

Importância da citologia no "follow-up" de carcinomas uterinos irradiados

II. Efeitos tardios (após 12 meses)

ADHEMAR LONGATTO FILHO², MARINA SUHEKO OYAFUSO¹, MARINA YOSHIÉ SAKAMOTO MAEDA², LAI WUN SONG SHIH², MARIA JOSÉ CAVALIERE², JENI BORTOLAN³

Unitermos: Neoplasia — Utero. Alterações tardias — Irradiação. Displasia — Pós-irradiação. Citologia — Carcinoma uterino.

Key words: Uterine — Neoplasm. Irradiated — Late effects. Post-irradiation — Dysplasia. Citology — Uterine carcinoma.

RESUMO — Os autores estudaram as alterações citológicas provocadas por ação ionizante, presentes em esfregaços vaginais de pacientes com carcinomas uterinos tratados por radioterapia por período que variou de 1,5 a 30 anos após o término do tratamento. As alterações, embora menos intensas que no primeiro ano após o tratamento, persistiram na maioria dos casos. Os casos positivos e 72% das displasias pós-irradiação estiveram associados a altos índices de cariopicnose, o que faz deste achado importante dado no controle das pacientes tratadas por radioterapia.

INTRODUÇÃO

As alterações celulares provocadas por ação ionizante já mereceram minuciosos e bem relatados estudos registrados em literatura^(4,10,12,17). Embora essas descrições tenham larga difusão em outros países, em nosso meio elas são escassas. A compreensão desses fenômenos sob a óptica microscópica merece especial atenção, devido à tarefa de controle terapêutico inerente aos periódicos exames citológicos que acompanham uma paciente tratada de câncer.

Em um grupo de mulheres com carcinoma uterino tratadas por radioterapia, a distinção citológica das alterações provocadas pelo tratamento radioterápico, daquelas causadas por tumores recorrentes ou residuais, nem

sempre é empreitada fácil. Como já ficou estabelecido em vários estudos, há um período crítico em que as alterações radioterápicas são mais frequentes e intensas^(7,17). Contudo, muitas delas podem durar indefinidamente, por todo o período da vida de uma paciente^(4,8,9,10,13,17,19,21,24,26,27). A ação ionizante pode atingir mais sensivelmente o ADN dos núcleos das células, o que pode provocar uma mutação perene de algumas células basais^(8,24).

Em geral, após o 6.^o mês do término da radioterapia, há uma tendência à vacuolização do epitélio e as células bizarras conseqüentes à irradiação tendem a desaparecer. Contudo, a persistência desse tipo de população celular pode ser objeto de importante celeuma. Alguns autores^(10,26,27) detiveram-se especialmente nas alterações citológicas tardias encontradas no curso pós-terapêutico e relataram uma série de achados relativos à recorrência de tumores e suas lesões precursoras.

O presente trabalho tem por objetivo a descrição das alterações celulares em esfregaços citológicos de pacientes com controle de tratamento de carcinomas uterinos por radioterapia superior a um ano, período conhecido como de "alterações tardias"^(4,7), segundo alguns autores, e correlacioná-las com eventuais carcinomas recorrentes ou displasias.

Trabalho realizado no Departamento de Anatomia Patológica — Hospital A.C. Camargo, em colaboração com o Setor de Citologia Oncótica — Divisão de Patologia do Instituto Adolfo Lutz. Aprovado para publicação em 1^o/3/89.

1. Médico Titular do Departamento de Anatomia Patológica do Hospital A.C. Camargo — Fundação Antonio Prudente.
2. Pesquisador Científico, Instituto Adolfo Lutz — Divisão de Patologia — Setor de Citologia Oncótica.
3. Biologista, Departamento de Anatomia Patológica — Hospital A.C. Camargo — Fundação Antonio Prudente.

MATERIAL E MÉTODOS

Estudaram-se 86 amostras de citologia vaginal de 69 pacientes tratadas de carcinomas uterinos por radioterapia. Esses casos, analisados retrospectivamente, foram selecionados consecutivamente de controles citológicos de pacientes atendidas pelo Departamento de Ginecologia do Hospital A.C. Camargo e examinadas pelo Departamento de Anatomia Patológica da mesma instituição no ano de 1987. Nessas pacientes, o tempo de término da radioterapia foi superior a um ano.

