

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PARMA

Dottorato di ricerca in Scienze Ostetriche e Ginecologiche

Ciclo XX

**TRATTAMENTO CONSERVATIVO
DELL'ADENOCARCINOMA IN SITU DELLA
CERVICIA UTERINA: L'IMPIEGO DELL'HPV
TEST QUALE STRUMENTO PREDITTIVO DI
PERSISTENZA/RICORRENZA DI LESIONI
GHIANDOLARI**

Coordinatore:
Chiar.mo Prof. Giovanni Battista Nardelli

Tutor:
Chiar.mo Prof. Paolo Busacchi

Dottorando: Dott. Gerardo Guida

Anno Accademico 2008-2009

Indice

CAPITOLO 1	4
1 INTRODUZIONE	4
1.1 Adenocarcinoma in situ (AIS): il precursore della neoplasia ghiandolare della cervice.....	4
1.2 Identificazione delle donne a rischio per neoplasia ghiandolare della cervice	5
CAPITOLO 2	8
2 PRINCIPI DI CITOLOGIA NELLA DIAGNOSI DI NEOPLASIA GHIANDOLARE ..	8
2.1 Introduzione	8
2.2 Criteri di diagnosi dell'Adenocarcinoma in situ.....	10
2.3 Aspetti citologici nell'Adenocarcinoma Invasivo	11
2.3.1 <i>Presentazione dello striscio</i>	11
2.3.2 <i>Pattern cellulare</i>	11
2.3.3 <i>Caratteristiche cellulari</i>	12
2.3.4 <i>Somiglianze con cellule reattive epiteliali</i>	12
2.4 Falsi negativi.....	12
2.4.1 <i>AIS confuso con cellule endometriali o mestruali</i>	13
2.4.2 <i>AIS o adenocarcinoma confusi per cellule endocervicali reattive</i>	13
2.5 Falsi positivi.....	13
2.5.1 <i>Metaplasia Tubulare/ Tubuloendometriale</i>	13
2.5.2 <i>Prelievo da segmento inferiore dell'endometrio</i>	14
2.5.3 <i>Cellule endometriali mestruali</i>	14
2.5.4 <i>Cellule endocervicali reattive</i>	15
2.5.5 <i>Atrofia</i>	15
2.6 Errori di diagnosi: HSIL confuso per AIS	15
2.7 Cellule Ghiandolari atipiche di significato indeterminato (AGUS).....	16
2.7.1 <i>Generalità</i>	16
2.7.2 <i>Interpretazione delle anomalie ghiandolari cervicali con l'uso di preparazioni Liquid- based</i> 18	18
2.7.3 <i>Test HPV dopo diagnosi di 'cellule ghiandolari o endocervicali atipiche'</i>	18
CAPITOLO 3	19
3 DIAGNOSI E MANAGEMENT DELL'ADENOCARCINOMA IN SITU	19
3.1 Limiti della diagnosi clinica e colposcopica	19
3.2 Criteri di diagnosi istologica nell'adenocarcinoma in situ.....	20
3.3 Atipie ghiandolari che non soddisfano i criteri per il classico Adeocarcinoma in situ: il concetto di "Displasia ghiandolare"	22
3.4 Diagnosi differenziale dell'Adenocarcinoma in situ (tab. 3.4.1).....	24
3.4.1 <i>Metaplasia tubarica ed endometriale</i>	24
3.4.2 <i>Endometriosi cervicale</i>	25
3.4.3 <i>Reazione cervicale Arias – Stella e altre alterazioni cervicali correlate alla gravidanza.</i> 26	26
3.4.4 <i>Effetti delle radiazioni e della cauterizzazione</i>	27
3.4.5 <i>Cerviciti e alterazioni epiteliali reattive</i>	27
3.4.6 <i>Atipia ghiandolare secondaria a infezione da herpes virus e citomegalovirus (CMV)</i>	27
3.5 Trattamento dell'Adenocarcinoma in situ.....	28

CAPITOLO 4	33
4 ADENOCARCINOMA MICROINVASIVO.....	33
4.1 Introduzione.....	33
4.2 Anatomia Patologica	34
4.3 Diagnosi e management.....	36
CAPITOLO 5	41
5 DIAGNOSI E MANAGEMENT DELL'ADENOCARCINOMA DELLA CERVICE... 41	
5.1 Adenocarcinoma endocervicale (mucinoso)	42
5.1.1 Tipo comune.....	42
5.1.2 Adenoma maligno (a deviazione minima).....	42
5.2 Adenocarcinoma endometriode	44
5.2.1 Tipo comune.....	44
5.2.2 Adenocarcinoma a deviazione minima di tipo endometriode	45
5.3 Adenocarcinoma Intestinale.....	46
5.4 Carcinoma Adenosquamoso	46
5.4.1 Tipo classico	46
5.4.2 Carcinoma adenosquamoso a cellule glassy e carcinoma adenosquamoso a cellule chiare	47
5.5 Adenocarcinoma Villoghiandolare ben differenziato	48
5.6 Carcinoma a cellule chiare.....	49
5.7 Carcinoma Sieroso	50
5.8 Carcinoma adenocistico e adenobasale.....	51
5.9 Adenocarcinoma Mesonefrico	53
5.10 Adenocarcinoma Metastatico alla cervice	54
5.11 Lesioni Benigne che possono simulare un Adenocarcinoma cervicale.....	57
5.11.1 Cisti profonde di Naboth, Ghiandole floride profonde.....	57
5.11.2 Tunnel clusters.....	58
5.11.3 Iperplasia ghiandolare endocervicale.....	58
5.11.4 Endocervicosi, Endosalpingiosi cistica florida.....	59
5.11.5 Papilloma Mülleriano.....	59
5.11.6 Iperplasia Microghiandolare	60
5.11.7 Iperplasia Mesonefrica.....	61
5.11.8 Prostata ectopica.....	62
5.11.9 Metaplasia tuboendometriode profonda	62
5.11.10 Adenoma Villosa	63
5.12 Management e Prognosi dell'Adenocarcinoma della cervice uterina.....	63
5.12.1 Diffusione metastatica	63
5.12.2 Stadiazione.....	64
5.12.3 Trattamento.....	65
CAPITOLO 6	67
6 STUDIO SPERIMENTALE	67
6.1 Obiettivi dello studio	67
6.2 Materiali e Metodi.....	68
6.2.1 Le pazienti e il loro management.....	68
6.2.2 Istopatologia	69
6.2.3 HPV DNA test	70
6.3 Risultati	71
6.4 Discussione e Conclusioni	77
BIBLIOGRAFIA.....	83

CAPITOLO 1

1 INTRODUZIONE

1.1 Adenocarcinoma in situ: il precursore della neoplasia ghiandolare della cervice.

Il concetto di adenocarcinoma cervicale preinvasivo fu proposto nel 1952 da Helper et al., in seguito al riesame di una serie di adenocarcinomi cervicali invasivi. Successivamente Friedell e McKay coniarono la definizione di adenocarcinoma in situ (AIS), sulla base di due casi istologicamente simili a quelli descritti da Helper, associati a neoplasia squamosa, nel 1953¹. Nei decenni seguenti, mentre si arricchivano le conoscenze sulla storia naturale del carcinoma squamocellulare cervicale, l'AIS rimaneva un argomento tutt'altro che definito. Infatti l'AIS fu descritto dettagliatamente da Jaworski², con uno studio condotto su 72 pazienti, solo negli anni '80. Oggi l'AIS è considerato il precursore dell'adenocarcinoma invasivo sulle basi delle osservazioni seguenti:

- 1) Le cellule dell'AIS appaiono neoplastiche e l'AIS si trova spesso adiacente ad adenocarcinomi microinvasivi^{3,4}
- 2) Il papilloma virus umano (HPV) viene evidenziato nella maggior parte dei casi di AIS con frequenze e genotipi simili (soprattutto i tipi 16 e 18) sia nell'AIS che nell'adenocarcinoma invasivo⁵.
- 3) Studi retrospettivi su biopsie e Pap test, eseguiti precedentemente al manifestarsi di un adenocarcinoma

invasivo, hanno evidenziato casi di AIS inizialmente non diagnosticati^{6,7}.

- 4) L'età media d'insorgenza è di 38 anni nell'AIS, di circa 42 anni nell'adenocarcinoma microinvasivo³.
- 5) Sono stati identificati, sia nell'AIS che nell'adenocarcinoma invasivo, alcuni marcatori di alterata regolazione del ciclo cellulare, quali la sovra espressione della ciclina p16^{ink4a}⁸, e di aumentato turnover cellulare come la proteina Ki-67⁹. Sono state inoltre riscontrate alterazioni strutturali in alcune glicoproteine di membrana che regolano l'adesività intercellulare, fra le quali la CD 44, non rilevabili nelle cellule endocervicali normali o nei processi benigni che possono simulare l'AIS.

1.2 Identificazione delle donne a rischio per neoplasia ghiandolare della cervice

Almeno il 90% degli adenocarcinomi cervicali contiene il Papillomavirus umano (HPV): difatti uno studio⁵ ha dimostrato la presenza dei tipi 16, 18 e 45 rispettivamente nel 50, 40 e 10% di questi tumori. Pertanto, come nel carcinoma squamoso, l'HPV è il più importante fattore di rischio per l'adenocarcinoma cervicale⁵. Comunque diverse caratteristiche differenziano questi due tipi di neoplasie:

- 1) *L'incidenza dell'adenocarcinoma della cervice è in aumento rispetto al carcinoma squamoso.*

Mentre negli anni '50 e '60 del secolo scorso l'adenocarcinoma rappresentava il 5% dei tumori della cervice, dagli anni '70 la frequenza dell'adenocarcinoma è aumentata negli USA e negli altri paesi occidentali, dove rappresenta il 20-25% di tutti i

tumori invasivi della cervice^{10,11}. In uno studio canadese, Liu et al hanno notato che dal 1970 al 1996 l'incidenza del carcinoma squamoso si è ridotta dal 14,4 al 6,6 per 100.000, mentre l'incidenza dell'adenocarcinoma è aumentata dall'1,3 all' 1,8¹².

2) *Non tutti gli adenocarcinomi sono associati all'HPV*

Ci sono differenti sottotipi di adenocarcinomi che presentano eziologia e storia naturale probabilmente diversi.

Ad esempio, l'HPV è di riscontro raro in adenocarcinomi poco frequenti come quello a deviazione minima⁵. Anderson et al hanno constatato che gli adenocarcinomi HPV positivi erano età-correlati : si va dall'89% delle donne al di sotto dei 40 anni al 42% delle donne sopra i 60¹³.

3) *A differenza del carcinoma squamoso, il fumo di sigaretta non è implicato come fattore di rischio per l'adenocarcinoma¹⁴.*

4) *La maggior parte dei ricercatori sostiene che esiste una relazione fra l'adenocarcinoma e i suoi precursori - in generale e tra le donne HPV positive - e l'uso di contraccettivi orali.*

L'associazione è più marcata di quella osservata nel carcinoma squamoso e, secondo alcuni studi, aumenta con la durata del trattamento e in corso di terapia¹⁵. Comunque un' analisi condotta su donne in età post-menopausale non mette in relazione l'adenocarcinoma cervicale con la sostituzione ormonale¹⁶.

I dati finora menzionati suggeriscono che sono diversi i fattori che espongono la donna a rischio di adenocarcinoma. Fra questi: esposizione all'HPV (specialmente de tipi 18, 16, 59, 33, oltre che 35, 45, 51 e 58), giovane età, bassa scolarizzazione, basso livello socio-economico, sieropositività per HSV-2, l'uso per lunghi periodi di contraccettivi orali. Una correlazione più debole è stata riscontrata tra l'adenocarcinoma e l'alta parità, limitatamente alle donne esposte all'HPV. Rimane comunque oscuro il meccanismo attraverso il quale

questi fattori aumentano il rischio di neoplasia ghiandolare rispetto alla neoplasia squamosa¹⁰¹.

Un fattore che non è stato ancora vagliato è la relazione tra gli estrogeni e la zona di trasformazione cervicale. Studi condotti su topi hanno dimostrato un notevole aumento nella proliferazione ghiandolare e squamosa in seguito alla somministrazione di estrogeni, scenario simile a quello che nelle donne molto giovani segue il menarca¹⁷. Negli umani è stata descritta una relazione fra la proliferazione di cellule colonnari nella cervice (alterazioni microghiandolari) e stimoli ormonali¹⁸.

Tuttavia non sono ancora stati determinati definitivamente gli effetti locali degli estrogeni, la cui importanza è legata al fatto che influenzano la proliferazione delle cellule colonnari soggette all'infezione da HPV¹⁹.

CAPITOLO 2

2 PRINCIPI DI CITOLOGIA NELLA DIAGNOSI DI NEOPLASIA GHIANDOLARE

2.1 Introduzione

Le diagnosi di ‘cellule endocervicali atipiche’, ‘adenocarcinoma in situ’ e ‘adenocarcinoma’ rappresentano condizioni di gravità crescente e richiedono un’interpretazione citologica molto attenta.

Dal punto di vista citologico la diagnosi differenziale fra tali lesioni risulta difficile: per tale motivo si rende necessaria l’esecuzione dell’esame colposcopico e della biopsia a cono, con lo scopo di escludere una neoplasia ghiandolare invasiva.

Tale condotta si differenzia dall’inquadramento delle lesioni squamose, che prevede principalmente l’esame citologico, eventualmente integrato dalla ricerca dell’HPV-DNA, e la colposcopia, seguita da eventuale biopsia mirata; alla biopsia conica viene riservato in questo ambito un ruolo prevalentemente terapeutico, una volta formulata la diagnosi. Viene di seguito riportata la diagnosi differenziale citologica delle cellule ghiandolari anomale nel Pap test (tab. 2.1.1).

