3 | 0 | 3 | 13 |
| 2ª avaliação | | | | |
| <i>Observador A</i> | Grau 1 | 21 | 15 | 5 |
| | Grau 2 | 3 | 11 | 3 |
| | Grau 3 | 1 | 4 | 8 |

Nota: a concordância foi avaliada pelo teste de Kappa

1ª avaliação $k = 0,271$

2ª avaliação $k = 0,343$

.....Média $k = 0,307$

4.7. Comparação interobservador avaliando a classificação de FIGO modificada

Houve uma concordância muito boa observada entre as duas primeiras avaliações realizadas pelos observadores A e B, com um índice de *kappa* de 0,661. Houve uma concordância moderada observada entre as duas segundas avaliações realizadas pelos observadores A e B, com um índice de *kappa* de 0,522. (Tabela 6)

TABELA 6 - Achados obtidos nas duas primeiras e nas duas segundas avaliações dos observadores A e B (avaliação interobservador) de acordo com o grau histológico na classificação da FIGO MODIFICADA.

| | | FIGO MODIFICADA | |
|---------------------|------------|---------------------|-----------|
| | | <i>Observador B</i> | |
| | | Baixo Grau | Alto Grau |
| 1ª avaliação | | | |
| <i>Observador A</i> | Baixo grau | 48 | 6 |
| | Alto Grau | 3 | 13 |
| 2ª avaliação | | | |
| <i>Observador A</i> | Baixo Grau | 50 | 6 |
| | Alto Grau | 5 | 9 |

Nota: a concordância foi avaliada pelo teste de Kappa

1ª avaliação $k = 0,661$

2ª avaliação $k = 0,522$

.....Média $k = 0,591$

4.8. Comparação interobservador avaliando a classificação de LAX

Como mostra a Tabela 7 houve uma concordância regular (*kappa* de 0,258) entre as duas primeiras avaliações realizadas pelos observadores A e B e uma concordância moderada (*kappa* de 0,465) entre as duas segundas avaliações realizadas pelos observadores A e B.

TABELA 7 - Achados obtidos nas duas primeiras e nas duas segundas avaliações dos observadores A e B (avaliação interobservador) de acordo com o grau histológico na classificação de LAX.

| | | LAX | |
|---------------------|------------|---------------------|-----------|
| | | <i>Observador B</i> | |
| | | Baixo Grau | Alto Grau |
| 1ª avaliação | | | |
| <i>Observador A</i> | Baixo grau | 38 | 14 |
| | Alto Grau | 8 | 10 |
| 2ª avaliação | | | |
| <i>Observador A</i> | Baixo Grau | 52 | 6 |
| | Alto Grau | 5 | 7 |

Nota: a concordância foi avaliada pelo teste de Kappa

1ª avaliação $k = 0,258$

2ª avaliação $k = 0,465$

.....Média $k = 0,361$

4.9. Comparação interobservador avaliando a classificação de ALKUSHI

Como mostra a Tabela 8 houve uma concordância regular entre as duas primeiras e as duas segundas avaliações realizadas pelos observadores A e B, com um índice de *kappa* de 0,283 e de 0,402, respectivamente.

TABELA 8 - Achados obtidos nas duas primeiras e nas duas segundas avaliações dos observadores A e B (avaliação interobservador) de acordo com o grau histológico na classificação de ALKUSHI.

| | | ALKUSHI | |
|---------------------|------------|---------------------|-----------|
| | | <i>Observador B</i> | |
| | | Baixo Grau | Alto Grau |
| 1ª avaliação | | | |
| <i>Observador A</i> | Baixo grau | 35 | 17 |
| | Alto Grau | 6 | 12 |
| 2ª avaliação | | | |
| <i>Observador A</i> | Baixo Grau | 33 | 13 |
| | Alto Grau | 7 | 17 |

Nota: a concordância foi avaliada pelo teste de Kappa

1ª avaliação k = 0, 283

2ª avaliação k = 0, 402

.....Média k= 0,342

4.10. Comparação entre as concordâncias intra e interobservador nas quatro classificações propostas

Das quatro análises realizadas pelos patologistas A e B obteve-se um resultado único do grau de diferenciação em cada uma das quatro classificações propostas, que foram denominadas classificação definitiva. Foi considerada a classificação definitiva de cada paciente aquela em que houve concordância em três ou mais avaliações. As pacientes nas quais houve concordância menor ou igual a dois foram consideradas “sem concordância”. A análise da concordância do grau de diferenciação tumoral está descrita na Tabela 9.

TABELA 9 – Descrição das concordâncias intra e interobservador nas quatro classificações propostas

| Classificação | Concordância | n | Percentagem |
|-----------------|------------------|----|-------------|
| FIGO | sem concordância | 20 | 28,6% |
| | Grau 1 | 25 | 35,7% |
| | Grau 2 | 13 | 18,6% |
| | Grau 3 | 12 | 17,1% |
| FIGO MODIFICADO | sem concordância | 6 | 8,6% |
| | Baixo grau | 52 | 74,3% |
| | Alto grau | 12 | 17,1% |
| LAX | sem concordância | 9 | 12,9% |
| | Baixo grau | 51 | 72,9% |
| | Alto grau | 10 | 14,3% |
| ALKUSHI | sem concordância | 12 | 17,1% |
| | Baixo grau | 40 | 57,1% |
| | Alto grau | 18 | 25,7% |

A comparação da reprodutibilidade das diversas classificações propostas no estudo mostrou uma melhor concordância da FIGO modificada. A Tabela 10 sumariza os resultados obtidos nas diversas avaliações.

TABELA 10 – Valores de *kappa* (comparação intra e interobservador) obtidos nas diversas classificações do grau histológico

| | <i>Valor de kappa</i> | | | | | |
|----------------------------|------------------------|----------|--------------|------------------------|------------------------|--------------|
| | Intraobservador | | | Interobservador | | |
| | A | B | Média | 1 avaliação | 2 avaliação | Média |
| FIGO | 0,469 | 0,538 | 0,503 | 0,271 | 0,343 | 0,307 |
| FIGO MODIFICADA | 0,661 | 0,768 | 0,714 | 0,661 | 0,522 | 0,591 |
| LAX | 0,496 | 0,466 | 0,481 | 0,258 | 0,465 | 0,361 |
| ALKUSHI | 0,528 | 0,736 | 0,632 | 0,283 | 0,402 | 0,342 |

Nota: a concordância foi avaliada pelo teste de Kappa, sendo:

- excelente (0,81-1,00)
- muito bom (0,61-0,80)
- moderado (0,41-0,60)
- regular (0,21-0,40)
- fraco (0,01-0,20)

4.11. Associação das diversas classificações histológicas do grau de diferenciação com o estadiamento do adenocarcinoma de endométrio

A associação da classificação histológica definitiva de cada uma das classificações propostas com o estadiamento está demonstrada na Tabela 11.