O protocolo para estudo considerou idade, raça, diagnóstico histológico e estadiamento clínico. O estudo citológico considerou as seguintes alterações celulares, classificadas de + a ++++: a) citoplasmáticas: vacuolização, anofilia, queratinização, edema e células em forma de fibras; b) nucleares: vacuolização, cariorrex, multinucleação, edema e hiper cromasia; c) nucleolares: multinúcleolos, aumento de volume.

Além dessas possíveis alterações, considerou-se a concentração do substrato inflamatório, particularmente de histiócitos, classificando-se como: ausentes, e quantidade pequena, moderada e intensa. Por fim, observou-se o tipo de flora bacteriana: cocóide, mista ou bacilar.

O índice de cariopnoscose dos esfregaços foi registrado após contagem de 200 células em 10 campos diferen-

tes, escolhidos aleatoriamente. Os diagnósticos citológicos foram divididos para o estudo em negativos, displasias pós-irradiação e positivos.

Em todos os esfregaços analisados o método de coloração utilizado foi o de Papanicolaou.

RESULTADOS

Após revisão dos prontuários e minucioso *screening* das lâminas, obtivemos os seguintes dados: a idade das pacientes variou de 26 a 76 anos, com média de 50,2, e o tempo de controle pós-terapêutico variou de 1,5 a 30 anos, com média de 3,9 anos. A raça predominante foi a branca, com 49 pacientes; as demais eram: 16 da raça negra e quatro da amarela. Duas pacientes apresentaram estadiamento clínico IIA; 10, IB; 18, IIB; 34, IIIB. Em cinco pacientes os prontuários não referiam esta informação. Com relação ao diagnóstico histológico, 63 pacientes apresentaram carcinoma espinocelular; cinco, adenocarcinoma e um, adenoacantoma de endométrio. Os diagnósticos citológicos foram: 49 casos negativos, 18 displasias pós-irradiação e dois positivos. Os demais achados citológicos relativos às alterações inflamatórias são apresentados na tabela 1. Flora bacteriana cocóide foi encontrada em 38 casos, bacilar em cinco e mista em 14; em 12 casos não houve presença de bactérias identificáveis pela coloração de Papanicolaou. As tabelas 2, 3 e 4 resumem os achados citológicos relativos à persistência de efeitos ionizantes nas amostras estudadas.

Os índices de cariopnoscose variaram de 0% a 100%, observando-se percentagens altas nos dois casos positivos, que foram 47,4% e 41,1%. Em 13 das 18 displasias pós-irradiação (72%), os índices foram superiores a 10%. Dos 49 casos negativos, 33 tiveram índices inferiores a 10% e 16 (38%) superiores a 10%, sendo que em quatro casos esteve em torno de 100%.

TABELA 1

Alterações inflamatórias encontradas nos 69 casos estudados

Quantidade Alteração	Nº de casos				Total
	Ausente	Pequena	Moderada	Intensa	
Substrato inflamatório	10	18	29	12	69
Histiócitos	51	18	0	0	69

TABELA 2

Alterações citoplasmáticas encontradas nos 69 casos estudados

Quantidade Diagnóstico citológico	Número de casos														
	Vacuolização			Anofilia			Queratinização			Edema			Células em fibra		
	+	++	+++	+	++	+++	+	++	+++	+	++	+++	+	++	+++
Negativo	17	11	5	16	8	6	12	5	1	16	7	2	11	1	1
Displasia pós-irradiação	11	4	0	9	2	0	5	4	3	10	3	1	4	1	1
Positivo	2	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0

TABELA 3
Alterações nucleares encontradas nos 69 casos estudados

Quantidade Diagnóstico citológico	Número de casos														
	Vacuolização			Cariorex			Multinucleação			Edema			Hiperchromasia		
	+	++	+++	+	++	+++	+	++	+++	+	++	+++	+	++	+++
Negativo	0	2	0	20	4	0	17	2	0	18	6	2	4	1	1
Displasia pós-irradiação	3	0	0	4	2	0	8	2	0	6	5	2	9	4	5
Positivo	0	0	0	1	0	0	2	0	0	2	0	0	0	1	1

TABELA 4
Alterações nucleolares encontradas nos 69 casos estudados

Quantidade Diagnóstico citológico	Nº de casos					
	Multinucleólos			Aumento de vol. nucleolar		
	+	++	+++	+	++	+++
Negativo	4	0	0	5	0	0
Displasia pós-irradiação	3	0	0	5	0	0
Positivo	0	0	0	0	0	0

As figuras 1 a 5 mostram aspectos das alterações celulares persistentes em esfregaços citológicos das pacientes estudadas.