Tabella 2.1.1 Diagnosi differenziale citologica delle cellule ghiandolari anomale nel Pap test

Diagnosi differenziale citologica delle cellule ghiandolari anomale nel Pap test
Lesioni Neoplastiche
<ul style="list-style-type: none">▪ Adenocarcinoma in situ▪ Adenocarcinoma cervicale▪ Lesione intraepiteliale squamosa di alto grado▪ Iperplasia/carcinoma endometriale▪ Adenocarcinoma extrauterino
Lesioni Non neoplastiche
<ul style="list-style-type: none">▪ Metaplasia tubarica▪ Campione diretto di segmento inferiore dell'endometrio▪ Endometrio mestruale▪ Lesioni endocervicali reattive (cerviciti, iperplasia microghiandolare, Arias–Stella, effetti delle radiazioni)▪ Atrofia

La prevenzione dell'adenocarcinoma della cervice consiste nella diagnosi e nella cura dell'AIS, il suo precursore. Tuttavia il Pap test non possiede analoga sensibilità e specificità nella diagnosi dei precursori ghiandolari rispetto a quelle dimostrate verso quelli squamosi.

La carenza di sensibilità del Pap test, che varia dal 55% al 70% per l'AIS²⁰ e dal 45% al 76% per l'adenocarcinoma invasivo⁶ è correlata a diversi fattori, fra i quali la localizzazione e la topografia delle lesioni, spesso endocervicali, con conseguente difficoltà nel campionamento del materiale citologico, e la sottostima delle anomalie ghiandolari: a seguito di un'analisi retrospettiva di pap test inizialmente considerati negativi, in donne che a posteriori hanno sviluppato AIS o adenocarcinoma invasivo^{6,20}, si è constatata una frequenza di falsi negativi che varia dal 40% al 50%. Questi risultati hanno trovato

conferma in ulteriori studi⁷. Inoltre, la relativa scarsa frequenza della patologia ghiandolare ostacola il raggiungimento da parte del citopatologo di una esperienza sufficiente a riconoscere le corrispettive anomalie citologiche. Sul versante della specificità, una serie di cause può indurre a porre una diagnosi citologica errata di anomalia ghiandolare: tra esse vanno annoverate la presenza del cellule metaplasiche reattive, atrofia, effetti da radioterapia pregressa chemioterapia. Talvolta la distinzione fra cellule ghiandolari benigne e maligne risulta realmente difficoltosa, e sovente risulta arduo indicare la provenienza delle cellule anomale (endocervicale, endometriale o altra origine)¹⁰².

2.2 Criteri di diagnosi dell'Adenocarcinoma in situ

Le cellule dell'AIS si aggregano in gruppi di elementi ammassati ipercromatici. Gli elementi caratterizzanti le cellule ghiandolari endocervicali in questi gruppi sono:

1. “strisce” di cellule colonnari con nuclei basali e ammassati e citoplasma chiaro, schiumoso o vacuolato.
2. aspetto a fogliame (l'asse maggiore delle cellule periferiche al gruppo risulta perpendicolare al perimetro, di conseguenza i nuclei e piccole parti di citoplasma protrudono radialmente).
3. Rosette (strutture ghiandolari con nuclei orientati radialmente intorno a uno spazio centrale).

Gli aspetti neoplastici del nucleo sono essenziali per la conferma della diagnosi. Nell'AIS solitamente c'è un estremo addensamento nucleare con nuclei disposti “ a stampo” gli uni attorno agli altri. I nuclei hanno dimensioni lievemente maggiori, ovoidali o irregolari e ipercromatici, con cromatina dispersa sia diffusamente che a zolle. I nucleoli solitamente non sono molto evidenti ma in alcuni casi lo possono essere.

Le figure mitotiche si riscontrano in circa il 40 % dei casi ma spesso solo dopo una ricerca minuziosa

In preparazioni su strato sottile, i gruppi di cellule dell'AIS sono più piccoli e gli aspetti tipici, quali le strisce di cellule colonnari e le rosette, non sono tanto evidenti; inoltre i nucleoli sono più in risalto. Comunque l'addensamento cellulare e l'aspetto a fogliame si evidenziano anche in questo tipo di preparazione. Anche la cromatina rimane a zolle rispetto a quella delle normali cellule endocervicali. In definitiva la valutazione e l'attenta osservazione di tutti gli aspetti presi finora in considerazione possono rendere l'interpretazione citologica più specifica per l'AIS.

2.3 Aspetti citologici nell'Adenocarcinoma invasivo

2.3.1 Presentazione dello striscio

Nell'adenocarcinoma invasivo lo striscio presenta caratteristiche maggiormente variabili rispetto a quelle dell'AIS, poiché esse dipendono dal tipo cellulare e dal grado di tale neoplasia. L'adenocarcinoma invasivo, ma soprattutto il microinvasivo, è spesso caratterizzato dall'assenza di uno sfondo ematico o necrotico, anche se ciò non è sufficiente per confermare un eventuale invasione. D'altro canto uno striscio ematico, con pochi gruppi di cellule mal conservati, non deve essere ritenuto come insoddisfacente e quindi non esaminato attentamente, poiché alcuni adenocarcinomi avanzati presentano questo quadro.

2.3.2 Pattern cellulare

Solitamente nell'adenocarcinoma i raggruppamenti cellulari sono numerosi, simili fra di loro e non presentano la struttura ordinata a nido d'ape tipica delle cellule endocervicali normali o reattive.

L'invasione è caratterizzata da ampie ramificazioni o gruppi papillari anche se costituita da cellule simili a quelle dell'AIS. In alcuni casi predominano cellule singole e gruppi di cellule molto piccoli.

2.3.3 Caratteristiche cellulari

Queste cellule sono solitamente più grandi di quelle dell'AIS. Il citoplasma può essere pallido, eosinofilo e talvolta vacuolato. A seconda dei casi, la cromatina nucleare può essere vescicolare a zolle, i nucleoli possono essere assenti o prominenti e le figure mitotiche frequenti o scarse.

2.3.4 Somiglianze con cellule reattive epiteliali

Alcuni casi di adenocarcinomi ben differenziati si possono distinguere dalle cellule endocervicali reattive per alcune caratteristiche citologiche. La probabilità di riscontrare un carcinoma aumenta in presenza di numerosi gruppi di cellule simili e di cellule ghiandolari lievemente atipiche. Sottotipi specifici di adenocarcinoma, come l'adenoma maligno, il villoghiandolare ben differenziato o il sieroso, possono presentare alcune peculiarità. Queste sono così importanti che il loro riconoscimento suggerisce immediatamente l'eventuale presenza di un carcinoma. Comunque, i sottotipi di adenocarcinoma non possono essere identificati con certezza solo sulle basi del loro aspetto citologico.

2.4 Falsi negativi

L'errore più significativo può consistere nel di confondere l'AIS o l'adenocarcinoma per un processo benigno. Solitamente questo accade perché le cellule vengono scambiate per cellule endometriali o endocervicali reattive^{6,20}.

2.4.1 AIS confuso con cellule endometriali o mestruali

Nell'AIS, come nell'endometrio mestruale, le cellule sono estremamente fitte ma presentano, a differenza di quest'ultimo, nuclei ben preservati, un lieve aspetto a fogliame e piccole rosette. L'assenza di frammenti di stroma endometriale e la presenza di cellule in lamine a nido d'ape o gruppi tubulari tridimensionali, ci indirizzano verso l'esclusione di una diagnosi di cellule endometriali.

2.4.2 AIS o adenocarcinoma confusi per cellule endocervicali reattive

Nell'AIS o nell'adenocarcinoma la proliferazione cellulare patologica è relativamente monomorfa a differenza di quanto accade per le cellule endocervicali reattive. I gruppi neoplastici presentano nuclei sovrapposti e molto addensati, cromatina a zolle e nucleoli piccoli o prominenti. In effetti in alcuni casi, questa distinzione è molto difficile. Strisci che presentano solo cellule endocervicali lievemente atipiche o strisci ematici con solo poche cellule atipiche sono due patterns di adenocarcinomi che spesso non vengono diagnosticati.

2.5 Falsi positivi

Un errore ancora più comune è quello di confondere le lesioni benigne con un AIS o un adenocarcinoma.

2.5.1 Metaplasia tubulare/ tubuloendometriale

La lesione benigna che più comunemente può essere confusa con l'AIS è la metaplasia tubulare, in cui le cellule presentano dimensioni e addensamento superiori alla norma ma di entità inferiore rispetto a quelle osservate nell'AIS. La cromatina nucleare è più dispersa che nell'AIS e l'aspetto a fogliame e le rosette sono assenti. Le cilia citoplasmatiche sono un aspetto distintivo della metaplasia tubulare

ma spesso sono difficili da visualizzare. Per tale ragione, è necessario individuare i processi citoplasmatici “hair-like” e distinguerli da frammenti di preparato che possono essere facilmente confusi con le cilia. La sola presenza di cilia non è sufficiente ad escludere una neoplasia, poiché esistono anche rare varianti ciliate di AIS.

2.5.2 Prelievo da segmento inferiore dell'endometrio

Anche se è insolito trovare nello striscio cellule provenienti direttamente dal segmento inferiore dell'endometrio, ciò può accadere in donne che hanno subito una conizzazione, specie se eseguita a lama fredda. Queste cellule appaiono in frammenti simili a quelli dell' AIS e possono comprendere elementi con figure mitotiche. Comunque nella porzione più bassa dell'endometrio gli elementi cellulari sono disposti in lamine piane o tubulari tridimensionali senza aspetto a fogliame o rosette. Le cellule sono piccole, uniformi e regolarmente disperse con cromatina nucleare densa o dispersa (inchiostro India). Un indizio importante è rappresentato dalla presenza di gruppi di elementi stromali (grovigli di cellule fusate con nuclei lievemente ovali e citoplasma a ciuffi) sia adiacenti alle cellule epiteliali che indipendenti da queste.

2.5.3 Cellule endometriali mestruali

Non deve sorprendere che, in alcuni casi, clusters di cellule mestruali endometriali possano essere difficilmente distinte da un AIS (o da una lesione intraepiteliale squamosa di alto grado - HSIL). Talvolta ci si imbatte in ampi frammenti endometriali pseudopapillari che sono estremamente simili ad un adenocarcinoma. In queste situazioni, come in tutti i casi di difficile interpretazione citologica, è di fondamentale importanza valutare le cellule sospette all'interno dell'intero spettro di cellule presenti nello striscio. La maggior parte dei raggruppamenti di cellule endometriali mestruali presentano nuclei molto piccoli con

citoplasma scarso o assente e frammenti nucleari picnotici sparsi, oppure si presentano in gruppi molto stretti di cellule stromali, circondati da cellule epiteliali più grandi. E' presente ipercromasia, ma è degenerativa con cromatina densa, sparsa o a collana di perle. Sono peraltro assenti le tipiche caratteristiche dell'AIS: l'aspetto a fogliame, le rosette e le strisce di cellule colonnari.

2.5.4 Cellule endocervicali reattive

Le cellule endocervicali reattive a cerviciti, a polipi endocervicali, a iperplasia microghiandolare, a irraggiamento dell'endocervice o la reazione Arias-stella possono ricordare l'AIS o l'Adenocarcinoma. Diversamente dalla neoplasia, nelle cerviciti e nei polipi, si trovano lamine di cellule di riparazione che contengono nuclei distribuiti uniformemente con cromatina dispersa, nucleoli talvolta prominenti e delicate membrane nucleari. Le dimensioni dei nuclei sono variabili.

2.5.5 Atrofia

Oltre il ben noto problema dell'Atipia nucleare benigna nell'atrofia che imita la displasia squamosa, le cellule atrofiche possono anche espellere tutto o parte del loro citoplasma e aggregarsi in gruppi pseudoghiandolari che possono essere confusi per cellule endometriali, carcinoma endometriale o anche carcinoma metastatico. I nuclei atrofici sono piccoli e uniformi. E' importante sottolineare come tali nuclei siano identici a quelli delle cellule integre o delle cellule presenti nel background e che hanno perso solo parte del loro citoplasma.

2.6 Errori di diagnosi: HSIL confuso per AIS

La lesione intraepiteliale squamosa di alto grado (HSIL) è la malattia pre-neoplastica che viene più frequentemente confusa con l'AIS. La

maggioranza delle biopsie che contengono una lesione pre-neoplastica, manifestatasi dopo precedenti atipie ghiandolari al Pap test, evidenziano la presenza di HSIL senza AIS²¹. In una HSIL somigliante ad un AIS, le cellule anomale possono evidenziarsi sia in gruppi di cellule ammassate con nuclei ipercromatici e scarso citoplasma, sia in gruppi di cellule disperse con citoplasma chiaro e leggermente vacuolato; entrambi questi aspetti mimano una differenziazione ghiandolare. Comunque l'assenza di forme distintamente colonnari, dell'aspetto a fogliame pronunciato e delle rosette non conferma la differenziazione ghiandolare. Come regola generale si assume che , se esiste anche una piccola incertezza fra un HSIL e un AIS, verosimilmente sarà un HSIL. Inoltre è più frequente confondere l'HSIL similghiandolare con cellule ghiandolari reattive piuttosto che con quelle neoplastiche (similmente al problema dell'interpretazione di falsi negativi con l'AIS precedentemente esposto).