TABELA 11 – Associação da classificação histológica com o estadiamento das pacientes

| Classificação | Estadiamento | | <i>p</i> |
|------------------------|---------------|---------------|----------|
| | IA | Maior IB | |
| FIGO | | | |
| G1 | 16 (55,2%) | 9 (45,0%) | 0,663 |
| G2 | 7 (24,1%) | 5 (25,0%) | |
| G3 | 6 (20,7%) | 6 (30,0%) | |
| FIGO modificado | | | |
| Baixo grau | 31 (83,8%) | 21 (77,8%) | 0,370 |
| Alto grau | 6 (16,2%) | 6 (22,2%) | |
| LAX | | | |
| Baixo Grau | 31 (86,1%) | 20 (80,0%) | 0,402 |
| Alto Grau | 5 (13,9%) | 5 (20,%) | |
| ALKUSHI | | | |
| Baixo Grau | 24 (70,6%) | 16 (66,7%) | 0,101 |
| Alto Grau | 10 (29,4%) | 8 (33,3%) | |

Nota: análise com o teste do qui-quadrado

4.12. Associação da classificação histológica com a proliferação celular (ki-67)

A associação da classificação histológica definitiva do grau de diferenciação celular das quatro classificações propostas com a proliferação celular está representada na Figura 11. A análise foi feita por meio da percentagem de expressão da proteína ki-67. Na representação gráfica está representada a média das percentagens em cada grau tumoral.

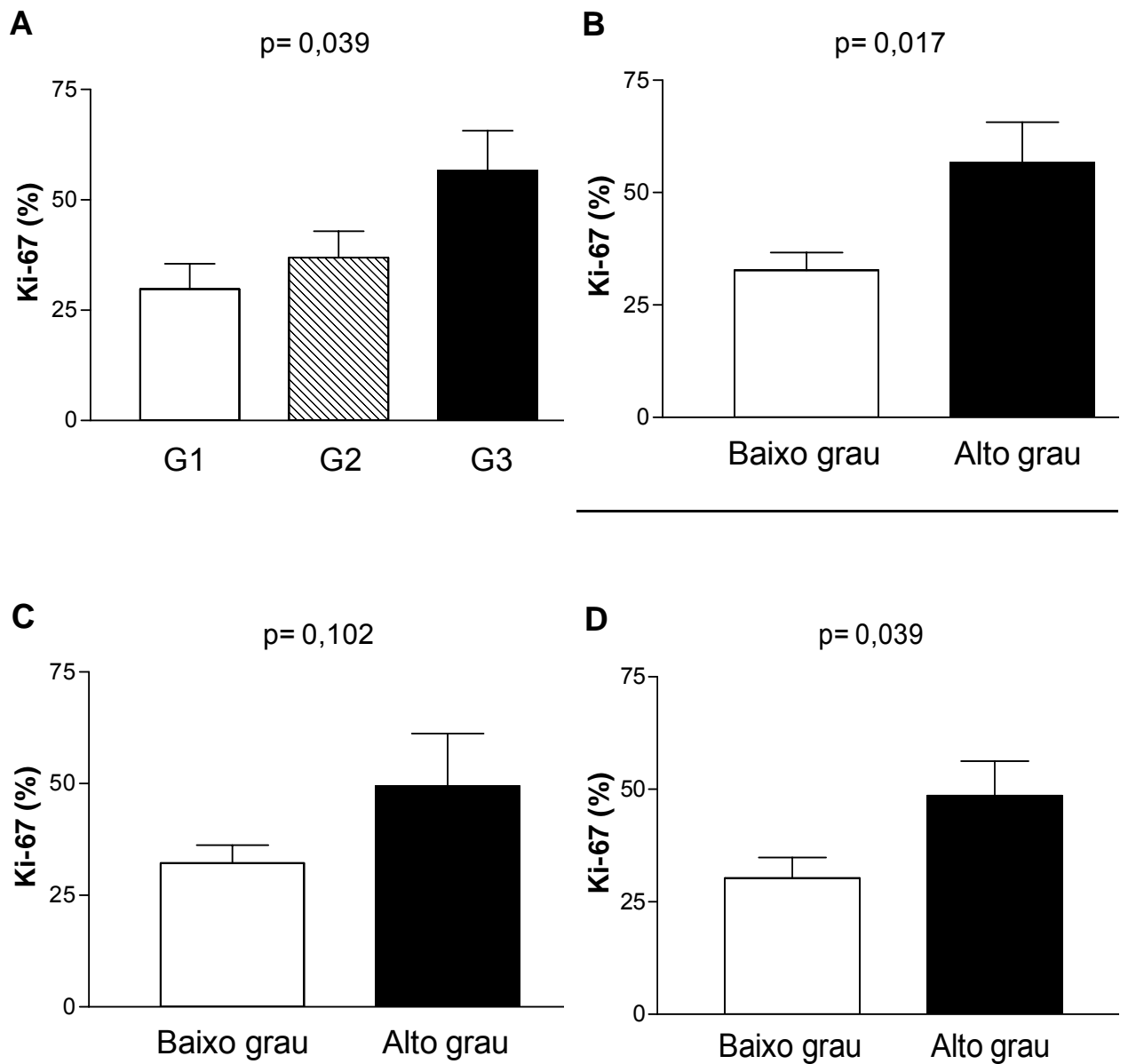


FIGURA 11 - Associação da expressão da proteína Ki-67 no adenocarcinoma de endométrio com o grau de diferenciação celular nas classificações da FIGO (A), FIGO modificada (B), Lax (C) e Alkushi (D).

Nota: Valores de p foram calculados pelos testes de ANOVA e pelo teste do *t-student*.

Apenas a coloração nuclear foi considerada na quantificação da proteína Ki-67.