DISCUSSÃO

A efetividade do tratamento radioterápico para carcinomas uterinos avaliada através do controle citológico vem sendo estudada em vários trabalhos e revisões^(2,12,13,17). O acompanhamento citológico de sua eficiência vem sendo observado com minúcias no trato genital feminino graças à facilidade de acesso ao material de controle, embora o valor prognóstico das alterações provocadas por ação ionizante também apresente significativa importância em achados citológicos de materiais provenientes de outras regiões do organismo^(1,15).

O presente estudo preocupou-se em descrever as alterações existentes em esfregaços vaginais pós-tratamento radioterápico, após tempo mínimo de um ano, e correlacioná-las com eventuais achados de carcinomas recorrentes ou displasias pós-irradiação. Os resultados obtidos neste estudo corroboram os dados já existentes na literatura, na observação de que as alterações ionizantes presentes nas células epiteliais — que em geral tendem a desapare-

cer após período limitado de tempo — quando persistentes indicam bom prognóstico^(3,5,6).

Segundo nossa observação, as amostras negativas foram as que apresentaram maiores índices de alterações celulares, qualitativa e quantitativamente (tabelas 2, 3 e 4), com independência do período de controle pós-terapêutico, tipo tumoral tratado ou estadiamento clínico. Segundo Ceelen⁽³⁾, a persistência desses achados em um período mínimo de dois anos é um excelente fator prognóstico. Os fenômenos citoplasmáticos parecem ser os mais evidentes e de certa forma fundamentais para a ocorrência de muitas das alterações nucleares, como veremos adiante.

Em nosso estudo, as alterações mais frequentes foram as vacuolizações citoplasmáticas, que costumam ser as primeiras conseqüências da ação radioterápica e que, como as demais, podem persistir após anos de controle citológico^(2,17,24). Essa vacuolização, por microscopia eletrônica^(1,17), apresenta-se como dilatação das cisternas do retículo endoplasmático. Já a vacuolização nuclear envolveria áreas focais de dissolução da cromatina e condensação periférica da membrana nuclear, bem como invaginações citoplasmáticas para dentro do núcleo⁽¹⁷⁾.

Em nossos achados, mesmo nos casos com alterações ionizantes persistentes, a vacuolização nuclear foi observada poucas vezes. A cariorex, uma das possíveis conseqüências dessas vacuolizações, foi vista em 45% dos casos.

Os demais achados citológicos (tabelas 2, 3 e 4) também são amplamente conhecidos^(2,17,24); entre eles, o mais frequente foi o aumento de área celular. O aumento proporcional das áreas citoplasmática e nuclear (edema), por possíveis danos na permeabilidade seletiva da membrana, podem conferir a essas células proporções gigantescas.

No entanto, sua coloração citoplasmática muitas vezes anfófila (cianófila e eosinófila, concomitantemente) e

núcleos pálidos não criam dificuldades para diferenciação diagnóstica com eventuais carcinomas recorrentes⁽²⁴⁾. Já a presença de células de grandes proporções associadas a núcleos hipercrômicos pode oferecer dificuldade diagnóstica, mesmo para citologistas experientados⁽²⁴⁾.

No presente trabalho, 18 casos (26%) apresentaram displasias pós-irradiação. Estas displasias podem expressar-se como as displasias dos casos não irradiados, bem como podem estar associados às clássicas alterações ionizantes^(10,11,16,17,20,21,24,26). Soost⁽²⁴⁾ relata que cerca de 20% das pacientes tratadas por radiação podem desenvolver displasia pós-radioterapia e que esse evento pode durar apenas alguns meses ou persistir por muitos anos.