2.7 Cellule Ghiandolari atipiche di significato indeterminato (AGUS)

2.7.1 Generalità

Le frequenze di cellule ghiandolari atipiche di significato indeterminato (AGUS) , riportate dai vari laboratori, variano dallo 0,08 % allo 0,74%²¹. L'interpretazione di AGUS è difficilmente riproducibile a prescindere dall'ampia variabilità nella sensibilità. In due studi retrospettivi relativi a strisci inizialmente interpretati come AGUS, gli autori non solo (nella maggioranza dei casi) erano in disaccordo con la diagnosi iniziale di AGUS, ma erano in disaccordo anche tra loro stessi relativamente a quali casi di AGUS dovessero ricevere conferma di diagnosi²¹. Per di più diversi casi, che in seguito a questi studi erano stati riclassificati come benigni da alcuni

ricercatori, erano in realtà lesioni ghiandolari o squamose di alto grado. Comunque, come abbiamo visto, nel follow up che segue la diagnosi di AGUS, la biopsia mostra una lesione squamosa di alto grado piuttosto che una lesione ghiandolare. Pertanto l'interpretazione di un AGUS allo striscio, sebbene manca sia di specificità che di riproducibilità, conduce a un significativo rischio di lesione di alto grado. Alla luce di questo, le linee guida del 2001, sul follow up dopo il Pap test, consigliano la colposcopia e la biopsia nei casi in cui si sia fatta diagnosi allo striscio di “cellule ghiandolari atipiche” o “cellule endocervicali atipiche”²². La terminologia usata nella classificazione di Bethesda 2001 per le lesioni ghiandolari, a differenza di quella precedente del 1991, elimina il concetto di “significato indeterminato”: per tale motivo si parla oggi di cellule ghiandolari atipiche (AGC) e non più di AGUS (atypical glandular cells of undetermined significance) (tabella 2.7.1.1)

Tabella 2.7.1.1 Bethesda 2001: Terminologia utilizzata nel Pap test per le cellule atipiche similghiandolari

Bethesda 2001: Terminologia utilizzata nel Pap test per le cellule atipiche similghiandolari
Anomalie cellulari epiteliali
Cellule ghiandolari
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Cellule ghiandolari atipiche (AGC) (specificare se endocervicali, endometriali o non altrimenti specificato) ▪ Cellule ghiandolari atipiche vs neoplastiche (specificare se endocervicali o non altrimenti specificato) ▪ Adenocarcinoma endocervicale in situ (AIS) ▪ Adenocarcinoma (specificare se endocervicale, endometriale, extrauterino o non altrimenti specificato)

Inoltre l'adenocarcinoma endocervicale in situ è diventata una categoria diagnostica separata, dal momento che è stata maturata maggiore esperienza riguardo i suoi aspetti citologici.

2.7.2 Interpretazione delle anomalie ghiandolari cervicali con l'uso di preparazioni in fase liquida (Liquid-based)

L'applicazione delle preparazioni in fase liquida è limitata, sia a causa dell'introduzione relativamente recente di questi metodi che della bassa frequenza delle lesioni ghiandolari. In piccoli studi di follow up è stato usato il sistema Thin Prep® (Cytic, Boxborough, MA, USA), per confrontare l'accuratezza di questo metodo, rispetto allo striscio convenzionale, nell'evidenziare le cellule ghiandolari anomale. In uno studio il Thin Prep® si è rivelato più sensibile e specifico²³, in altri due studi solo più specifico^{24,25}, in un altro ancora simile alle preparazioni convenzionali²⁶.

2.7.3 Test HPV dopo diagnosi di 'cellule ghiandolari o endocervicali atipiche'

Due studi hanno evidenziato come la presenza di genotipi di HPV ad alto rischio (HR-HPV) sia altamente predittiva di lesioni ad alto grado (sia ghiandolari che squamose) dopo diagnosi citologica di AGC, e come i falsi negativi siano poco frequenti. Ricordiamo però che, in alcuni casi, le cellule ghiandolari atipiche derivano da carcinomi dell'endometrio, delle tube o delle ovaie, che non sono correlate all'infezione da HPV²⁷, e che una piccola parte di adenocarcinomi in situ e adenocarcinomi cervicali invasivi sono HPV negativi (4 casi in 244 pazienti)⁵. In presenza di una ricerca con esito negativo di HR-HPV DNA, la tendenza sarebbe quella di non eseguire la colposcopia o la biopsia dell'endometrio dopo uno striscio positivo per "cellule atipiche endocervicali" o "cellule ghiandolari atipiche"; questo atteggiamento potrebbe però condurre in alcuni casi ad una mancata diagnosi di lesioni più severe.

CAPITOLO 3

3 DIAGNOSI E MANAGEMENT DELL'ADENOCARCINOMA IN SITU

3.1 Limiti della diagnosi clinica e colposcopica

Diversamente dalle lesioni squamose della cervice, i criteri di diagnosi colposcopica per l'AIS non sono ben definiti e, dopo una diagnosi citologica di cellule ghiandolari atipiche o AIS, non ci si può affidare alla sola colposcopia per escludere un processo neoplastico. Comunque, nella maggior parte delle donne affette da AIS il riscontro di un'anomalia colposcopica è la regola. In uno studio, l'esame colposcopico è risultato essere anomalo in 67 donne (il 74%) su 90 con AIS, ed esisteva il sospetto di atipia ghiandolare, già prima della colposcopia, solo in 19 (28%) di queste²⁸. Come già detto, solo una minoranza dei Pap test positivi per AGC troveranno poi conferma di atipia ghiandolare all'istologia. Analizzando le biopsie eseguite nel follow up di 16 casi di AGUS, "favor reactive" o AGUS "not specified"²¹, si è rilevato che solo il 38% delle pazienti era affetta da AIS o adenocarcinoma cervicale invasivo, mentre il 39% presentava un carcinoma endometriale e il 25% una neoplasia cervicale intraepiteliale (CIN), perlopiù di alto grado. D'altra parte nei casi di AGUS "favor neoplastic" il 62% delle pazienti era affetta da AIS o un adenocarcinoma invasivo, e un ulteriore 18% da CIN.

3.2 Criteri di diagnosi istologica nell'adenocarcinoma in situ

L'adenocarcinoma in situ può coinvolgere diffusamente l'endocervice, ma interessa più spesso la zona di trasformazione o la giunzione squamo-cilindrica, e origina frequentemente dalle cellule colonnari o dalle cellule di riserva delle zone di differenziazione ghiandolare HPV positive (figura 3.2.1). L'AIS si estende dall'epitelio di superficie fino alle ghiandole sottostanti, talvolta con un distacco improvviso dalle cellule normali nella porzione più profonda della ghiandola². Può anche estendersi circonferenzialmente intorno alla cervice ed in prossimità del canale cervicale, talvolta sino all'endometrio. Raramente l'AIS può insorgere anche nella porzione più alta del canale cervicale e può essere multifocale². Quasi sempre l'AIS è adiacente ad una CIN e prossimale a questo tanto che la compresenza di una CIN 2+ si riscontra in circa il 50% dei casi.

Caratteristiche tipiche sono:

- 1) Assembramento di cellule epiteliali, con stratificazione o pseudostratificazione.
- 2) Ingrandimento dei nuclei, che possono essere più grandi, ovali, allungati o irregolari
- 3) Ipercromasia nucleare evidente con cromatina a zolle: i nucleoli sono di solito piccoli o assenti, ma in alcuni casi possono essere prominenti.
- 4) Figure mitotiche: queste sono costantemente presenti, si visualizzano spesso al polo luminale delle cellule e se ne osservano uno o due ogni 5 campi ad alto ingrandimento⁹.
- 5) Corpi apoptotici: localizzati nella porzione basale della ghiandola, sono presenti in circa il 70% dei casi; essi non debbono essere confusi con i leucociti in degenerazione

6) Profonde alterazioni nell'architettura tissutale, che talvolta consistono in una crescita papillare o cribriforme intraghiandolare che suggerisce un carcinoma invasivo. L'interfaccia stromale delle ghiandole, nell'AIS, mantiene comunque le sembianze della ghiandola benigna d'origine. Lo stroma sottostante l'AIS può contenere un infiltrato flogistico acuto o cronico, la cui presenza di per se non implica necessariamente l'esistenza di una lesione invasiva.

Esistono inoltre diversi sottotipi di AIS, talvolta presenti nello stesso caso², che è importante saper riconoscere e diagnosticare come tali; essi comunque non sembrano differire nella loro capacità di invasione.

Si possono così osservare:

- 1) *Tipo endocervicale*: il più comune e cosiddetto per la sua somiglianza con le cellule endocervicali.
- 2) *Tipo endometroide*: presenta una maggior stratificazione nucleare e meno citoplasma, ricorda le ghiandole endometriali neoplastiche.
- 3) *Tipo intestinale*: si distingue per la caratteristica presenza di cellule caliciformi. In questa variante vi è un minore affollamento nucleare e ipercromasia, elementi che rendono la diagnosi più difficile, comunque la sola differenziazione intestinale è un importante indizio di AIS, poiché la metaplasia intestinale benigna della cervice è rara.
- 4) *Tipo tubarico*: questa diagnosi può essere fatta solo se ci sono inequivocabili aspetti nucleari di AIS, comprese le figure mitotiche, poiché la maggior parte delle lesioni ciliate non sono neoplastiche.
- 5) *Tipo stratificato*: A basso ingrandimento la lesione appare simile alla lesione intraepiteliale squamosa ma, ad un'attenta osservazione, le cellule neoplastiche stratificate contengono

mucina intracellulare. Questa variante può essere una forma di carcinoma adenosquamoso in situ, ma molti casi, con una concomitante invasione, necessitano un'esame più approfondito. Questi vengono definiti "AIS, variante stratificata".

Il carcinoma adenosquamoso in situ, che contiene una differenziazione squamosa e una ghiandolare intimamente mescolate nello stesso focus, è raro. Non esiste ancora una precisa descrizione delle lesioni precoci dei sottotipi più rari dell'adenocarcinoma come l'adenoma maligno, il carcinoma a cellule chiare o il carcinoma sieroso.

3.3 Atipie ghiandolari che non soddisfano i criteri per il classico adenocarcinoma in situ: il concetto di "displasia ghiandolare"

Occasionalmente si possono osservare atipie ghiandolari non infiammatorie, caratterizzate da una minore stratificazione e affollamento cellulare rispetto al classico AIS. Questo ha indotto alcuni autori a pensare che, così come la neoplasia squamosa preinvasiva della cervice si sviluppa generalmente attraverso le fasi di "basso" e successivamente di "alto" grado, anche l'AIS possa presentare una evoluzione simile. Questo tipo di lesioni è stato variamente definito come "displasia ghiandolare", "neoplasia ghiandolare intraepiteliale cervicale" (CGIN) o "iperplasia". In realtà non c'è molta chiarezza su quale sia la natura dei precursori dell'AIS: le atipie di basso grado o l'AIS nella sua variante meno tipica, ovvero alcune lesioni non neoplastiche che si avvicinano morfologicamente all'AIS. Usando markers quali l'HPV⁹, il MIB-1/Ki-67⁹, le lectine e mucine citoplasmatiche e la p16^{ink4a}⁸, si è visto che tali lesioni "meno atipiche" marcano in maniera simile all'AIS, soprattutto se presenti

nel contesto di un AIS più classico o in preparati contenenti lesioni precoci squamose di alto grado. Pertanto nei referti diagnostici, si consiglia di usare il termine unico di adenocarcinoma in situ per indicare quelle lesioni che da altri autori vengono definite come "displasia" endocervicale ad alto grado o "CGIN" e displasia endocervicale di basso grado. Questo sia per evitare di creare confusione nella terminologia, sia per evitare una sottostima dei precursori neoplastici in termini di diagnosi e trattamento. In sostanza, questo approccio si basa sull'assunzione che alcuni AIS manifesteranno solo una piccola parte degli aspetti diagnostici sopra menzionati. L'atipia ciliata è un'eccezione, come già detto: infatti si pensa che la diagnosi della rara variante tubarica di AIS richieda la presenza di aspetti diagnostici differenti da quelli del classico AIS senza ciglia, allo scopo di distinguerla dalla metaplasia tuboendometriale atipica. Nel caso di atipie ghiandolari cervicali particolarmente difficili da definire, conviene aggiungere nel referto un commento chiarificatore o eseguire ulteriori studi di approfondimento.

In casi selezionati per esempio può essere utile valutare la positività all'HPV, alla p16^{ink4a} o l'immunoreattività del MIB1. Comunque non bisogna dimenticare che alcuni adenocarcinomi cervicali invasivi sono HPV-negativi e che l'elevata reattività del MIB1 e della p16^{ink4a} possono essere presenti in alcune atipie ghiandolari benigne e assenti in alcune neoplasie^{8,9,29}.

3.4 Diagnosi differenziale dell'adenocarcinoma in situ (tab. 3.4.1)

Tabella 3.4.1 Criteri di diagnosi istologica per l'adenocarcinoma in situ (AIS) e potenziali errori di diagnosi

Criteri di diagnosi istologica per l'adenocarcinoma in situ (AIS) e potenziali errori di diagnosi	
Criteri di diagnosi per l'AIS	Condizioni benigne (criteri di esclusione)
Affollamento cellulare	Metaplasia tubarica, endometriosi (cellule intercalate, cilia, minor affollamento e stratificazione)
Ipercromasia	Metaplasia tubarica, endometriosi (cellule intercalate, cilia, affollamento e stratificazione)
Allargamento nucleare	Alterazioni endocervicali reattive : cerviciti, radiazioni, Arias–Stella, atipia ossifila (multinucleazione, polimorfismo, ipercromasia minima, nuclei vacuolati, citoplasma vacuolato o eosinofilo)
Mitosi	Osservate occasionalmente nell'endocervice non interessata da flogosi (altri aspetti assenti) endometriosi (stroma endometriale, pseudostratificazione, nuclei uniformi)
Apoptosi	Endometriosi (non comune)
Cellule calciformi	Metaplasia intestinale benigna (rara, nessuna mitosi)
Architettura complessa	Enocervicite papillare (assenza di atipia citologica), Arias–Stella (nuclei vacuolati, cellule hobnail)

3.4.1 Metaplasia tubarica ed endometriale

La metaplasia tubarica ed endometriale, riscontrata dal 30% al 100% delle cervici completamente sezionate, sono facilmente confuse con l'AIS. Nella prima le cellule sono simili a quelle tubariche; nella seconda assomigliano a quelle di ghiandole endometriali proliferative.

Frequentemente, le due si mescolano, giustificando la definizione di metaplasia “tuboendometrioides” (TEM).

La TEM somiglia all’AIS poiché i nuclei sono ingranditi, più scuri e più addensati rispetto alle normali ghiandole endocervicali.

Comunque la stratificazione nucleare, l’irregolarità e l’ipercromasia sono meno pronunciate che nell’AIS e le cilia sono più frequenti. Per di più nella TEM le figure mitotiche o i corpi apoptotici sono rari o assenti e non si osserva la crescita cribiforme e papillare talvolta presente nell’AIS. La TEM spesso (ma non sempre) è localizzata più in alto nel canale cervicale rispetto all’AIS, coinvolge le ghiandole in profondità più che in superficie e occupa l’intera ghiandola e non solo una parte come nell’AIS. In particolari casi può essere d’aiuto l’utilizzo del marker MIB1 (assente o raro nel TEM e positivo nel 25% dei casi di AIS).