5. DISCUSSÃO

Desde 1930, ginecologistas que lidam com tumores femininos tentam definir critérios precisos para facilitar o planejamento terapêutico das pacientes oncológicas. O objetivo é obter uma terminologia e sistema de graduação uniforme capaz de avaliar apropriadamente o prognóstico e melhorar a comunicação entre os diversos profissionais envolvidos no tratamento destas pacientes (FIGO, 2009).

O presente estudo avaliou classificações histológicas do grau de diferenciação do adenocarcinoma de endométrio, que apresenta implicações prognósticas e terapêuticas. No entanto, essa determinação é usualmente realizada por um único profissional, estando sujeita à sua subjetividade, o que limita a credibilidade do resultado obtido (SCHOLTEN, 2002). A classificação da FIGO é a mais utilizada e apresenta uma reprodutibilidade de moderada a boa (LAX, 2000; SCHOLTEN, 2002; ZAINO, 2009; KAPUCUOGLU, 2008; STEFANSSON, 2004; ALKUSHI, 2005; ZAINO, 1996; TAYLOR, 1999; NIELSEN, 1991; FIGO, 2009). Por esse motivo, outros sistemas de classificação foram propostos na tentativa de melhorar a reprodutibilidade e capacidade prognóstica desse achado histopatológico (KAPUCUOGLU, 2008).

No atual estudo também se avaliou a expressão da proteína Ki-67, visando determinar outro possível fator prognóstico no adenocarcinoma de endométrio. Alguns sistemas de classificação do grau de diferenciação histológico, como o de Alkushi, utilizam o índice mitótico para identificar tumores de comportamento biológico menos favorável, isto é, de pior prognóstico. Utilizar um marcador de

proliferação celular, como o ki-67, seria uma forma indireta e mais confiável para avaliar o índice mitótico.

O resultado das classificações histológicas do grau de diferenciação, como qualquer outro resultado que exija mensuração, apresenta variação em suas medidas. A confiabilidade (reprodutibilidade) é definida como a capacidade de concordância dos resultados ao se repetir o procedimento ao longo do tempo ou ao mesmo tempo por vários indivíduos. Ela pode ser avaliada pelo grau de concordância na análise de diferentes examinadores (concordância interobservador) ou na concordância em diversas análises de um mesmo examinador (concordância intraobservador). Quanto maior a concordância nas avaliações, mais confiável será o resultado do método. Estudos avaliando a classificação histológica dos adenocarcinomas endometrioides não conseguiram avaliar e propor uma classificação que não fosse influenciada pela subjetividade do avaliador e de boa reprodutibilidade (SCHOLTEN, 2002; KAPUCUOGLU, 2008).

As limitações na reprodutibilidade da classificação do grau de diferenciação celular podem interferir no diagnóstico clínico, superestimando ou subestimando o comportamento biológico do tumor e influenciando as decisões terapêuticas. Vários estudos avaliaram a concordância intra e interobservador na determinação deste achado histopatológico (Tabela 12).

Lax (2000) propôs uma classificação binária do grau de diferenciação celular no adenocarcinoma de endométrio. A comparação de sua classificação com a FIGO e grau nuclear mostrou um kappa na concordância intraobservador de 0,79, 0,67 e 0,41; respectivamente. A concordância interobservador nas três classificações foi de 0,65; 0,55 e 0,22, respectivamente (LAX, 2000; ALKUSHI, 2005; KAPUCUOGLU, 2008).

Uma avaliação de 800 pacientes foi realizada por 2 patologistas de centros diagnósticos distintos usando as classificações da FIGO, FIGO MODIFICADA e de LAX com concordância interobservador (kappa) de 0,41; 0,58 e 0,39, respectivamente (SCHOLTEN, 2004). Em um estudo foram avaliadas, por cinco patologistas de um mesmo centro diagnóstico, 200 pacientes com os seguintes resultados de concordância interobservador: kappa= 0,50 (FIGO); 0,57 (Lax); 0,23 (grau nuclear) e na comparação intraobservador 0,62 (FIGO); 0,62 (Lax) e 0,43 (grau nuclear) (SAGAE, 2004)

Demczuk (2003) avaliou a concordância interobservador por meio da análise de 133 pacientes nas classificações da FIGO e Lax. Foram cinco patologistas envolvidos no estudo, de um mesmo centro diagnóstico, sendo dois sem experiência em patologia ginecológica. Os resultados foram melhores no grupo dos patologistas com experiência ginecológica (FIGO= 0,64-0,71; Lax= 0,91-0,92) do que nos de pouco experiência (FIGO= 0,23-0,48; Lax= 0,21-0,57), mostrando a importância da experiência do patologista na interpretação do grau de diferenciação (DEM CZUK, 2003).

Alkushi (2005) propôs outra classificação em 2005. Seu estudo comparou a concordância intra e interobservador da classificação proposta com a da FIGO, da FIGO MODIFICADA e a de LAX obtendo valores de kappa na avaliação interobservador de 0,76 (Alkushi), 0,61 (FIGO), 0,71 (FIGO modificada) e 0,75 (Lax). Os valores da comparação intraobservador foram, respectivamente: 0,80; 0,73; 0,90 e 0,75 (ALKUSHI, 2005).

Um estudo retrospectivo avaliou 88 pacientes de adenocarcinoma endometrióide por dois patologistas para as classificações da FIGO, LAX e do grau

nuclear tendo obtido resultados de reprodutibilidade interobservador (κ 0,65, 0,67 e 0,09 respectivamente) (KAPUCUOGLU, 2008).

No estudo atual a classificação binária da FIGO modificada apresentou a melhor concordância inter e intraobservador. Dessa forma, a substituição do sistema de classificação do grau de diferenciação tradicional da FIGO pelo binário pode implicar em uma melhor reprodutibilidade (SCHOLTEN, 2004). Outros estudos obtiveram resultados semelhantes considerando os sistemas binários menos ambíguos por não apresentar níveis intermediários de classificação. Uma vez que o prognóstico não é diferente para os graus 1 e 2, os sistemas binários seriam preferíveis ao sistema da FIGO, mais usado atualmente (GEMER, 2009; SCHOLTEN, 2002).

A concordância maior na classificação da FIGO modificada pode ter ocorrido pela pouca familiaridade dos patologistas com as classificações alternativas à da FIGO. O prognóstico de pacientes em estágio II e I é praticamente o mesmo (sobrevida em 5 anos de 92% e 94%, respectivamente), o que justificaria a adoção do sistema binário (FIGO modificada), ao invés do tradicionalmente usado (SCHOLTEN, 2004).