Não está definido até o momento se essa ocorrência reflete apenas uma alteração do código genético nas células da camada germinativa, ou se há correlação direta



Fig. 1 — Persistência de vacuolização citoplasmática após três anos do fim da radiação (Papanicolaou, x800)



Fig. 2 — Anfófila citoplasmática persistente após 12 anos do fim da radiação (Papanicolaou, x800)



Fig. 3 — Multinucleação com lise nuclear e aspecto bizarro. Efeito radioterápico persistente após três anos do fim da radiação (Papanicolaou, x800)

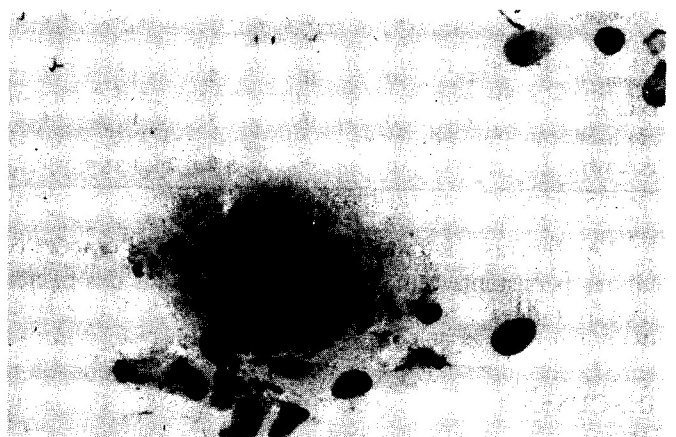


Fig. 4 — "Inchaço" nuclear em célula volumosa e anfófila, após dois anos do fim da radiação (Papanicolaou, x600)



Fig. 5 — Células edemaciadas arranjadas em "fibra", persistentes após cinco anos do fim da radiação (Papanicolaou, x200)

com a recorrência dos carcinomas^(10,16). Alguns autores estudaram com bastante minúcia essas displasias e seus achados sugerem significativa importância prognóstica em pacientes tratados por irradiação^(20,21,25).

Segundo Wentz e Reagan⁽²⁶⁾, o aparecimento de displasias nos três primeiros anos após o término da radioterapia é sinal de mau prognóstico. Os estudos de Mc Lennan⁽¹⁴⁾ e Muram⁽¹⁸⁾ também levam a conclusões prognósticas bastante pessimistas em relação às displasias pós-irradiação.

Na série de Mc Lennan, 55% das pacientes portadoras de displasias apresentaram carcinomas recorrentes. Na série estudada por Patten e cols.⁽²⁰⁾, apenas uma de 24 pacientes desenvolveu recorrência tumoral. Patten⁽²¹⁾, porém, refere que a presença de displasia pós-irradiação pode estar associada a carcinomas residuais ou recorrentes em focos metastáticos regionais ou distantes.

Em nossa série, das 18 displasias pós-irradiação, duas (11,1%) apresentaram carcinoma recorrente, clinicamente. A presença de displasias variou de 1,5 a 30 anos após o término da terapêutica radioativa, com média de 5,4 anos. Esses dados exemplificam a longevidade da persistência dessas displasias e estão de acordo com os dados descritos na literatura^(10,20,24,26,27). Onze delas (61%), porém, ainda se encontram no período dos três primeiros anos após o término da radioterapia, o que, conforme já apontado anteriormente, oferece mau prognóstico.

As duas recidivas encontradas no grupo das displasias ocorreram após cinco anos do fim do tratamento. Os casos citologicamente positivos ocorreram em duas pacientes, uma com controle pós-terapêutico de dois anos (com manifestação clínica) e em uma com controle de 10 anos (sem manifestação clínica). Todos os casos recorrentes apresentaram estadiamento clínico IIIB, dado que vem confirmar o estudo de Hall⁽⁹⁾, segundo o qual as chances de recorrência tumoral são maiores neste estágio. Ainda segundo esse autor, um caso classificado citologicamente como positivo para malignidade deve ser considerado recorrência, independentemente de ter manifestações clínicas ou não, até que todos os exames tenham sido feitos para confirmação desse achado. Na experiência desse autor, citologia positiva para malignidade pode ocorrer até cinco anos antes da expressão clínica.