3.4.2 Endometriosi cervicale

L’endometriosi può coinvolgere la cervice sia in profondità che in superficie. Talvolta, dopo una biopsia a cono, la mucosa squamosa in rigenerazione intrappola sotto di sé le ghiandole endometriali. Il tipico stroma endometriale può essere diminuito, nascosto da cellule infiammatorie oppure può mescolarsi con la stroma cervicale. Le ghiandole sono disposte lungo la stessa linea delle cellule epiteliali, queste ultime sono stratificate e addensate e possono presentare figure mitotiche come l’endometrio in fase proliferativa. Tale quadro può essere confuso con l’AIS. Una disposizione uniforme delle ghiandole, occasionali cellule ciliate epiteliali, un’ipercromasia a zolle e un minore pleomorfismo rispetto all’AIS, ci indirizzano verso una corretta diagnosi. Molto utile nella diagnosi è la presenza di cellule stromali endometriali diffuse (anche se scarse) e un’emorragia stromale recente o remota, non è invece utile, nel confermare il sospetto di endometriosi, l’uso del CD-10 poiché marca anche la

stroma perighiandolare endocervicale. La colorazione tricromica permette di distinguere lo stroma dell' endometriosi cervicale in rosso e lo stroma endocervicale nativo, ricco di collagene, in blu. Questa insieme alla colorazione della reticolina, che traccia i contorni delle singole cellule stromali endometriali, può confermare la diagnosi di endometriosi.

3.4.3 Reazione cervicale Arias – Stella e altre alterazioni cervicali correlate alla gravidanza.

La reazione Arias-Stella interessa tipicamente l'endometrio, ma può anche coinvolgere le ghiandole endocervicali del 10% degli uteri gravidici. Può essere osservata anche nei polipi cervicali, che sono lesioni più facilmente sottoposte a biopsia durante la gravidanza. Anche le alterazioni Arias – Stella possono essere confuse con l' AIS o con l' Adenocarcinoma invasivo. A differenza di questi, le alterazioni Arias-Stella sono di solito focali, coinvolgono solo una porzione di singole ghiandole o di un piccolo numero di queste. Le cellule sono marcatamente ingrandite e possono riempire lo spazio ghiandolare o protrudere in esso in ciuffi, papille filiformi, o cellule "hobnail" (a cupoletta o a chiodino di scarpa). Il citoplasma è eosinofilo o vacuolato, talvolta con inclusioni eosinofile: i nuclei contengono cromatina a zolle, vacuolata o chiara con poche o senza figure mitotiche. Sapere che la paziente è gravida, o ha avuto di recente una gravidanza, conferma la diagnosi. Talvolta un quadro simile, anche se meno evidente, si rivela in pazienti non gravide che però assumono una terapia ormonale o contraccettivi orali. Caratteristica della gravidanza è la presenza di vacuoli basali epiteliali molto evidenti. Queste alterazioni però sono difficilmente confuse con la neoplasia ghiandolare ma devono essere distinte dall' AIS di tipo intestinale.

3.4.4 Effetti delle radiazioni e della cauterizzazione

Le cellule endocervicali irradiate possono diventare molto grandi e presentare nuclei pleomorfi. A differenza delle cellule maligne, la cromatina nucleare delle cellule irradiate è spesso finemente dispersa piuttosto che ipercromatica a zolle, i nuclei e/o il citoplasma possono essere vacuolati, il rapporto nucleo/citoplasma non è aumentato e le figure mitotiche sono assenti o molto rare. Lo stroma è spesso ialino con vasi ectasici. Un altro effetto tissutale associato alla terapia è l'artefatto della cauterizzazione. Questa alterazione è più problematica da diagnosticare quando è presente un epitelio squamoso. Comunque gli artefatti termici possono produrre anche allargamento e distorsione dell'epitelio colonnare.

3.4.5 Cerviciti e alterazioni epiteliali reattive

E' difficile confondere le reazioni infiammatorie dell'endocervice con l'AIS. L'errore inverso è più comune (fare diagnosi di infiammazione marcata piuttosto che di AIS). In condizioni reattive le cellule epiteliali non sono così affollate e stratificate come nell'AIS, la cromatina è più dispersa e i nucleoli evidenti. Anche se nella cervicite la superficie epiteliale può essere papillare e priva di stroma, la crescita papillare o cribriforme intraghiandola è assente. Altre alterazioni delle cellule endocervicali reattive sono quelle associate alla riparazione. Questi aspetti si riscontrano di solito, ma non sempre, in donne che assumono ormoni o pillole per il controllo delle nascite. Differiscono dall'AIS perché non presentano l'addensamento cellulare e l'attività mitotica.

3.4.6 Atipia ghiandola secondaria a infezione da herpes virus e citomegalovirus (CMV).

Menzioniamo queste reazioni endocervicali solo per completezza di trattazione poiché è molto difficile che vengano confuse con un AIS.

Il CMV può infettare l'epitelio endocervicale o le cellule endoteliali sia negli individui sani che negli immunodepressi. Sono diagnostiche le tipiche cellule allargate con grandi inclusioni nucleari basofile ma la diagnosi viene confermata dalla ricerca immunoistochimica per antigeni CMV-relati. L'Herpes virus infetta solitamente l'epitelio squamoso ma può coinvolgere anche le cellule endocervicali. Le cellule infettate sono di solito multinucleate con cromatina "groundglass" (a vetro smerigliato) e possono o meno presentare inclusioni nucleari. Come per il CMV, la ricerca immunoistochimica per antigeni HSV-relati virus conferma il sospetto diagnostico.

3.5 Trattamento dell'adenocarcinoma in situ

La diagnosi di AIS impone lo studio del canale cervicale, con i noti limiti di affidabilità delle metodiche di indagine a disposizione; una citologia positiva, soprattutto in donne giovani, potrebbe essere sottoposta a revisione da un gruppo di esperti, prima di procedere all'escissione diagnostica. Peraltro, è solo l'esame istologico dell'intera lesione che permette di effettuare la diagnosi di certezza di AIS, come pure di indirizzare la terapia successiva (isterectomia radicale o meno) in caso di invasività. Sulla base delle osservazioni anatomopatologiche è stata valutata la possibilità di eseguire per l'AIS una terapia conservativa, consistente in una biopsia conica, come per le lesioni squamose di alto grado. La conferma di AIS sul cono a margini liberi permetterà di considerare la conizzazione trattamento definitivo in donne giovani o che non abbiano ancora concluso il loro percorso riproduttivo^{30,31,32,33,34,35,103}, sempre che venga consapevolmente garantito il follow-up, mentre nel caso di interessamento di uno o più margini del pezzo istologico si impone la necessità di ripetere la conizzazione^{35,36}. La resezione deve tendere ad essere completa: un'altezza del cono di 25 mm dovrebbe garantire la

escissione della maggior parte degli AIS a margini indenni, anche se resezioni superiori a 20 mm di altezza potrebbero comportare una maggior frequenza di esiti cicatriziali stenotici. Dati non recenti riportano come, in donne di età inferiore ai 36 anni, l'estensione craniale della lesione nel canale cervicale sembra essere significativamente inferiore alle suddette altezze. La resezione potrebbe così essere modulata ed essere quindi minore, al fine di minimizzare il rischio di stenosi, la quale rappresenta un elemento di ostacolo al successivo follow up³⁰. Il significato dello stato dei margini nel cono, in donne con AIS, è fonte di dibattito. Donne isterectomizzate precocemente, dopo una conizzazione con margini positivi, presentavano AIS residuo nell'utero asportato³⁴; in letteratura il residuo di malattia nell'utero successivamente asportato viene segnalato fino al 23%, se con margini del cono negativi^{34,37}, e fino al 56-67%, in presenza di margini positivi^{34,38}. Inoltre, in pazienti con margini positivi può essere riscontrato nell'utero asportato una lesione già invasiva^{34,35}, anche se il numero di casi riportati in letteratura è molto scarso per alcuni Autori³¹ e più consistente per altri³⁷. Sebbene il rischio di adenocarcinoma invasivo durante il follow-up sia maggiore rispetto alle donne della popolazione generale non sembra corretto impostare una terapia più aggressiva solo in ragione di questi pochi casi riportati³². Anche quando si considerino le pazienti sottoposte a terapia conservativa, la possibilità di recidiva può arrivare quasi al 10% nei casi con margini negativi e fino al 30% in caso di margini positivi^{34,35}. Inoltre, tra le donne che avevano margini negativi, le recidive sono state sempre in situ, mentre pazienti con margini positivi avrebbero un rischio aumentato non solo per recidiva di AIS ma anche per un adenocarcinoma invasivo³⁸. Vi sono tuttavia Autori che non trovano differenze nella percentuale di recidive in relazione allo stato dei margini, e che si pongono il dubbio se il

basarsi su tale parametro possa portare a reinterventi (spesso isterectomie) inutili³², e che considerano la conizzazione, associata ad un attento follow-up, come un metodo sicuro indipendentemente dallo stato dei margini³¹. A sostegno di questo atteggiamento conservativo è stato osservato che esiste una grande discrepanza in letteratura tra l'alto numero di casi con malattia residua nell'utero asportato a breve dal riscontro di AIS con margini positivi sul cono, e il basso numero di casi con recidiva di malattia a distanza di casi analoghi sottoposti solo a follow-up^{30,33}, in una condizione che sembrerebbe ripetere quanto già osservato per i coni con margini positivi nelle lesioni squamose intraepiteliali di alto grado. È infatti ipotizzabile che anche per l'AIS i processi riparativi e flogistici successivi alla conizzazione possano eliminare i residui eventuali di AIS sui margini cruentati^{32,39}. I casi di recidiva di AIS, dopo terapia conservativa, potrebbero quindi essere sia residui di malattia in sede più alta dalla resezione conservativa eseguita, come pure essere nuove lesioni che si formano a livello della nuova zona di trasformazione³⁹. Questi meccanismi spiegherebbero la scarsa correlazione esistente tra stato dei margini sul cono, l'evenienza di una recidiva³⁹ e l'alta variabilità di tempo riportata dai vari autori tra terapia conservativa e recidiva di AIS³⁹. L'utilità della ricerca di una eventuale malattia satellite, eseguita in sede di conizzazione mediante curettage del canale cervicale (ECC) dopo l'asportazione del pezzo, resta ancora argomento di discussione. A parte la scarsa frequenza di multifocalità, la metodica si è dimostrata scarsamente affidabile: è stata riscontrata positività per AIS nella successiva isterectomia in 18 su 27 pazienti con ECC negativo e in 10 su 13 pazienti con ECC positivo⁴⁰. Dall'insieme dei dati in letteratura sembra consigliabile la ripetizione della conizzazione nei casi con margini positivi per AIS, evitando di ricorrere all'isterectomia nella donna in età fertile. Il management dell'AIS

dopo il completamento del programma riproduttivo non è standardizzato: ci sono Autori che ancora raccomandano l'isterectomia come trattamento definitivo, più sicuro di un follow-up che dovrebbe essere molto prolungato nel tempo³⁵. Alla donna in perimenopausa o in menopausa sottoposta a conizzazione, che presenta margini indenni sul pezzo escisso, può essere proposto il follow-up solo in presenza di una adesione consapevole allo stesso, dopo adeguata informazione sulle possibilità di recidiva e sulle difficoltà diagnostiche del follow-up stesso, legate al maggior rischio di stenosi cervicale ed alla risalita della GSC in questa fascia di età; negli altri casi è consigliabile l'isterectomia^{34,35} (la frequenza di recidive è attorno al 10% anche in presenza di cono a margini liberi)³⁴. Un dibattito irrisolto in letteratura riguarda la migliore modalità di esecuzione della conizzazione in presenza di AIS: secondo alcuni autori la conizzazione a lama fredda sarebbe preferibile rispetto alla escissione con ansa diatermica, presentando una minor frequenza di margini positivi, rispettivamente 27.3% vs 57.1%³⁴, e una minor quantità di recidive a distanza; secondo altri l'escissione con ansa diatermica, in caso di margini del cono negativi, sarebbe garanzia di trattamento ottimale³⁶, ed altri ancora³³ propongono comunque una seconda conizzazione a lama fredda, successivamente ad una escissione con ansa che avesse permesso di ottenere un cono a margini liberi. Da ultimo una metanalisi suggerisce come non ci sarebbero differenze significative nella frequenza di malattia residua o di insorgenza di adenocarcinoma nel follow-up tra donne trattate con ansa diatermica o con conizzazione a lama fredda⁴¹. Il laser CO2, con la possibilità di personalizzare la resezione e di escindere pezzi geometricamente cilindrici si è dimostrato altrettanto efficace, con un maggior rispetto dei tessuti sani³²; è possibile attendersi un risultato simile anche con le resezioni con ago a radiofrequenza, anche se

attualmente non sono presenti sufficienti dati in letteratura. Nel caso della escissione con ansa diatermica giocherebbe a sfavore, rispetto alle altre metodiche, la minor profondità della resezione nel canale e la possibilità che la resezione avvenga in più frammenti, senza contare che, poiché la gran parte degli AIS viene riscontrata nel trattamento di lesioni squamose che sono identificate colposcopicamente, le resezioni già di per se non vanno a coinvolgere profondamente il canale cervicale³⁶ e solitamente hanno una geometria conica o discoide più che cilindrica. In letteratura gli Autori concordano sulla necessità che l'altezza del cono raggiunga i 25 mm^{31,33}, anche se per altri Autori non ci sarebbe alcun guadagno reale oltre i 20 mm di altezza³⁴. In caso di terapia conservativa il follow-up dovrà prevedere lo studio del canale cervicale mediante citologia con brush ed eventuale curettage³⁶, avere cadenza semestrale per 2 anni e quindi annuale per almeno i 5 anni successivi, anche se il rischio di comparsa di ricorrenze o recidive impone un follow-up molto più prolungato.