Comparando os valores de κ do presente estudo aos previamente relatados, obtivemos uma avaliação intraobservador e interobservador abaixo da descrita na maioria dos estudos. (Tabela 12). No estudo atual pretendeu-se avaliar a concordância intra e interobservador de dois patologistas de centros diagnósticos diferentes, para ver se os critérios das classificações são precisos e reprodutíveis quando dois profissionais não têm a oportunidade de discutir suas dúvidas diariamente durante a avaliação. Um sistema de classificação tem que ser preciso, prático e reprodutível para ser útil (SCHOLTEN, 2004). O treinamento dos

profissionais que lidam com a patologia oncológica ginecológica é muito importante. O atual estudo, em comparação com a literatura, sugere que este treinamento deve ser longo e bem detalhado. Um patologista com pouca prática nas classificações pode dar oportunidade a resultados mais ambíguos do que o patologista experiente nas classificações do grau histológico.

TABELA 12 – Comparação dos resultados intra e interobservador do grau histológico de diferenciação do adenocarcinoma de endométrio

| | FIGO | FIGO | Lax | Alkushi | Grau | N |
|--|-------------|-------------------|------------|----------------|----------------|----------|
| | | Modificada | | | nuclear | |
| <i>Concordância Inter-observador (Kappa)</i> | | | | | | |
| Lax et al (2000) | 0,55 | NA | 0,65 | NA | 0,22 | 141 |
| Stefansson et al. (2004) | 0,54 | NA | 0,63 | NA | NA | 30 |
| Scholten et al (2004) | 0,41 | 0,58 | 0,39 | NA | NA | 800 |
| Sagae et al (2004) | 0,50 | NA | 0,57 | NA | 0,23 | 200 |
| Alkushi et al (2005) | 0,61 | 0,71 | 0,75 | 0,76 | NA | 202 |
| Kapucuoglu et al (2008) | 0,67 | NA | 0,65 | NA | 0,09 | 88 |
| Xavier et al. (Estudo atual) | 0,30 | 0,59 | 0,36 | 0,34 | NA | 70 |
| <i>Concordância Intra-observador (Kappa)</i> | | | | | | |
| Lax et al (2000) | 0,67 | NA | 0,79 | NA | 0,41 | 141 |
| Sagae et al (2004) | 0,62 | NA | 0,62 | NA | 0,43 | 200 |
| Alkushi et al (2005) | 0,73 | 0,90 | 0,75 | 0,80 | NA | 202 |
| Xavier et al. (Estudo atual) | 0,50 | 0,71 | 0,48 | 0,63 | NA | 70 |

Nota: NA – não avaliado. A concordância inter e intra observador foi avaliada pelo teste de Kappa.

Sagae (2004) relata associação do grau de diferenciação com o estadiamento tumoral (SAGAE, 2004). O estudo atual não mostrou associação do grau de diferenciação com o estadiamento tumoral da FIGO, mostrando que são variáveis independentes. O Comitê de Ginecologia Oncológica da FIGO considera a determinação do grau de diferenciação celular como parte integrante do estadiamento do câncer de endométrio, o considerando um fator prognóstico independente (FIGO, 2009; CREASMAN, 2009).

O presente estudo mostrou associação do marcador de proliferação celular com o grau de diferenciação histológica em três das classificações histológicas analisadas. Foi observado que o Ki-67 está relacionado com o grau de diferenciação tumoral, apresentando maior expressão nos tumores de mais alto grau, com maior proliferação celular. Outro estudo encontrou associação da expressão do ki-67 com o estadiamento e o grau histológico (ZHU, 2009). O índice de proliferação, avaliado através da percentagem do ki-67, é considerado um fator prognóstico. As pacientes com expressão do Ki-67 até 35% tiveram melhor taxa de sobrevida que as pacientes com o índice de ki-67 acima de 35% (SUTHIPINTAWONG, 2008). Um outro estudo retrospectivo avaliou a expressão da proteína Ki-67 em pacientes com adenocarcinomas endométrioídes de endométrio encontrando associação com o grau de diferenciação. Tumores FIGO G3 tiveram em média 28% de expressão do ki-67 e 15% em tumores FIGO G1-2. A proliferação celular tumoral, estimada pelo ki-67, teve associação com a contagem de mitoses (STEFANSSON, 2004).

Considerações finais:

No futuro, será importante que patologistas e ginecologistas discutam juntos e treinem as classificações para minimizar a subjetividade e melhorar os resultados

(ZAINO, 2009) Não há ainda um sistema de graduação excelente do ponto de vista de reprodutibilidade. Novos fatores preditivos devem ser discutidos para identificar pacientes em risco de recorrência e menor sobrevida (SCHOLTEN, 2002; ZAINO, 2009). Estudos com outros marcadores (angiogênese, receptores hormonais, proliferação celular) junto aos classicamente usados para a definição prognóstica, estudos com número maior de pacientes, poderiam ser feitos na tentativa de se obter uma avaliação mais precisa do grau de confiabilidade destas avaliações nas pacientes com adenocarcinoma de endométrio (KAPUCUOGLU, 2008).

Este estudo mostra que apesar de diversos outros fatores prognósticos estarem sendo estudados, parâmetros tradicionais como o grau de diferenciação celular ainda devem ser bem pesquisados. Observou-se ainda que a proliferação celular (avaliada pela expressão do ki-67) é um importante fator prognóstico, sendo mais preciso que a contagem de mitoses que pode ser de difícil realização.

6. CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo nos permitem concluir que:

- As classificações histológicas do grau de diferenciação tumoral no adenocarcinoma de endométrio apresentam diferentes graus de subjetividade. A classificação binária da FIGO modificada apresentou a melhor concordância intra e interobservador.
- O estadiamento tumoral não se associou com o grau de diferenciação celular no adenocarcinoma de endométrio. Tumores pouco diferenciados (FIGO) ou de alto grau (FIGO MODIFICADA E ALKUSHI) apresentaram maior índice de proliferação celular.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AALDERS, J.G; ABELER, V.; KOLSTAD, P. Stage IV endometrial carcinoma: a clinical and histopathological study of 83 patients. *Gynecol Oncol.* 1984; 17:75.