Kaufman e cols.⁽¹⁰⁾, em contraste, concluíram que a clínica é mais eficiente que a citologia na avaliação da recorrência tumoral, posto que estes autores, embora com conhecimento dos dados de Hall⁽⁹⁾, relatam uma série de casos citologicamente negativos com recorrência tumo-

ral, observando que as alterações celulares provocadas pela ação ionizante confundiriam o observador na correta interpretação citológica.

Em nosso estudo, nenhum dos casos negativos apresentou, até o momento da conclusão deste trabalho, recidiva local. Parece-nos que a citologia cervicovaginal negativa, na ocorrência de metástases à distância, não oferece argumentos críticos à eficiência do método para detectar recorrência local.

Por fim, outros achados microscópicos correlacionados neste estudo também demonstram concordância com a literatura. A presença de substrato inflamatório e histiócitos (sobretudo multinucleados), que nas fases iniciais da ação ionizante é bastante expressiva⁽¹⁷⁾, vai diminuindo paulatinamente e, caso não haja outro estímulo que renove uma resposta inflamatória, tende ao desaparecimento^(2,17,24).

Em nosso estudo, observamos maiores concentrações de elementos inflamatórios nos casos de displasias pós-irradiação e positivos. O "fundo" dos esfregaços dos casos estudados apresentou variadas concentrações de tipos bacterianos, que interpretamos como achados apenas ocasionais, não havendo correlação entre as alterações citológicas e o tipo bacteriano. Alguns esfregaços apresentaram fundo de aspecto colóide, descrito por Zimmer⁽²⁷⁾ como "aspecto de rede", que, segundo esse autor, seria uma alteração do muco vaginal pela irradiação.

O índice de cariopícnose elevado esteve associado, neste estudo, aos carcinomas recorrentes e a 72% das displasias. Esses dados estão de acordo com o estudo de Wachtel⁽²⁵⁾, segundo o qual alto índice de cariopícnose após o tratamento é indicativo de possível falha da terapia. Outros autores se empenharam no valor prognóstico deste achado^(5,6,13,14,19,22,23), mostrando tendência à valorização dos altos índices de cariopícnose, após o tratamento radioterápico, como de mau prognóstico^(21,23,25). Patten⁽²¹⁾, especificamente, chama a atenção para o fato de que a presença de células superficiais escamosas, mesmo na ausência de alterações ionizantes ou evidência citológica de câncer, a qualquer tempo após seis meses do término do tratamento, serve como alerta para o risco de a paciente vir a desenvolver displasia pós-irradiação ou ter câncer residual.

Os dados obtidos no presente estudo podem ser úteis aos profissionais envolvidos com o controle pós-terapêutico de pacientes tratadas de carcinomas uterinos por irradiação, para que mantenham sob especial vigilância os casos de displasia e os positivos pós-irradiação, mesmo

que não haja evidências clínicas preocupantes ou outros sinais de recorrência neoplásica.