CAPITOLO 4

4 ADENOCARCINOMA MICROINVASIVO

4.1 Introduzione

Laddove l'esame istologico riveli il superamento della lamina basale l'adenocarcinoma cervicale viene stadiato analogamente a quanto previsto per i carcinomi squamosi. Attualmente è in vigore la stadiazione FIGO di Montreal 1994⁴². Lo stadio IA comprende lesioni che presentano invasione stromale fino a 5 mm e massima estensione lineare superficiale fino a 7 mm; questi casi sono quelli che rientrano nella definizione di tumore microinvasivo per questa sede anatomica, mentre lesioni limitate alla cervice che eccedono anche una sola di queste dimensioni rientrano nello stadio IB. A sua volta lo stadio IA viene suddiviso in IA₁ se l'invasione stromale non supera i 3 mm e in IA₂ se la profondità di invasione è compresa tra i 3 ed i 5 mm. I gruppi di pazienti che ricadono nei diversi stadi IA₁, IA₂ e IB presentano una diversa prognosi, il che ha indotto diversi Autori a stabilire linee guida di management della malattia in base alla stadiazione FIGO, eventualmente integrata, secondo alcuni, dalla valutazione dell'infiltrazione degli spazi linfovaskolari, nel tentativo di individuare le donne in cui sia possibile eseguire un trattamento conservativo. Se tale metodologia è generalmente condivisa riguardo le lesioni

squamose, non è stata ancora messa a punto una linea di condotta nella gestione delle lesioni ghiandolari, anche se si è riscontrato come il volume del tumore e la profondità di invasione⁴³ sono in relazione alla sopravvivenza. Ciò è legato alla minor frequenza di lesioni ghiandolari “microinvasive” rispetto alle squamose, che non permette di ottenere casistiche tali da poter trarre conclusioni generalizzabili. Vanno inoltre ricordate la scarsa riproducibilità delle misurazioni di infiltrazione, a causa della possibile presenza di ghiandole endocervicali normali nello stroma, e le diverse opinioni, non ancora definitivamente chiarite, sulla possibile diversa aggressività delle lesioni ghiandolari rispetto a quelle squamose^{44,45}. Solo recentemente sono comparsi studi che valutano adeguatamente la possibilità di metastasi linfonodali e parametriali in relazione al volume del tumore degli adenocarcinomi microinvasivi, gli unici che ci possono chiarire la possibilità di eseguire terapie conservative in queste pazienti^{46,47,48}.

4.2 Anatomia Patologica

Non sempre è facile fare diagnosi di adenocarcinoma microinvasivo in quanto, a differenza delle lesioni squamose, l’invasione può svilupparsi nel contesto di un’architettura ghiandolare conservata tipica dell’AIS.

E’ questo il motivo per cui non è opportuno basare la diagnosi su piccole biopsie. Se dai preparati bioptici sorge il sospetto di invasione, conviene prelevare un campione più grande o effettuare una conizzazione a lama fredda per confermare la diagnosi. L’utilizzo dell’ansa diatermica è da taluni sconsigliata nella diagnosi delle lesioni ghiandolari cervicali¹⁰⁸: i pezzi bioptici appaiono talvolta frammentati, rendendo l’orientamento del campione impossibile, e il danno termico interferisce frequentemente con l’interpretazione microscopica. Questi fattori ostacolerebbero una eventuale diagnosi di

invasione impedendo una adeguata valutazione dei margini. Anche la stadiazione può essere ostacolata poiché l'energia termica può distruggere eventuali lesioni sottostanti il tessuto asportato. Altri Autori invece ritengono che con una escissione con ansa ben effettuata si ottengono campioni biotici adeguati quanto quelli che derivano da una conizzazione a lama fredda¹⁰⁹.

L'adenocarcinoma cervicale presenta tre pattern di invasione, che possono essere osservati anche nelle fasi precoci della neoplasia.

Questi comprendono il pattern infiltrativo, l'espansivo e l'esofitico^{3,4}.

1. *Pattern infiltrativo*: l'aspetto più precoce di questo pattern è caratterizzato da piccole protrusioni che sembrano originare da ghiandole AIS: queste si estendono come ghiandole separate all'interno dello stroma e possono essere accompagnate da una reazione infiammatoria. Le cellule che protrudono e le ghiandole microinvasive possono essere più grandi di quelle dell'AIS, presentano nuclei di maggiori dimensioni, nucleoli talvolta evidenti e un ampio citoplasma eosinofilo. Comunque, solitamente, il pattern infiltrante si presenta con una minore invasività e le cellule ghiandolari, simili a quelle dell'AIS, penetrano nello stroma senza che vi sia una risposta né desmoplastica né infiammatoria. In questi casi è utile l'osservazione e il confronto morfologico con l'architettura delle ghiandole benigne adiacenti per stabilire se vi è una semplice sostituzione delle cellule ghiandolari con un AIS oppure una vera e propria invasione.

2. *Pattern espansivo*: il riconoscimento di tale pattern può non essere immediato. Le ghiandole simil-AIS, ben circoscritte, si espandono nello stroma come un'unità compatta piuttosto che come ghiandole infiltranti separate. Spesso non vi è alcuna

reazione stromale. Quando si estende “abbastanza in profondità”, questo pattern viene considerato alla stregua di un carcinoma invasivo. Arbitrariamente, il concetto di “abbastanza in profondità” può essere definito come un’estensione maggiore di 1 mm al di sotto delle ghiandole benigne adiacenti.

3. *Pattern esofitico*: si riferisce ad una crescita polipoide o papillare più pronunciata delle piccole escrescenze papillari talvolta presenti nell’AIS. Può essere più o meno presente l’invasione dello stroma sottostante. L’adenocarcinoma villoghiandolare ben differenziato può essere l’evoluzione di un pattern esofitico.

Nei referti diagnostici viene riportata la profondità di invasione, misurata dalla superficie più esterna. Eccezione a questa regola si ha nei casi di invasione molto precoce, nei quali la ghiandola AIS di origine è evidente, per cui si riporta la distanza da tale ghiandola. Nei tumori esofitici si specifica la profondità di invasione nello stroma sottostante e il diametro massimo della componente esofitica. Viene documentata anche la presenza o meno di invasione degli spazi linfo-vascolari.

4.3 Diagnosi e management

La conizzazione, eseguita per sospetto AIS, per sospetta neoplasia ghiandolare invasiva o anche nel 10-25% dei casi trattati per una lesione squamosa, potrà rivelare la presenza di un adenocarcinoma endocervicale microinvasivo (stadio FIGO IA). In presenza di lesioni allo stadio FIGO IA₁, in donne giovani desiderose di prole che accettino consapevolmente di sottoporsi a follow-up, la conizzazione con margini liberi (anche da AIS) può essere considerata trattamento

definitivo, data la bassa percentuale riportata in letteratura (1%-2%) dell'interessamento dei linfonodi pelvici, riservando la linfadenectomia (preferibilmente per via laparoscopica) solo nei casi di accertato coinvolgimento degli spazi linfovaskolari.^{46,47,48,49,104} Si deve tenere presente che, anche in presenza di margini di resezione liberi, non si esclude l'eventualità futura di una possibile recidiva di AIS (circa 10%) o anche di adenocarcinoma invasivo: in tal caso tuttavia la frequenza di recidive non sarebbe diversa da quella riscontrata nelle donne trattate conservativamente per AIS⁴⁸. Anche nel caso dell'adenocarcinoma microinvasivo la lesione, nella maggior parte dei casi, insorge a ridosso della zona di trasformazione⁴⁶, soprattutto nel caso dell'istotipo mucinoso classico endocervicale. In giovani pazienti selezionate, la terapia conservativa potrebbe essere sufficiente - integrata, quando indicato (coinvolgimento degli spazi linfovaskolari), da linfadenectomia eseguita per via laparoscopica - esclusivamente in presenza di margini liberi, anche per infiltrazioni fino a 5 mm (stadio FIGO IA₂), quando le stesse pazienti siano adeguatamente informate sulla possibilità di recidive e siano disposte ad un accurato e stretto follow-up^{46,50}, sebbene qualche Autore⁴⁹ ritenga necessario eseguire interventi demolitori, con asportazione dei parametri. Un recente studio Balega ha valutato 48 casi allo stadio IA (IA₁ + IA₂) e 36 allo stadio IB: tutte le pazienti sono state sottoposte ad isterectomia radicale con linfadenectomia pelvica: va precisato che, a sottolineare la difficoltà di stadiazione, l'esatta definizione dell'infiltrazione stromale è stata possibile solo in 84 casi su 98 pazienti che erano entrate nello studio. Nei casi allo stadio IA non è mai stata riscontrata positività parametricale o linfonodale, e nessuna paziente ha sviluppato recidiva, mentre la positività linfonodale è stata riscontrata in 8 pazienti su 36 allo stadio IB, con 6 recidive, evidenziando una differenza tra gli stadi fortemente significativa⁴⁶. In

questa serie non è stato riscontrato l'interessamento degli spazi linfovaskolari nei casi allo stadio IA₁⁴⁶. Precedentemente è stata riportata l'assenza di recidive nei tumori di volume inferiore ai 500 mm³⁴³, mentre Ostor riporta solo 2 recidive su 77 casi allo stadio IA⁴⁷: va notato come si trattasse in un caso di un tumore primitivo con volume maggiore di 500 mm³ e nell'altro di una "recidiva" squamosa, e quindi di una seconda malattia. Va ricordato come non siano reperibili sufficienti dati in letteratura per suggerire il trattamento conservativo allo stadio IA₂, e che anche allo stadio IA₁ senza infiltrazione degli spazi linfovaskolari sono segnalati solo casi aneddotici di recidiva⁴⁵. E' da notare come istotipi diversi (endometrioide, intestinale) potrebbero necessitare di approcci terapeutici diversi, anche per la diversa localizzazione nel canale cervicale e per la diversa prognosi, con diversa possibilità di trattamento conservativo (peraltro le casistiche relative a questi istotipi sono poco numerose e non permettono di dare indicazioni sicure). In tutti gli altri casi (donne in menopausa, perimenopausa, ovvero senza desiderio di prole) è indicata l'isterectomia anche allo stadio IA₁. Non ci sono dati in letteratura che suffraghino l'esecuzione dell'isterectomia radicale allo stadio IA: su 126 casi sottoposti ad isterectomia radicale Ostor non ha mai riscontrato interessamento parametricale⁵⁰, e lo stesso viene confermato, come già ricordato, da Balega in altri 48 casi⁴⁶. D'altra parte va considerato come i casi allo stadio IA₂ siano molto scarsi in tali casistiche. La linfadenectomia è indicata nei casi che presentano infiltrazione degli spazi linfovaskolari o nei casi allo stadio IA₂, anche se la positività complessiva dei linfonodi è generalmente scarsa – 2% dei casi riscontrati da Ostor in una casistica di 219 pazienti⁵⁰; per contro secondo altri Autori la linfadenectomia non sarebbe comunque indicata nei casi con infiltrazione inferiore a 5 mm⁴⁶. Fino a tempi recenti non era stata riscontrata metastatizzazione ovarica allo

stadio IA – 0 casi su 155⁵⁰ e 0 casi su 48³⁹ -, per cui in caso di isterectomia l'asportazione delle ovaie in età fertile non era indicata. Tuttavia tale condotta è stata recentemente messa in dubbio dalla recente segnalazione di una casistica di 10 pazienti affette da metastasi ovariche di adenocarcinomi endocervicali, ritenute in precedenza tumori ovarici primitivi, che mostravano una differenziazione mista mucinosa/endometrioide o prevalentemente mucinosa⁵¹: la possibile origine comune endocervicale era indicata dal riscontro di HPV-DNA in entrambe le localizzazioni, con una concordanza dei tipi in tutti i campioni valutabili (16,18,45), il che rafforzava una origine clonale comune tra le due sedi. Inoltre i tumori ovarici mostravano una forte positività per la p16^{INK4a}, proteina associata specificamente alla trasformazione neoplastica indotta dall'HPV: in 2 casi era stata riscontrata la presenza di adenocarcinoma endocervicale microinvasivo (stadio IA₁); peraltro una indagine successiva, condotta su 73 campioni di carcinoma ovarico mucinoso ed endometrioide, sottoposti ad analisi per la ricerca di HPV-DNA e p16^{INK4a}, ha escluso una loro origine endocervicale: nonostante la positività per la p16^{INK4a} nel 74% dei campioni, in nessuno di essi è stato reperito HPV-DNA (ricercato mediante PCR con amplificazione specifica per la regione E7 di HPV 16 e 18). E' stato ipotizzato che la positività alla p16^{INK4a} nei tumori ovarici con differenziazione mucinosa o endometrioide possa essere indipendente dalla trasformazione indotta dall'HPV, legata altresì alla alterazione dell'attività della pRb o a mutazioni del gene CDKN2, che codifica per la p16^{INK4a}¹⁰⁵. In definitiva anche per l'adenocarcinoma microinvasivo le decisioni terapeutiche dovrebbero essere prese sulla base delle dimensioni (profondità ed estensione lineare) delle lesioni e della presenza dell'infiltrazione degli spazi linfovaskolari, elementi che possono essere valutati solo con un attento studio anatomopatologico di un cono adeguato. Va ricordata la difficoltà di definire esattamente la profondità di invasione negli

adenocarcinomi iniziali dell'endocervice e su questo punto, in letteratura, vi sono pareri discordi, che vanno ad aggiungersi a quelli presenti anche per i carcinomi microinvasivi squamosi, come ad esempio la standardizzazione del campionamento sul cono o la metodica di ricerca e valutazione del coinvolgimento degli spazi linfovaskolari. Purtroppo si deve constatare che le attuali conoscenze non sono in grado di garantire un esito sempre positivo in tutti i casi di pazienti affette da adenocarcinoma microinvasivo, e va ricordato che sono state descritte metastasi linfonodali, recidive e decessi anche in rari casi che presentavano infiltrazione stromale entro 1 mm, nonostante l'esecuzione di un intervento radicale. È probabile che i vari istotipi possano avere prognosi differenti in funzione di una diversa aggressività biologica - a tutt'oggi non sicuramente identificabile mediante marcatori (biochimici o istologici) sicuramente affidabili allo stadio 1A - più che da valutazioni dimensionali⁵². A tutt'oggi sono solo le dimensioni del tumore e alcuni pattern istologici (tipo invasione degli spazi linfo-vascolari) sono stati validati nella previsione della prognosi. Esiste quindi un rischio residuo attualmente non eliminabile con certezza, ma che proprio per questo non giustifica assolutamente il ricorso ad interventi radicali nei casi dove questi non siano chiaramente indicati.