ALKUSHI, A; ABDUL-RAHMAN, Z.H; LIM, P. *et al.* Description of a novel system for grading of endometrial carcinoma and comparison with existing grading systems. *Am J Surg Pathol.* 2005 Mar; 29(3):295-304.

ALKUSHI, A; LIM, P.; AQUINO-PARSONS, C. *et al.* Markers of proliferative activity are predictors of patient outcome for low-grade endometrioid adenocarcinoma but not papillary serous carcinoma of endometrium. *Mod Pathol.* 2002; 15:365-371.

AYHAN, A.; TASKIRAN, C; YUCE, K *et al.* The prognostic value of nuclear grading and the revised FIGO grading of endometrial adenocarcinoma. *Int J Gynecol Pathol.* 2003; 22(1): 71-74.

BEREK, J.S.; ADASHI, E.Y.; HILLARD, A.P.. NOVAK - Tratado de Ginecologia. 12. ed., 1998, cap. 31.

BONATZ, G.; FRAHM, S.O; KLAPPER, W. *et al.* High telomerase activity is associated with cell cycle deregulation and rapid progression in endometrioid adenocarcinoma of the uterus. *Hum Pathol.* 2001 Jun; 32(6):605-14.

BOKHMAN, J.V. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol.* 1983; 15:10-7.

CHAIRMAN, SP. FIGO COMMITTEE ON GYNECOLOGIC ONCOLOGY. Revised FIGO staging for carcinoma of the endometrium. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, 105 (2009) 109

CLEMENT, P.B; YOUNG, R.H. Endometrioid Carcinoma of the uterine Corpus: A Review of its pathology with emphasis on recent advances and problematic aspects. *Adv Anat Pathol*, 2002 May; 9(3):145-84.

CREASMAN, W.T. FIGO stages – 1988 revision. *Gynecol Oncol*, 1989; 35:125–7.

CREASMAN, W.T. Revised FIGO staging for carcinoma of the endometrium. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, 105 (2009) 109.

CREASMAN, W.T.; MORROW, C.P; BUNDY, B.N *et al.* Surgical pathological spread patterns of endometrial cancer. *Cancer*. 1987; 60:2035-41.

DABBS, D.J. *Diagnostic immunohistochemistry*. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2002.

DAWSON-SAUNDERS, B; TRAPP, R.G. *Basic and clinical biostatistics*. Norwalk: Appleton & Lange, 1990.

DEMCIUK, S; WIERZCHOWSKI, W.; SZCZEPAŃSKI, W. *et al.* The comparison of the agreement in determining the histological grade of uterine endometrial endometrioid carcinoma, using the three-grade FIGO classification and the two-grade system. *Pol J Pathol*. 2003;54(3):179-81.

DIETEL, M. The histological diagnosis of endometrial hyperplasia - Is there a need to simplify? *Virchows Arch*. 2001 439:604-608.

DISAIA, P.J.; CREASMAN, W.T; BORONOW, R.C. *et al.* Risk factors and recurrent patterns in stage I endometrial cancer. *Am J Obstet Gynecol.* 1985; 151:1009-15.

DUARTE-FRANCO, E.; FRANCO EL. Other gynecologic cancers: endometrial, ovarian, vulvar and vaginal cancer. *BMC Women's Health*, 2004 Aug 25; 4:S14.

EBINA, Y.; HAREYAMA, H.; SAKURAGU, N. Peritoneal cytology and its prognostic value in endometrial carcinoma. *Int Surg*, 82(3):244-8, 1997.

ENGELSEN, I.B; AKSLEN, L.A; SALVESEN, H.B. Biologic markers in endometrial cancer treatment. *APMIS.* 2009 Oct:117(10):693-707.

FLEISS, J. *Statistical methods for rates and proportions.* New York: John Wiley, 1981.

GARZETTI, G.G; CIAVANTTINI, A; LUCARINI, G. *et al.* MIB-1 immunostaining in cervical carcinoma of young patients. *Gynecol Oncol.* 1997; 67: 184-7.

GÓIS, N.M.; MARTINS, N.V.; ABRÃO; F.S. *et al.* Peritumorous lymph-vascular invasion, grade of histologic differentiation, and myometrial infiltration as prognostic factors of endometrial carcinoma. *Rev Paul Med.* 1993; 111:385-90.

HACHISUGA, T.; KAWARABAYASHI, T.; IWASAKA, T. *et al.* The prognostic value of semiquantitative nuclear grading in endometrial carcinomas. *Gynecol Oncol* 1997; 65:115–20.

HAHN, W.C.; WEINBERG, R.A. Rules for making human tumor cells. *N Engl J Med.* 2002; 347:1593-603.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R.A. The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000; 100: 57-70.

HOMESLEY, H.D.; ZAINO, R. Endometrial cancer: prognostic factors. *Semin Oncol*. 1994; 21:71-8.

INCA. Câncer no Brasil: dados dos registros de base populacional. Ministério da Saúde, 2003, v. 3. Disponível em: (bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes/cancer_brasil_dados.pdf)

INTERNATIONAL Federation of Obstetrics and Gynecology. Classification and staging of malignant tumors in the female pelvis. *Int J Gynaecol Obstet* 1971; 9:172-180.

IZADI-MOOD, N.; SARMADI, S.; SANII, S. Strategies in the histologic diagnosis of low-grade glandular endometrial neoplasm. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2010 Feb;22(1):43-50.

JAESCHKE, R.; GUYATT, G.H.; SACKETT, D.L. Users' guides to the medical literature. III. How to use an article about a diagnostic test. B. What are the results and will they help me in caring for my patients? The Evidence-Based Medicine Working Group. *JAMA*. 1994 Mar 2;271(9):703-7.

JAESCHKE, R.; GUYATT, G.H.; SACKETT, D.L. User's guides to the medical literature. III. How to use an article about a diagnostic test. A. Are the results of the study valid? *JAMA*, 271:389-91, 1994a.

JONES, H.W. III. Treatment of adenocarcinoma of the endometrium. *Obstet Gynecol Surv*. 1975, 30:147-69.

KAKU, T.; TSURUCHI, N.; TSUKAMOTO, N. *et al.* Reassessment of myometrial invasion in endometrial carcinoma. *Obstet Gynecol.* 1994; 84: 979-82.