SUMMARY

The authors studied the late radiation changes, in vaginal smears of patients with uterine carcinoma treated by radiotherapy. The period studied ranged from 1.5 to 30 years after the treatment. The cytologic changes presented were less intense than those found during the first year after treatment, but they persisted in a great number of the cases. The positive smears and 72% of post-irradiation dysplasia smears were associated with high karyopycnotic index; this findings is a very important parameter to analyse the cytologic control smears of the patients treated by irradiation.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBRIGHT, CD & HAFIZ, MA Cytomorphologic changes in splitcourse radiation-treated bronchogenic carcinomas. *Diagn Cytopathol* 4: 9-13, 1988.
- BOACHANN, HW Radiation changes in benign cells. Em: *Compendings on diagnostic cytology*. 4 ed. /s.l.p./ p. 232-241 (Tutorial Proceedings, 4(1) 1970).
- CEELEN, GH Persistent radiation changes in vaginal smears and their meaning for the prognosis of squamous cell carcinoma of the cervix. *Acta Cytol* 10: 350-352, 1966.
- GRAHAM, RM The effect of radiation on vaginal cells in cervical carcinoma. 1. Description of celular changes. *Surg Gynaecol Obstet* 84: 153-173, 1947.
- GRAHAM, RM & GRAHAM, IB Cytological prognosis in cancer of the uterine cervix treated radioterapically. *Cancer*, 8: 59-70, 1955.
- GRAHAM, RM & GOLDIE, KR Prognosis in irradiated cancer of the cervix by measurement of cell size in the vaginal smear. *Cancer*, 8: 71-77, 1955.
- GUPTA, S; GUPTA, YN; SANYAL, B Radiation changes in vaginal and cervical cytology in carcinoma of the cervix uteri. *J Surg Oncol* 19: 71-73, 1982.
- VON HAAM, E Radiation cell: changes. Em: *Compendium on diagnostic cytology*. 4 ed. /s.l.p./ p. 242-267. (Tutorial Proceeding, 4(1), 1976).
- HAAL, JE Post-therapy cytology in cervical carcinoma. *Obstet Gynecol* 9: 733-734, 1957.
- KAUFMAN, RH; TOPEK, NH; WALL, JA Late radiation changes in vaginal cytology. *Am J Obstet Gynecol* 81: 859-866, 1961.
- KOSS, LG; MELLAMED, MR; DANIEL, WW In situ epidermoid carcinoma of the cervix and vagina following radiotherapy for cervical cancer. *Cancer*, 14: 353-360, 1961.
- MARCIAL, VA; BLANCO, MS; DE LEÓN, E Persistent tumor cells in the vaginal smear during the first year after radiation therapy of carcinoma of the uterine cervix: prognóstico significance. *Am J Roentgenol* 102: 170-175, 1968.
- MATSUBUCHI, K et al Follow-up studies by cytology on cancer of the cervix uteri after treatment. *Acta Cytol* 13: 323-326, 1969.
- MC LENNAN, MT & MC LENNAN, CE Significance of cervicovaginal cytology after radiation therapy for cervical carcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 121: 96-100, 1975.
- MEMON, MH; PHIL, M; JAFAREY, NA Cytologic study of radiation changes in carcinoma of the oral cavity: Prognostic value of various observations. *Acta Cytol* 14: 22-24, 1970.
- MEYER, AA & OKAGATI, T Microspectrophotometric study of postirradiation dysplasia in vaginal smears. *Cancer*, 30: 964-971, 1972.
- MURAD, TM & AUGUST, C Radiation-induced atypia: a review. *Diagn Cytopathol* 1: 135-152, 1985.
- MURAM, D; CURRY, RH; DROVIN, P Cytologic follow-up of patients with invasive cervical carcinoma treated by radiotherapy. *Am J Obstet Gynecol* 142: 350-354, 1982.
- NIEBURGS, HE Prognosis of cervical tissue responses to radiation. Em: *Cytologic technics for office and clinic*. New York, Grune & Stratton, 1956. p. 97-102.
- PATTEN SF et al Postirradiation dysplasia of uterine cervix and vagina: an analytical study of the cells. *Cancer*, 16: 173-182, 1963.
- PATTEN, SF Postirradiation dysplasia of the uterine cervix: cytopathology and clinical significance. Em: *Compendium on diagnostic cytology*. 4 ed. /s.l.p./ p. 268-274. (Tutorial Proceedings, 4(1) 1976).
- RUBIO CA et al Radiation response and sensitization response studies in 720 cases from radiumhemmet Stockholm. *Acta Cytol* 10: 191-193, 1966.
- SCHREINER, P Evaluation of radiocurability in uterine cervix cancer with a single cytological test. *Neoplasma*, 28: 747-752, 1981.
- SOOST, HJ & BAUR, S Anormalidades celulares tras la radioterapia y la administración de citostáticos. Em: *Diagnóstico citológico en ginecología*. 4 ed., Barcelona. Toray, 1983. p. 280-290.
- WACHTEL, E The prognostic significance of the karyopycnotic index after radical treatment for cancer for the female genital tract. *Acta Cytol* 11: 35-36, 1962.
- WENTZ, WB & REAGAN, JW Clinical significance of postirradiation dysplasia of the uterine cervix. *Am J Obstet Gynecol* 106: 812-817, 1970.
- ZIMMER, TS Late irradiation changes. *Cancer*, 12: 193-196, 1959.