5 DIAGNOSI E MANAGEMENT DELL'ADENOCARCINOMA DELLA CERVICE

Quando presenti, i sintomi dell'adenocarcinoma cervicale comprendono perdite ematiche vaginali e/o dolore o sensazione di peso alla pelvi. Più raramente questa neoplasia può presentarsi come una massa palpabile pelvica. Macroscopicamente l'adenocarcinoma può manifestarsi come una zona di irregolarità superficiale, una massa esofitica, una placca ulcerata; talvolta l'unico reperto obiettivo consiste in un indurimento della cervice in toto.

Riportiamo una classificazione degli adenocarcinomi cervicali e dei carcinomi misti che presentano una componente ghiandolare (tabella 5.1).

Tabella 5.1 Adenocarcinoma cervicale

Adenocarcinoma cervicale
<ul style="list-style-type: none">▪ ENDOCERVICALE (MUCINOSO) Varianti: Adenoma maligno (a deviazione minima)▪ ENDOMETRIOIDE Varianti: Tipo endometrioido a deviazione minima▪ INTESTINALE▪ ADENOSQUAMOSO Varianti: A cellule "glassy" Adenosquamoso a cellule chiare▪ VILLOGHIANDOLARE BEN DIFFERENZIATO▪ A CELLULE CHIARE▪ SIEROSO▪ ADENOIDE BASALE▪ ADENOIDOCISTICO▪ MESONEFRICO▪ ADENOCARCINOMA MEATASTATICO

5.1 Adenocarcinoma endocervicale (mucinoso)

5.1.1 Tipo comune

La maggior parte degli adenocarcinomi cervicali puri è di tipo endocervicale⁵³ in cui le cellule epiteliali somigliano, almeno a grandi linee, alle cellule endocervicali. Il citoplasma può essere eosinofilo, mucinoso o entrambi. Sono spesso presenti figure mitotiche e corpi apoptotici⁵³. Un altro tipo di classificazione prevede un'unica categoria endocervicale di tipo mucinoso con diversi sottotipi. In realtà queste diverse classificazioni non hanno alcuna importanza dal punto di vista clinico, poiché la prognosi dell'adenocarcinoma cervicale è legata fondamentalmente allo stadio della neoplasia. Nella pratica clinica poi, molti adenocarcinomi endocervicali (o mucinosi) vengono definiti semplicemente con il termine "adenocarcinoma" senza specificarne il sottotipo. La maggior parte di tali tumori sono HPV correlati e nelle lesioni microinvasive si osservano spesso AIS residui. Possono presentare pattern di crescita papillare, esofitico o essere invasivi sottoforma di ghiandole irregolari, cisti, cordoni, lamine cellulari o singole cellule. La diagnosi risulterà agevole se i campioni a disposizione sono sufficientemente grandi. Due lesioni benigne che talvolta possono causare qualche difficoltà nella diagnosi sono l'iperplasia microghiandolare e quella mesonefrica.

5.1.2 Adenoma maligno (a deviazione minima)

Questo è un sottotipo ben differenziato e costituisce l'1-2% degli adenocarcinomi cervicali. Viene classificato come una variante del sottotipo endocervicale poiché le sue cellule epiteliali appaiono simili a quelle dell'endocervice. Dal momento che presenta aspetti clinici e patologici peculiari, è necessario specificare nei referti la sua natura di "Adenoma maligno" o "adenomacarcinoma a deviazione minima". Nell'11% dei casi è stata evidenziata un'associazione con la sindrome

di Peutz-Jeghers. In una casistica di 26 pazienti, l'età media delle donne con questo tipo di adenocarcinoma era di 42 anni⁵⁴ e in circa la metà di queste vi era un concomitante tumore ovarico mucinoso. Di queste neoplasie ovariche, la maggior parte erano bilaterali, alcune potevano essere tumori primitivi benigni mucinosi delle ovaie, ma probabilmente la maggior parte erano in realtà metastasi originate dal tumore cervicale; ovviamente una diagnosi differenziale certa, in questi casi, non è facile da effettuare. Le origini dell'adenoma maligno non sono chiare; rari sono i casi HPV positivi⁵ e non è stata descritta alcuna fase *in situ*. In alcuni casi possono verificarsi perdite vaginali mucinose o acquose ma, in genere, l'adenoma maligno cresce in modo insidioso senza sintomi, provocando un indurimento della parete cervicale senza che vi sia una massa distinta. A causa delle sembianze benigne (da qui la sua definizione contraddittoria) delle sue cellule, questa neoplasia può non essere riconosciuta in piccole biopsie. L'adenoma maligno è spesso diagnosticato tardivamente, anche a causa della bassa sensibilità del Pap Test, nel rilevare tale istotipo, per cui la sua prognosi è peggiore di quella dell'adenocarcinoma in generale⁵⁴.

Le ghiandole dell'adenoma maligno presentano dimensioni variabili: possono essere piccole o cistiche, molte sono irregolari con protrusioni bulbose o digitiformi. Le cellule superficiali sono ben differenziate, hanno nuclei piccoli e basali, il citoplasma è chiaro e colonnare tanto da risultare molto simili alle cellule endocervicali normali. In realtà, un'osservazione più attenta rivela nuclei di dimensioni leggermente maggiori rispetto al normale e un piccolo nucleolo. Raramente si evidenzia una componente papillare superficiale. Non vi è solitamente una reazione stromale ma focalmente è frequente osservare una reazione infiammatoria, edematosa o desmoplastica. E' presente un'atipia nucleare con un'ipercromasia e un'attività mitotica maggiore di quella

dell'iperplasia endocervicale benigna. Il citoplasma risulta positivo per l'antigene carcino-embrionario (CEA). Una positività debole o focale al CEA non è sufficiente per porre diagnosi definitiva di cancro, così come non si può escludere la presenza di neoplasia in presenza di negatività al CEA, soprattutto se ottenuta da una biopsia di piccole dimensioni⁵⁴. L'adenoma maligno presenta un fenotipo gastrico piuttosto che mülleriano, e di aiuto alla diagnosi possono essere l'uso degli anticorpi HK1083 diretti contro la mucina delle ghiandole gastriche, un PAS positivo a pH 2.5 e la già menzionata positività al CEA. I markers però non sono essenziali per la diagnosi, anzi talvolta possono condurci a false interpretazioni, soprattutto se non si ha sufficiente esperienza nel loro utilizzo. In diagnosi differenziale con l'adenoma maligno rientrano le cisti di Naboth profonde, le ghiandole endocervicali floride profonde, i tunnel clusters, l'iperplasia ghiandolare endocervicale, l'adenomioma di tipo cervicale, l'endocervicosi e l'iperplasia mesonefrica. Sono tutte condizioni che però non presentano il pattern invasivo e infiltrativo e i nuclei di aspetto tendenzialmente maligno tipici dell'adenoma maligno.

5.2 Adenocarcinoma endometrioido

5.2.1 Tipo comune

L'adenocarcinoma endometrioido è così chiamato perché appare simile al comune adenocarcinoma dell'endometrio: infatti, come questo, presenta cellule più affollate e stratificate rispetto a quelle di tipo endocervicale e con citoplasma privo di mucina.

Quando è anche presente una differenziazione squamosa di alto grado, si parla di carcinomi adenosquamosi. Generalmente gli adenocarcinomi endometrioidi sono HPV correlati e presentano

spesso AIS in piccoli foci tanto da suggerire una patogenesi simile a quella dell'adenocarcinoma di tipo endocervicale³.

Non si conosce bene l'esatta frequenza e il comportamento di questo tipo di tumore poiché non sempre viene distinto dall'adenocarcinoma di tipo endocervicale. In studi condotti su 175 adenocarcinomi cervicali, il 4% sembravano essere di tipo endometrioides⁵⁵, in altri studi invece tale neoplasia costituiva il 50% dell'intera casistica analizzata⁵⁶.

Di rilevante importanza è la necessità di distinguere tra un adenocarcinoma endometrioides e un carcinoma primitivo dell'endometrio, soprattutto quando i campioni biotici a disposizione sono di piccole dimensioni. Nell'adenocarcinoma endometrioides è possibile osservare la presenza di un AIS, lo stroma è morfologicamente simile a quello endocervicale piuttosto che a quello endometriale e l'iperplasia endometriale è assente. Un'origine endocervicale è suggerita anche dal riscontro di una positività CEA ed una negatività alla Vimentina all'indagine immunostochimica⁵⁶. Inoltre gli adenocarcinomi cervicali sono difficilmente positivi sia ai recettori estrogenici che a quelli progestinici, a differenza di quanto avviene nell'adenocarcinoma endometrioides dell'endometrio. Diversi altri metodi possono essere utilizzati ai fini di tale diagnosi differenziale, come ad esempio la ricerca di marcatori HPV-correlati mediante l'ibridizzazione in situ, ma non sempre questi metodi risultano completamente affidabili per porre una corretta diagnosi.

5.2.2 Adenocarcinoma a deviazione minima di tipo endometrioides

E' un adenocarcinoma molto ben differenziato ma sicuramente più raro dell'adenocarcinoma a deviazione minima di tipo endocervicale o "adenoma maligno"⁵⁷.

Questo tumore presenta solo una lieve atipia nucleare e rare figure mitotiche. Alcune cellule possono essere ciliate o presentare

estroflessioni citoplasmatiche apicali, creando problemi di diagnosi differenziale con la metaplasia tubarica⁵⁷.

Si distingue dall'endometriosi e dalla metaplasia tuboendometriode per il suo carattere infiltrativo e per la presenza di atipie citologiche focali. In due casi interessati da tale neoplasia il CEA è risultato marcatamente positivo.

Nel follow up di 12 pazienti affette da questo tumore, una è deceduta a causa di tale malattia neoplastica⁵⁷.

5.3 Adenocarcinoma Intestinale

L'adenocarcinoma intestinale puro della cervice è un tumore molto raro. E' più facile invece osservare foci di tipo intestinale nel contesto di adenocarcinomi di tipo adenosquamoso o endocervicale.

Elementi distintivi dell'adenocarcinoma intestinale sono le cellule caliciformi, le cellule argentaffini e raramente le cellule di Paneth. Meno frequenti sono i casi con estesa mucina extracellulare (carcinoma colloide) o con cellule ad anello con castone. In questi è importante escludere la presenza di un tumore metastatico cervicale che origina da un carcinoma primitivo gastrointestinale. A tale scopo è fondamentale la storia clinica ma può essere d'aiuto l'utilizzo del marker CK7. In genere i classici adenocarcinomi primitivi della cervice sono diffusamente CK7 positivi, mentre i carcinomi primitivi dell'intestino sono CK7 negativi o positivi solo focalmente.

5.4 Carcinoma adenosquamoso

5.4.1 Tipo classico

Il carcinoma adenosquamoso può costituire dal 20% al 50% dei carcinomi cervicali con una componente ghiandolare. Tale variabilità nella frequenza di tale tumore è dovuta alla mancanza di una precisa definizione di "differenziazione squamosa"⁵³. Per di più, la mucina,

tipica di un pattern ghiandolare, può evidenziarsi anche in un carcinoma squamoso puro della cervice.

Quindi si preferisce usare il termine “adenosquamoso” in quei carcinomi in cui, senza l’aiuto di particolari markers o colorazioni, si evidenziano chiaramente aree sia squamose che ghiandolari⁵³. Usando questa definizione, il 28% di 175 adenocarcinomi in stadio precoce, sembra essere stato costituito da carcinomi adenosquamosi⁵⁵.

Questo tipo di carcinoma, in fase precoce, rivela spesso la presenza di residui sia di AIS che di CIN, suggerendo che il tumore possa originare da una trasformazione neoplastica di cellule staminali con differenziazione bifasica³.

Sono diversi i pattern di presentazione del carcinoma adenosquamoso in fase invasiva: possiamo osservare elementi ghiandolari e squamosi giustapposti, strati di cellule squamose frammisti alle ghiandole, o zone in cui il passaggio da un epitelio squamoso ad uno colonnare è meno netto.

La componente ghiandolare non è specifica, può essere mucinosa (talvolta con cellule ad anello con castone) o endometrioide.

Secondo alcuni studi la prognosi è peggiore di quella degli altri adenocarcinomi cervicali⁵⁵ mentre secondo altri sembra non esserci alcuna differenza⁵⁸.

5.4.2 Carcinoma adenosquamoso “a cellule glassy” e carcinoma adenosquamoso a cellule chiare

Il carcinoma “a cellule glassy” è stato descritto per la prima volta nel 1956 ed è una variante rara di carcinoma adenosquamoso.

La sua natura bifasica è riconoscibile solo alla microscopia elettronica. E’ caratterizzato da strati di grandi cellule maligne con citoplasma abbondante e finemente granulare (glassy), nuclei di grandi dimensioni con nucleoli evidenti, un infiltrato infiammatorio marcato e cellule eosinofile e plasmatiche. La prognosi sembra essere peggiore

di quella del comune adenocarcinoma cervicale e vi è una precoce diffusione extrauterina e una particolare resistenza alla radioterapia.

Le cellule di aspetto “glassy” si osservano spesso anche nei carcinomi squamosi a grandi cellule non cheratinizzanti o in altri adenocarcinomi meno tipici⁵³, questo però non porta a definire tali tumori come carcinomi a cellule “glassy” che peraltro sono rari nella loro forma pura.

Un altro tipo di carcinoma adenosquamoso è quello “a cellule chiare” che è frequentemente associato all’infezione da HPV18.

Tale tumore presenta ghiandole neoplastiche associate a cellule squamose ricche in glicogeno e visibilmente chiare.

Anche per il carcinoma adenosquamoso a cellule chiare la prognosi non risulta favorevole.