KAPUCUOGLU, N.; BULBULY, D.; TULUNAYZ *et al.* Reproducibility of grading systems for endometrial endometrioid carcinoma and their relation with pathologic prognostic parameters. *Int J Gynecol Cancer.* 2008, 18, 790–796.

KIM, H.S; SONG, Y.S. International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) staging system revised: what should be considered critically for gynecologic cancer? *Gynecol Oncol.* 2009, 20(3):135-136.

KWON, J.S.; QIU, F.; SASKIN, R. *et al.* Are uterine risk factors more important than nodal status in predicting survival in endometrial cancer? *Obstet Gynecol.* 2009 Oct;114(4):736-43.

LANDIS, J.R.; KOCH, G.C. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*, 33:159-74, 1977.

LAUREN, J.R. The significance of positive peritoneal cytology in endometrial cancer. *Gynecol Oncol.* 1992; 46:143-4.

LAX, S.F; KURMAN, R.J; PIZER, E.S. *et al.* A binary architectural grading system for uterine endometrial endometrioid carcinoma has superior reproducibility compared with FIGO grading and identifies subsets of advanced-stage tumors with favorable and unfavorable prognosis. *Am J Surg Pathol.* 2000 Sep;24(9):1201-8.

LAX, S.F. Molecular genetic pathways in various types of endometrial carcinoma: from a phenotypical to a molecular-based classification. *Virchows Arch.* 2004; 444:213-223.

LEE, K.R.; VACEK, P.M.; BELINSON, J.L. Traditional and nontraditional histopathologic predictors of recurrence in uterine endometrioid adenocarcinoma. *Gynecol Oncol.* 1994; 54:10–8.

LONGACRE, T.A.; HENDRICKSON, M.R. Diffusely infiltrative endometrial adenocarcinoma. An adenoma malignum pattern of myoinvasion. *Am J Surg Pathol.* 1999; 23:69–78.

LURAIN, J.R.; RICE, B.L.; RADEMAKER, A.W. *et al.* Prognostic factors associated with recurrence in clinical stage I adenocarcinoma of the endometrium. *Obstet Gynecol.* 1991;78:63-9.

LUTZ, M.H.; UNDERWOOD, P.B.; KREUTNER, A. *et al.* Endometrial carcinoma: a new method of classification of therapeutic and prognostic significance. *Gynecol Oncol.* 1978; 6:83-94.

MACMAHON, B. Risk factors for endometrial cancer. *Gynecol Oncol.* 1974; 2:122-9.

MING-TAK, H.D.; HSU, C.Y.; CHIANG, H. MIB-1 Labeling index as a prognostic indicator for survival in patients with FIGO stage IB squamous cell carcinoma of the cervix. *Gynecol Oncol.* 2000; 76: 97-102.

MITTAL, K.R.; SCHWARTZ, P.E.; BARWICK, K.W. Architectural (FIGO) grading, nuclear grading, and other prognostic indicators in stage I endometrial adenocarcinoma with identification of high-risk and low-risk groups. *Cancer.* 1988; 61:538–45.

MORROW, C.P.; BUNDY, B.N.; KURMAN, R.J. *et al.* Relationship between surgical-pathological risk factors and outcome in clinical stage I and II carcinoma of the endometrium: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol.* 1991; 40:55-65.

NIELSEN, A.L.; THOMSEN, H.K.; NYHOLM, H.C. Evaluation of the reproducibility of the revised 1988 International Federation of Gynecology and Obstetrics grading system of endometrial cancers with special emphasis on nuclear grading. *Cancer*. 1991; 68:2303–9.

NOVIELLO, M.B.; SILVA-FILHO, A.L; TRAIMAN, P. *et al.* Inter and intraobserver variability in the assessment of tumor grade and lymphovascular space invasion in patients with squamous cell carcinoma of the cervix. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2008; 138(2):246-8.

PAGANO, M.; GAUVREAU, K. *Princípios de Bioestatística*. São Paulo: Thomson. 2006, cap.10, p. 209-231.

PAGANO, M.; GAUVREAU, K. *Princípios de Bioestatística*. São Paulo: Thomson, 2006, cap.15, p. 304-331.

PARAZZINI, F.; LA VECCHIA, C.; NEGRI, E. *et al.* Reproductive factors and risk of endometrial cancer. *Am J Obstet Gynecol*. 1991; 64:522-7.

PARKER, S.L.; TONG, T.; BOLDEN, S. *et al.* Cancer Statistics. *CA Cancer J Clin*. 1996; 46:5-28.

PEREIRA, M.G. *Epidemiologia: teoria e prática*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995, cap. 17: Aferição dos eventos, p. 358-375.

PETRU, E.; LÜCK, H. J.; STUART, G. *et al.* Gynecologic Cancer Intergroup (GCIG) proposals for changes of the current FIGO staging system. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. 2009, 143:69-74.

PRISTAUZ, G.; BADER, A.A.; REGITNIG, P. *et al.* How accurate is frozen section histology of pelvic lymph nodes in patients with endometrial cancer? *Gynecol Oncol.* 2009; Oct;115(1):12-7.

RUTLEDGE, F. The role of radical hysterectomy in adenocarcinoma of the endometrium. *Gynecol Oncol.* 1974; 2:331-47.

SAGAE, S.; SAITO, T.; SATOH, M. *et al.* The reproducibility of a binary tumor grading system for uterine endometrial endometrioid carcinoma, compared with FIGO system and nuclear grading. *Oncology.* 2004, 67:344-350.

SCHOLTEN, A.N.; CREUTZBERG, C.L.; NOORDIJK, E.M. *et al.* Long-term outcome in endometrial carcinoma favors a two-instead of a three-tiered grading system. *Int J Radiation Biol Phys.* 2002, 52(4):1067-1074.

SCHOLTEN, A.N.; SMIT, V.T.H.B.M; BEERMAN, H. *et al.* Prognostic significance and interobserver variability of histologic grading systems for endometrial carcinoma. *Cancer.* 2004, 100(4):764-772.

SIDAWAY, M.K.; SILVERBERG, S.G. Endometrial carcinoma. Pathologic prognostic factors of therapeutic and prognostic significance. *Pathol Annu.* 1992; 27:153–85.

SILVA-FILHO, A.L. Emprego dos marcadores de prognóstico no tratamento para o carcinoma invasor de colo. *RBGO.* 2009; v.3:468-73.

STEFANSSON, I.M.; SALVESEN, H.B.; IMMERVOLL, H. *et al.* Prognostic impact of histological grade and vascular invasion compared with tumour cell proliferation in endometrial carcinoma of endometrioid type. *Histopathology.* 2004 May;44(5):472-9.

STEWART, B.W.; KLEIHUES, P. *World cancer report*. Lyon: IARC, 2003.

SUTHIPINTAWONG, C.; WEJARANAYANG, C.; VIPUPINYO, C. Prognostic significance of ER, PR, Ki67, c-erbB-2, and p53 in endometrial carcinoma. *J Med Assoc Thai*. 2008 Dec;91(12):1779-84.

TAYLOR, R.R.; ZELLER, J.; LIEBERMAN, R.W. *et al*. An analysis of two versus three grades for endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol*. 1999; 74:3–6.

TINACCI, G.; CARIAGGI, M.P.; CAROZZI, F. *et al*. Digital images for interobserver variability comparison in cervicovaginal cytology. *Anal Quant Cytol Histol*. 2003 Feb;25(1):1-7.

WILSON, T.O; PODRATZ, K.C.; GAFFEY, T.A. *et al*. Evaluation of unfavorable histologic subtypes in endometrial adenocarcinoma. *AM J Obstet Gynecol*. 1990; 162:418-26.

YAMASAWA, K.; SEKI, K.; MATSUI, H. *et al*. Significance of perivascular lymphocytic infiltrates in endometrial carcinoma. *Cancer*. 2001; 91:1777–84.

YURA, Y.; TAUCHI, K.; KOSHIYAMA, M. *et al*. Parametrial involvement in endometrial carcinomas: its incidence and correlation with other histologic parameters. *Gynecol Oncol*. 1996; 63:114–9.

ZAINO, R.J.; KURMAN, R.J.; DIANA, K.L. *et al*. Pathologic models to predict outcome for women with endometrial adenocarcinoma. The importance of the distinction between surgical stage and clinical stage – a gynecologic oncology group study. *Cancer*. 1996;77:1115–21.6.

ZAINO, R.J.; KURMAN, R.J.; DIANA, K.L. *et al.* The utility of the revised International Federation of Gynecology and Obstetrics histologic grading of endometrial adenocarcinoma using a defined nuclear grading system. A gynecologic oncology group study. *Cancer*. 1995; 75:81–6.

ZAINO, R.J.; SILVERBERG, S.G.; NORRIS, H.J. *et al.* The prognostic value of nuclear versus architectural grading in endometrial adenocarcinoma: a gynecologic oncology group study. *Int J Gynecol Pathol* 1994; 13:29–36.

ZAINO, R.J. FIGO Staging of Endometrial Adenocarcinoma: A critical Review and proposal. *Int J Gynecol Pathol*. 2009; 28(1):1–9.

ZAINO, R.J. Pathologic indicators of prognosis in endometrial adenocarcinoma. Selected aspects emphasizing the GOG experience. *Pathol Annu*. 1995; 30:1–28.

ZHU, C.; LUO, J.; SHI, H. *et al.* Expression of tubulin, p53, ki67, receptors for estrogen, and progesterone in endometrial cancer. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2009;30(5):514-7.

ANEXOS**I. Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa da UFMG (COEP)**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP


Parecer nº. ETIC 186/09

Interessado(a): Prof. Agnaldo Lopes Silva Filho
Departamento de Ginecologia e Obstetrícia
Faculdade de Medicina - UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 27 de maio de 2009, o projeto de pesquisa intitulado "**Estudo das diferentes classificações histológicas do grau de diferenciação no câncer de endométrio**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.


Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG

II. Consentimento de pesquisa do CIPAX Medicina Diagnóstica de São José dos Campos



São José dos Campos (SP), 08 de maio de 2009

Caros senhores da diretoria do COEP,

Venho por meio desta, na condição de patologista e responsável técnico do laboratório Cipax – Medicina Diagnóstica de São José dos Campos (SP) informar da nossa aprovação e participação no estudo de pós-graduação da Dra. Érica Becker de Souza Xavier, fornecendo casos e blocos de parafina para a sua tese, bem como fornecendo dados epidemiológicos dos respectivos pacientes, preservando contudo a identidade e dados pessoais dos mesmos.

Sem mais, coloco-me à disposição para eventuais esclarecimentos e questões.

Atenciosamente,



Ricardo S. Macapenco

III. Estadiamento do carcinoma de endométrio (FIGO 2009)

Estadio I: tumor confinado ao corpo uterino

Ia – sem acometimento miometrial ou menos de 50% do miométrio

Ib – invasão de metade ou mais do miométrio

Estadio II: tumor invade o estroma cervical, mas não se estende além do útero

Estadio III: extensão local e/ou regional do tumor.

IIIa – tumor invade a serosa do corpo uterino e/ou anexos

IIIb – envolvimento vaginal ou parametrial

IIIc – metástases para linfonodos pélvicos e/ou paraaróticos

IIIC1 – linfonodos pélvicos positivos

IIIC2 – linfonodos paraaróticos positivos com ou sem linfonodos pélvicos

positivos

Estadio IV: tumor acomete mucosa vesical ou do reto

IVa – invasão de mucosa de bexiga e/ou reto

IVb – metástase a distância, incluindo metástase intraabdominal e/ou para linfonodos inguinais

§ tanto G1, G2 ou G3

§ acometimento de glândulas endocervicais deve ser considerado estágio I

§ citologia peritoneal positiva relatada a parte, sem mudar o estágio.

IV. Termo de consentimento

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

ESTUDO DAS DIFERENTES CLASSIFICAÇÕES HISTOLÓGICAS DO GRAU DE DIFERENCIAÇÃO NO
CÂNCER DE ENDOMÉTRIO

1. IDENTIFICAÇÃO DA PACIENTE:

Nome:

Registro:

Idade:

Endereço:

Telefone:

Carteira de identidade:

2. DECLARO QUE:

1. A Dra. Érica Becker de Sousa Xavier explicou-me e eu entendi que vou participar de uma pesquisa médica com o objetivo de avaliar algumas classificações histológicas diferentes para o câncer de endométrio. Serei submetida à técnica cirúrgica convencional para o tratamento do câncer de endométrio, como descrita abaixo:

2a. DESCRIÇÃO TÉCNICA DOS PROCEDIMENTOS:

A descrição técnica dos procedimentos refere-se ao tratamento cirúrgico do carcinoma endometrial: retirada do útero de maneira radical; isto é; útero, ovários, tubas e porção superior da vagina, associada à retirada dos gânglios pélvicos bilateralmente.