5.5 Adenocarcinoma villoghiandolare ben differenziato

E’ un tumore poco comune con una tipica architettura villoghiandolare (da cui deriva la sua denominazione), che può o meno presentare un’invasione stromale sottostante. Interessa donne con un’età media di 33 anni, è associato all’infezione da HPV e spesso è adiacente ad una lesione indicante un AIS. Lo stroma delle papille digitiformi è fusato e può contenere cellule infiammatorie. Le ghiandole si spingono in profondità nello stroma e si mischiano ai villi, e le cellule di superficie possono essere di tipo endocervicale o endometrioidi, con lievi atipie nucleari e scarse figure mitotiche. La prognosi di questa neoplasia, se ben differenziata, è eccellente, infatti, di 37 casi analizzati in uno studio, nessuno ha dato vita a metastasi e la sola conizzazione può essere presa in considerazione come intervento terapeutico definitivo, allo scopo di preservare la capacità riproduttiva delle donne con tale tumore⁵⁹. In realtà l’adenocarcinoma villoghiandolare può associarsi anche a un adenocarcinoma invasivo,

tumore quest'ultimo che può metastatizzare verso i linfonodi pelvici. Bisogna poi distinguere l'adenocarcinoma villoghiandolare dagli AIS o dagli adenocarcinomi esofitici che presentano infatti l'architettura villosa ben definita tipica dell'adenocarcinoma villoghiandolare ben differenziato.

5.6 Carcinoma a cellule chiare

Il carcinoma a cellule chiare vaginale e cervicale colpisce giovani donne che, durante la loro vita fetale, sono state esposte al dietilstibestolo (DES), assunto dalla madre come farmaco antiabortivo.

Fortunatamente il rischio di carcinoma a cellule chiare sembra essere diminuito, poiché il DES non viene più usato in gravidanza ed i casi oggi segnalati sono sporadici⁶⁰. Secondo uno studio, il comportamento di tale neoplasia sembra essere simile a quello dei comuni adenocarcinomi cervicali⁶⁰, un altro invece ne denuncia la maggiore aggressività⁶¹.

Dal punto di vista istologico non differisce dai comuni carcinomi a cellule chiare dell'endometrio e delle ovaie. Le cellule neoplastiche si organizzano in strutture ghiandolari tubulocistiche, solide, papillari o miste. Nelle aree papillari, ghiandolari e tubulocistiche, i nuclei cellulari protrudono nello spazio luminale definendo un aspetto caratteristico a "hobnail". Le papille appaiono ialine nella zona centrale stromale e il citoplasma della gran parte delle cellule è chiaro per la presenza di glicogeno evidenziabile con la colorazione PAS. Talvolta però le cellule non appaiono chiare ma sono localmente eosinofile o contengono mucina. I nuclei sono spesso grandi, irregolari e ipercromatici con nucleoli evidenti, ma in alcuni casi possono essere solo lievemente atipici.

Nella diagnosi differenziale rientrano l'iperplasia microghiandolare, l'iperplasia/carcinoma mesonefrico, la reazione Arias-Stella, il carcinoma a cellule squamose ricco in glicogeno e altri tumori rari quali il tumore del sacco vitellino e il sarcoma alveolare dei tessuti molli che possono essere primitivi nella cervice o di provenienza renale. Il carcinoma squamoso a cellule chiare glicogenate presenta caratteristiche ancora diverse, un chiaro pattern squamoso e possibili CIN residue. Il carcinoma renale a cellule chiare metastatizza raramente alla cervice, ma è difficile distinguere un carcinoma a cellule chiare primitivo della cervice da una metastasi di provenienza renale. Comunque i carcinomi renali sono di solito CD-10 positivi, mentre i carcinomi a cellule chiare di derivazione mülleriana sono CD-10 negativi.

5.7 Carcinoma Sieroso

E' un tumore raro con un'istologia simile ai comuni carcinomi sierosi dell'ovaio e dell'endometrio. Su 17 pazienti con tumore cervicale primitivo⁶², dieci avevano meno di 45 anni e quattro più di 65 anni; 14 di esse presentavano un tumore allo stadio I al momento della diagnosi e, di queste, 4 erano recidive. I rimanenti tre tumori che si presentavano in uno stadio più avanzato hanno avuto una prognosi infausta. In superficie il tumore presenta complesse ramificazioni papillari e cellule infiammatorie nello stroma. Più in profondità si osservano formazioni ghiandolari, fissazioni o aree solide. Le cellule epiteliali, molte delle quali proliferano negli spazi interpapillari, mostrano nuclei di grandi dimensioni disposti su più livelli, nucleoli evidenti e numerose figure mitotiche. I carcinomi sierosi si distinguono facilmente dai classici carcinomi papillari di tipo endocervicale e dagli adenocarcinomi villoghiandolari ben differenziati, grazie alla complessità delle loro papille e all'alto grado

dei nuclei. In 5 dei 17 casi prima menzionati, è stata riscontrata una componente papillare villoghiandolare ben differenziata; questo suggerirebbe un'eziologia comune per questi due tumori papillari a livello cervicale⁶². Inoltre i carcinomi sierosi cervicali appaiono entità distinte dai carcinomi sierosi di altre sedi. Un carcinoma sieroso dell'endometrio o dell'ovaio difficilmente diffonde verso la cervice (soprattutto nelle donne più anziane) e se dovesse essere qui presente, verosimilmente si tratterebbe di una metastasi.

5.8 Carcinoma adenocistico e adenobasale

Il carcinoma adenocistico e quello adenobasale vengono trattati insieme poichè presentano alcune caratteristiche in comune:

1. in entrambi le cellule hanno una morfologia basaloide
2. ambedue sono HPV correlati
3. interessano tipicamente pazienti in postmenopausa

Accanto ad una morfologia basaloide, le cellule presentano una differenziazione cellulare colonnare (adenoide).

Tali tumori possono essere preceduti da una lesione intraepiteliale squamosa che, in fase invasiva, va incontro a proliferazione cellulare in senso basaloide e differenziazione in cellule colonnari.

Il carcinoma adenobasale (ABC) è un tumore raro, costituendo meno del 5% dei carcinomi cervicali. Solitamente è asintomatico e la diagnosi viene posta accidentalmente in donne in postmenopausa con CIN 2+⁶³. Al di sotto della CIN infatti si possono evidenziare tre elementi caratteristici: isole di cellule squamose con gradi variabili di atipia circondate da uno strato periferico di cellule basali; nidi di cellule basaloidei con citoplasma scarso in cui talvolta si possono osservare formazioni cistiche e piccoli acini di cellule colonnari; nessuna reazione stromale. Poichè non sono state descritte metastasi o recidive relative a tali neoplasie, alcuni autori hanno suggerito di usare

il termine di 'epitelioma basale adenoideo' per definire queste lesioni, allo scopo di evitare trattamenti eccessivamente radicali. Il carcinoma adenobasale si associa talvolta ad altri tre pattern di crescita neoplastica: il carcinoma squamoso basaloide, il carcinoma adenocistico e il carcinosarcoma. Nel carcinoma adenobasale puro, le cellule periferiche dei nidi neoplastici immunoreagiscono per la CAM 5.2, tale dato può essere d'aiuto nell'escludere la presenza di un carcinoma squamocellulare sincrono in un carcinoma adenobasale con atipia severa.

Diversamente dal carcinoma adenobasale, il *Carcinoma adenocistico (ACC)* si manifesta con una massa cervicale sintomatica e frequenti recidive e metastasi⁶³. Presenta inoltre alcuni tratti in comune con le neoplasie delle ghiandole salivari o del tratto respiratorio. Cresce in isole cribriformi di cellule ammassate con scarso citoplasma, al cui centro è presente materiale mucinoso o ialino. E' possibile anche un pattern trabecolare, solido o indifferenziato, spesso circondati da materiale ialino o una cospicua differenziazione in senso squamoso⁶³. Foci di ACC possono essere confusi con un ABC (a cui possono essere associati) ma l'ACC presenta una marcata atipia nucleare e una risposta stromale assenti nell'ABC^{63,64}. In entrambe però è possibile la coesistenza di elementi mesenchimali propri di un carcinosarcoma.

Non è ancora chiara l'origine dell'ACC cervicale. Un report ha riscontrato poche cellule di possibile derivazione mioepiteliale S-100 positive⁶³, secondo altri studi le cellule S-100 positive erano più frequenti così come la presenza di collagene IV e laminina nel materiale ialino. Questi ultimi dati suggeriscono che il tumore possa originare dalla membrana basale⁶⁴. Sia l'ABC che l'ACC risultano solitamente positivi all'HPV16. Tutti questi dati avvalorano quindi l'ipotesi un'origine comune dell'ABC e dell'ACC⁶⁴.

5.9 Adenocarcinoma mesonefrico

L'Adenocarcinoma mesonefrico è un tumore raro che deriva dai residui iperplastici mesonefrici che solitamente si localizzano nella parete laterale della cervice. Su 23 casi, l'età media delle pazienti era di 53 anni⁶⁵. Si sviluppa lentamente dalle pareti cervicali laterali, rendendosi talvolta macroscopicamente evidente dalla portio fino al segmento uterino inferiore con la possibile evidenza di una cervice di forma cilindrica.

I pattern istologici sono variabili e talvolta coesistenti, fra questi i più frequenti sono i duttali, poi vi sono i retiformi, i papillari, solidi, a cellule fusate e a cordoni sessuali. Solitamente non è presente alcuna reazione stromale. I nuclei sono di grado basso o moderato e la lesione può ricordare un carcinoma endometrioidale o un tumore misto stromale/epiteliale di basso grado. A causa della presenza di diversi patterns istologici, in diagnosi differenziale rientrano l'iperplasia mesonefrica, l'adenocarcinoma endometrioidale, il carcinoma a cellule chiare, il carcinoma sieroso, il tumore mülleriano misto maligno (MMMT) e i tumori uterini che ricordano i tumori ovarici dei cordoni sessuali (UTROSCT).

Può essere molto difficile la diagnosi differenziale con un'iperplasia mesonefrica florida per due motivi: l'iperplasia spesso coesiste e si mescola con l'adenocarcinoma mesonefrico, per di più sia le ghiandole maligne che quelle iperplastiche possono contenere materiale eosinofilo. Ma, a differenza dell'adenocarcinoma, l'iperplasia mesonefrica è spesso un ritrovamento accidentale e non dà vita ad una massa sintomatica, inoltre microscopicamente è caratterizzata da formazioni simil cistiche, tubulari o ghiandolari regolarmente disposte e non infiltranti. Il carcinoma endometrioidale si sviluppa sulla superficie della cervice mentre l'adenocarcinoma mesonefrico in profondità nello stroma cervicale (sebbene possa

estendersi poi in superficie), inoltre il carcinoma endometriode presenta un'atipia nucleare di grado maggiore così come il carcinoma a cellule chiare e il sieroso. L'MMMT ha nuclei di grado maggiore rispetto all'Adenocarcinoma mesonefrico a cellule fuse mentre gli UTROSCT mostrano una atipia inferiore e maggiormente simile a quella dell' Adenocarcinoma in esame. L'immunoistochimica appare dunque essenziale nella diagnosi differenziale. La maggior parte dei carcinomi mesonefrici risultano positivi per la citocheratina (CK) 7, per l'antigene epiteliale di membrana (EMA), per la vimentina e la calretinina, mentre sono negativi per il CEA, CK20 e per i recettori estro-progestinici⁶⁵. La positività al CD10 sia nelle strutture mesonefriche benigne che in cinque adenocarcinomi mesonefrici cervicali ha indotto alcuni Autori a considerare questo marker utile nella diagnosi differenziale con i tumori di origine Mülleriana⁶⁶. D'altro canto anche gli UTROSCT sono spesso positivi al CD10, il che ridimensiona il valore di tale marker. La prognosi dell'adenocarcinoma mesonefrico non è ben definita a causa dell'esiguo numero dei casi studiati. Comunque sembra che tali tumori, in stadio precoce, siano meno aggressivi dei comuni adenocarcinomi cervicali, sebbene possano ripresentarsi a distanza di diversi anni⁶⁵.

5.10 Adenocarcinoma metastatico alla cervice

La maggior parte degli adenocarcinomi metastatici alla cervice derivano da neoplasie che insorgono in varie zone del tratto genitale. Queste, in ordine decrescente di frequenza, sono (Tabella 5.10.1):

1) *Adenocarcinoma endometriale endometriode*: Una lesione metastatica di provenienza endometriale può essere sospettata se (a) un tumore endometriode presenta un basso grado nucleare senza AIS;

(b) la componente squamosa (se presente) è ben differenziata; (c) l'epitelio è mucinoso e strettamente somigliante all'endocervice, ma non caratteristico dell'adenoma maligno e (d) la paziente ha un'età maggiore o uguale a 60 anni.

2) *Carcinoma Sieroso Papillare*: Può originare dall'endometrio, dalle tube o dall'ovaio. La teoria più seguita è quella delle 'metastasi a goccia' dovuta in parte alla natura superficiale dei focolai metastatici. Occasionalmente il tumore primitivo è clinicamente silente e la prima lesione viene diagnosticata alla cervice. Spesso, in questi casi, il coinvolgimento delle cripte endocervicali fa pensare ad una neoplasia cervicale primitiva. Tali lesioni presentano un alto grado nucleare, una marcata positività alla p53 e sono HPV-negativi. L'età media alla diagnosi è di 50 anni.

3) *Altri siti*: mammelle, polmoni, reni, tratto gastrointestinale etc. (Tavola 5.10.1). Spesso la malattia è diffusa altrove ma talvolta può essere diagnosticata inizialmente alla cervice. Le metastasi provenienti da organi distanti di solito infiltrano diffusamente lo stroma cervicale, risparmiando l'epitelio sovrastante e le ghiandole endocervicali e possono provocare emboli neoplastici negli spazi vascolari. La morfologia rispecchia quella della lesione primitiva e solitamente differisce da quella del comune adenocarcinoma cervicale.