Essa técnica é procedimento padrão, já bem estabelecido na área de cirurgia pélvica ginecológica. Nos procedimentos cirúrgicos utilizados não será acrescentada nenhuma modificação técnica que determine novo risco para a paciente.

A segunda etapa do trabalho diz respeito à avaliação histológica do material retirado por diferentes patologistas e aos procedimentos laboratoriais que visam determinar o MIB-1 nessas amostras.

A retirada de amostras endometriais não implica em acréscimo de risco à paciente, pois será realizada na peça cirúrgica, nas pacientes já submetidas à histerectomia radical.

2b. OBJETIVO DOS PROCEDIMENTOS:

O objetivo é avaliar a expressão da proteína ki-67 como marcador de proliferação celular no tecido de pacientes portadoras de carcinoma endometrial e avaliar a concordância intra e interpatologista na análise de lâminas de pacientes com adenocarcinoma de endométrio em relação às diferentes classificações do grau de diferenciação.

2c. DESCRIÇÃO DOS INSUCESSOS:

O único insucesso possível é o da retirada do fragmento do endométrio e a não obtenção das análises previstas, o que em nada determinará prejuízo para mim. Os procedimentos laboratoriais para a pesquisa da atividade MIB-1 e as outras classificações histopatológicas diferentes da habitualmente usada (FIGO 1988) são realizados sem a minha participação direta.

2d. DESCRIÇÃO DAS COMPLICAÇÕES DOS MÉTODOS:

Não haverá aumento do risco de complicações devido à retirada do fragmento de endométrio.

As complicações serão as mesmas relacionadas ao procedimento cirúrgico proposto para o tratamento da minha patologia, neoplasia endometrial (histerectomia radical).

2e. DESCRIÇÃO DA ANESTESIA:

Foi explicado haver necessidade de me submeter à anestesia, pois o tratamento proposto para a minha patologia implica em procedimento cirúrgico.

O tipo de anestesia será a anestesia geral ou bloqueio (raque ou peridural) com monitorização de todos os parâmetros orgânicos vitais.

2f. DESTINO DA PEÇA OPERATÓRIA:

A peça operatória retirada será enviada para estudo no Departamento de Anatomia Patológica da UFMG. Fragmentos das amostras do tumor serão encaminhados ao Laboratório de Imunohistoquímica da CIPAX (São José dos Campos). Nesse laboratório serão realizadas as classificações histopatológicas e a dosagem do ki-67.

3. FORAM-ME DEVIDAMENTE EXPLICADOS A INTERVENÇÃO, OS RISCOS (COMPLICAÇÕES) E AS POSSIBILIDADES ALTERNATIVAS DE UM MODO CLARO (FÁCIL ENTENDIMENTO PARA UMA PESSOA LEIGA, OU SEJA, NÃO MÉDICA OU PROFISSIONAL DE SAÚDE).

4. NÃO HAVERÁ RESSARCIMENTO OU INDENIZAÇÕES.

5. RECEBI TODAS AS INFORMAÇÕES QUE DESEJAVA CONHECER E A POSSIBILIDADE DE FAZER PERGUNTAS E QUESTIONAR DÚVIDAS.

6. TAMBÉM ENTENDI QUE, A QUALQUER MOMENTO E SEM NECESSIDADE DE DAR NENHUMA EXPLICAÇÃO, PODEREI REVOGAR O CONSENTIMENTO QUE AGORA PRESTO.

7. ASSIM, DECLARO AGORA QUE ESTOU SATISFEITA COM A INFORMAÇÃO RECEBIDA E QUE COMPREENDO O ALCANCE E RISCOS DO TRATAMENTO.

8. RESERVO-ME EXPRESSAMENTE O DIREITO DE REVOGAR A QUALQUER MOMENTO MEU CONSENTIMENTO ANTES QUE O PROCEDIMENTO OBJETO DESTE DOCUMENTO SE REALIZE.

9. POR TAL RAZÃO E NESTAS CONDIÇÕES **CONSINTO** QUE PARTICIPE DESSA PESQUISA E QUE O MATERIAL CIRÚRGICO RETIRADO SEJA SUBMETIDO À PESQUISA

TELEFONE DE CONTATO:

Dra. Érica Becker de Sousa Xavier: (0XX31) 3261.6147/9136.7679

COEP: (0XX31) 3248.9822

Cidade:

Data:

Assinatura do médico

Assinatura da paciente

Testemunha

Testemunha

Declaro que é possível a qualquer momento antes da cirurgia revogar o meu consentimento.

Revogo o consentimento prestado no dia E afirmo que não desejo prosseguir na pesquisa e tratamento que me foi proposto, que dou como finalizado nesta data.

Cidade:

Data:

Assinatura do médico

Assinatura da paciente

Testemunha

Testemunha

Testemunha

Testemunha

V. Descrição cirúrgica da histerectomia radical

1. Laparotomia mediana infra e supraumbilical com avaliação das estruturas abdominais e pélvicas.
2. Ligadura dos ligamentos redondos e infundíbulos pélvicos; abertura lateral do peritônio parietal com dissecação dos espaços paravesical e pararectal; e identificação dos ligamentos cardinal e útero-sacro.
3. Identificação do ureter no espaço retroperitoneal e, em seguida, dissecação do túnel do ureter com ligadura do ligamento véstico-uterino e do pilar vesical, e liberação do ureter até a sua penetração na musculatura vesical.
4. Abertura do septo reto-vaginal com separação do reto da porção proximal da vagina anteriormente e do ligamento útero-sacro lateralmente.
5. Ligadura do ligamento cardinal no seu 1/3 lateral próximo à parede pélvica lateral.
6. Ligadura dos paracolpos com abertura da cavidade vaginal e retirada do 1/3 superior da vagina útero e anexos em monobloco.
7. Fechamento da vagina com sutura contínua.
8. Linfadenectomia pélvica, iniciando a dissecação pela cadeia linfonodal dos vasos ilíacos comuns; em seguida, dos vasos ilíacos externos, internos e fossas obturatórias.
9. Síntese da parede abdominal por planos.