La ricerca dei marcatori HPV-relati risulta utile nella diagnosi differenziale con l'adenocarcinoma cervicale primitivo (Tabella 5.10.1):

Tabella 5.10.1

Metastasi vs Adenocarcinoma endocervicale primitivo		
Origine delle metastasi	Istologia delle metastasi	Biomarkers utili nella diagnosi
Endometrioide		
Endometrio	Ghiandole squamose lievemente mucinose con basso grado nucleare	Vimentina(+),ER/PR(+), CEA(-),HPV(-)
Sieroso		
Endometrio,tube,ovaie	Papille con alto grado nucleare	P53(++),HPV(-)
Stomaco	Cellule ad anello con castone, invasive	HPV(-)
Mammella	Solitamente sottotipo lobulare, talvolta cellule ad anello con castone, invasive	HPV(-)
Colon	Nuclei di alto grado, necrosi, pattern cribriforme	CK7(-),HPV(-),CDX2(+)
Rene	Rare,mimano il carcinoma a cellule chiare della cervice	CD10(+),HPV(-)
Polmone	Rare, possono somigliare ad un carcinoma endocervicale poco differenziato	TTF-1(+),HPV(-)

5.11 Lesioni Benigne che possono simulare un Adenocarcinoma cervicale (Tab. 5.11.1)

Tabella 5.11.1

Lesioni benigne che mimano un Adenocarcinoma cervicale

1. Cisti profonde di Naboth, ghiandole floride profonde
2. Tunnel clusters
3. Iperplasia ghiandolare endocervicale: Iperplasia lobulare, Iperplasia laminare diffusa
4. Adenomioma di tipo endocervicale
5. Endocervicosi, Endosalpingiosi cistica florida
6. Papilloma Mülleriano
7. Iperplasia microghiandolare
8. Iperplasia mesoneftrica
9. Prostata ectopica
10. Metaplasia tubarica profonda
11. Adenoma villoso

5.11.1 Cisti profonde di Naboth, ghiandole floride profonde

Le cisti e le ghiandole endocervicali possono estendersi lungo l'intera parete della cervice mimando macroscopicamente e microscopicamente un adenoma maligno o un adenocarcinoma con pattern d'invasione marcatamente cistico.

In caso di rottura di cisti benigne le alterazioni stromali e ghiandolari reattive allo stravasamento di mucina possono essere confuse come caratteristiche proprie di un quadro invasivo.

Comunque l'adenoma maligno e il carcinoma cistico presentano un pattern infiltrativo evidente già ad un basso potere di ingrandimento e un'atopia nucleare che supera quella delle cisti e delle ghiandole benigne.

5.11.2 Tunnel clusters

I tunnel clusters sono grappoli di cavità a fondo cieco intimamente interconnesse, localizzate sulla superficie endocervicale.

Si riscontrano solitamente in donne che hanno già avuto una gravidanza, possono essere lesioni floride o presentarsi come masse macroscopicamente evidenti⁵³. Nei tunnel clusters di tipo A (di Fluhmann), le ghiandole sono relativamente piccole, mentre nel tipo B (il tipo cistico) sono dilatate e piene di mucina. Si distinguono bene dall'adenoma maligno o dall'adenocarcinoma cistico per i loro contorni ben definiti, dalla mancanza di reazione stromale e dall'aspetto benigno delle cellule epiteliali. A volte la presenza di nuclei di maggiori dimensioni o di un lieve pleomorfismo nei tunnel clusters di tipo A, possono rendere difficile l'esclusione di un adenoma maligno, ma la presenza di un pattern non infiltrativo indirizza verso una diagnosi corretta.

5.11.3 Iperplasia ghiandolare endocervicale

L'iperplasia idiopatica delle ghiandole cervicali non è considerata un precursore dell'adenocarcinoma ma può simulare un adenoma maligno. Alcuni tipi di iperplasia cervicale non presentano un'architettura specifica ma esistono due varianti caratteristiche: l'iperplasia lobulare e l'iperplasia laminare diffusa.

1) *Iperplasia ghiandolare endocervicale lobulare*. Si riferisce a unità multiple di piccole ghiandole endocervicali, con pattern lobulare, che spesso circondano una ghiandola più grande posta al centro. Di solito rappresenta un riscontro accidentale in donne in età riproduttiva ma può manifestarsi come una lesione macroscopicamente visibile. Può simulare l'adenoma maligno ma presenta ghiandole più regolari, ha un pattern chiaramente lobulare e non invasivo, non si evidenziano sia reazione stromale che atipie nucleari. Le cellule epiteliali sono CEA negative ma, come nell'adenoma maligno, le cellule possono

manifestare un fenotipo ghiandolare di tipo pilorico, dato questo che rende inutile l'utilizzo dei marker gastrici nella diagnosi differenziale.

2) *Iperplasia ghiandolare endocervicale laminare diffusa*. E' un'iperplasia poco comune, diffusa, tubulare o ramificata, le cui ghiandole endocervicali si estendono nello stroma fino ad un certo livello e su tutta la circonferenza della cervice. Non forma una massa e si riscontra accidentalmente in uteri rimossi per altre patologie. In sezione trasversale, le ghiandole terminano improvvisamente con una linea retta, di solito confinate al terzo più interno della parete cervicale. Spesso si rileva un infiltrato infiammatorio maggiormente evidente nelle zone inferiori. Le ghiandole diffuse in maniera uniforme, i limiti inferiori netti e la mancanza di un'atipia nucleare significativa, differenziano queste lesioni dall'adenoma maligno.

5.11.4 Endocervicosi, Endosalpingiosi cistica florida

L'endocervicosi interessa più tipicamente la parete vescicale ma, in casi rari, si presenta a livello cervicale come una lesione cistica o solida macroscopicamente riconoscibile all'esterno della parete anteriore. Le ghiandole di diverse dimensioni e le cisti mucinose, delimitate da un epitelio piatto, sono disposte in maniera irregolare. Può evidenziarsi uno stravasamento di mucina da rottura delle cisti.

Nell'endosalpingiosi cistica florida la lesione cistica è profonda e presenta un epitelio di tipo tubarico piuttosto che cervicale. Le caratteristiche che distinguono l'endocervicosi e l'endosalpingiosi da una lesione cancerosa sono la localizzazione alla parete cervicale esterna e la presenza, al di sotto della superficie ghiandolare endocervicale, di uno stroma cervicale indenne.

5.11.5 Papilloma mülleriano

Questa rara lesione papillare vaginale o ectocervicale colpisce quasi esclusivamente la popolazione pediatrica ma raramente può

presentarsi anche in età adulta. Le ramificazioni papillari mostrano un ampio core fibroso, possono contenere cellule infiammatorie e sono delimitate da un singolo strato di piccole cellule epiteliali cuboidi non ciliate con piccoli nuclei. Non si rileva attività mitotica.

E' importante ricordare però come, in piccole biopsie, la superficie papillare di un adenocarcinoma endocervicale o di un adenoma maligno possa indurre a formulare una diagnosi errata di papilloma benigno. Deve essere quindi oggetto di un'analisi più approfondita il riscontro di una pur lieve atipia nucleare nel contesto di una formazione papillare non infiammatoria della cervice.

5.11.6 Iperplasia microghiandolare

L'iperplasia microghiandolare (MGH) è una lesione comune e di solito è di riscontro microscopico accidentale. Può però dar vita ad una massa polipoide sintomatica o ad un'erosione friabile superficiale. Solitamente coinvolge giovani donne in terapia con contraccettivi orali ma anche donne in postmenopausa¹⁸. In passato è stato talvolta confusa con il carcinoma a cellule chiare, poiché le ghiandole e le formazioni cistiche appaiono stipate tanto da ridurre lo stroma e molte cellule epiteliali presentano un citoplasma chiaro o vacuolato. I vacuoli sono sia sopra che sotto nucleari e possono contenere leucociti, la mucina è presente nei lumi ghiandolari. A differenza del carcinoma, le cellule epiteliali dell'MGH mostrano nuclei che possono essere dotati o meno di piccoli nucleoli, e rare figure mitotiche; le ghiandole sono circondate da uno strato di cellule di riserva o di cellule metaplasiche squamose immature. Queste ultime possono essere messe in evidenza utilizzando come marker la p63, presente nelle cellule squamose di riserva e in quelle mioepiteliali. Il citoplasma dell'MGH è CEA-negativo.

Oggi tale lesione è meglio conosciuta per cui la confusione con il carcinoma nasce solo per le varianti meno comuni. Queste possono

presentare pleomorfismo nucleare, cellule ad anello con castone, un pattern di crescita solido o trabecolare o uno stroma mixoide o ialino simile a quello presente nel carcinoma a cellule chiare.

Anche una variante di carcinoma endometriale può simulare l'MGH a causa del suo epitelio mucinoso, il pattern microghiandolare, la differenziazione squamosa ghiandolare e il basso grado nucleare. I carcinomi endometriali simili all'MGH presentano uno stroma endometriale e non endocervicale, un pattern di crescita cribriforme, i nuclei cellulari appaiono lievemente ipercromatici con diverse mitosi. Sono assenti invece le cellule di riserva perighiandolari tipiche dell'MGH.

5.11.7 Iperplasia mesonefrica

Residui mesonefrici vengono rilevati nel 22% delle cervici totalmente sezionate. Solitamente nella parete laterale, questi gruppi di piccole ghiandole ricordano i follicoli tiroidei a causa del denso materiale eosinofilo riscontrabile a livello luminale e per via delle piccole cellule cuboidali non ciliate presenti. I residui mesonefrici possono divenire iperplastici simulando un carcinoma mesonefrico, a cellule chiare o endocervicale. L'iperplasia mesonefrica, comunque, raramente dà vita a masse voluminose o si rivela sintomatica: di solito è di riscontro accidentale. Sono stati descritti tre tipi di iperplasia: diffusa, lobulare e duttale. Nel tipo diffuso (quello più facilmente confuso con un carcinoma), lo stroma endocervicale presenta ghiandole cistiche e tubuli sparsi che possono penetrare in profondità o anche estendersi in superficie. Le ghiandole si dispongono in modo uniforme, pertanto non appaiono infiltranti e non provocano una reazione stromale. I nuclei possono apparire leggermente più grandi di quelli dei residui mesonefrici e le mitosi sono occasionali. Nel tipo lobulare, le ghiandole iperplastiche si organizzano in lobuli, circondando talvolta un dotto mesonefrico centrale. In alcuni casi il

dotto predomina (iperplasia duttale) e la proliferazione intraduttale papillare può suggerire la presenza di un carcinoma papillare. In caso di iperplasia mesonefrica florida la diagnosi differenziale con il carcinoma mesonefrico può risultare abbastanza difficile. Bisogna tener presente comunque che il carcinoma si sviluppa come massa cervicale e risulta marcatamente invasivo rispetto all'iperplasia.

5.11.8 Prostata ectopica

La prostata ectopica ha istologicamente le sembianze degli ampi dotti prostatici. E' probabilmente una metaplasia più che un'eterotopia, come invece suggerirebbe il nome. E' composta da isole di varie dimensioni di epitelio misto ghiandolare e squamoso nel contesto della parete cervicale. L'epitelio ghiandolare periferico varia dal cuboidale al colonnare con citoplasma mucinoso, i nuclei sono piccoli e uniformi e ai bordi vi sono piccole cellule di riserva. Le cellule squamose centrali mostrano un citoplasma abbondante e chiaro. La conferma diagnostica si ottiene con l'uso del marcatore PSA e/o con la fosfatasi acida prostatica. E' difficile confondere una prostata ectopica con un carcinoma, ma può sorgere qualche dubbio nei confronti del carcinoma adenoideo basale e del carcinoma adenosquamoso ben differenziato.

Il carcinoma adenoideo basale è maggiormente 'basaloide', ha una più evidente atipia nucleare e interessa donne di età superiore a quelle con diagnosi di prostata ectopica. L'adenocarcinoma squamoso è caratterizzato da atipia citologica e pattern infiltrativo peculiare.

5.11.9 Metaplasia tuboendometrioide profonda

La metaplasia tuboendometrioide delle ghiandole endocervicali profonde, che appaiono stipate, irregolari o cistiche, può essere confusa con un adenocarcinoma invasivo di tipo endometrioide. Le ghiandole benigne possono essere circondate da uno stroma

edematoso o mixoide che può essere interpretato erroneamente come un fenomeno reattivo ad un processo invasivo. Nonostante le figure mitotiche occasionali, i nuclei delle cellule epiteliali non mostrano un aspetto maligno e focalmente l'epitelio appare di tipo ciliato.

5.11.10 Adenoma villosa

L'esistenza di tale lesione è oggetto di discussione. Sono stati studiati solo due casi che però presentavano entrambi un adenocarcinoma ben differenziato sottostante. Quindi, l'Adenoma villosa può essere interpretato come una componente papillare villosa del carcinoma piuttosto che una lesione distinta. Come nel caso del papilloma Mülleriano, ogni lesione papillare non infiammatoria cervicale necessita un'analisi attenta, volta ad escludere un adenocarcinoma invasivo.

5.12 Management e Prognosi dell'Adenocarcinoma della cervice uterina

5.12.1 Diffusione metastatica

La diffusione metastatica dell'adenocarcinoma cervicale differisce da quella del carcinoma squamoso. Inizialmente l'adenocarcinoma diffonde verso le strutture pelviche adiacenti e i linfonodi pelvici, poi coinvolge le ovaie, gli organi addominali e quelli a distanza più facilmente rispetto al carcinoma squamocellulare⁶⁷.

A parità di stadio, l'adenocarcinoma sembra avere una prognosi peggiore di quella del carcinoma squamoso. Alcuni studi riportano la presenza di metastasi ovariche nel 5% degli adenocarcinomi contro l'1% dei carcinomi squamocellulari⁶⁸.

5.12.2Stadiazione

Tabella 5.12.2.1

Carcinoma della Cervice		
TNM	FIGO	Tumore primitivo
Tx		La presenza di tumore primitivo non può essere accertata
T0		Nessuna evidenza di tumore primitivo
Tis		Carcinoma in situ
T1	I	Limitato all'utero
T1a	IA	Invasione stromale ≤ 5 mm e diffusione orizzontale ≤ 7 mm (tumore microinvasivo)
T1a1	IA ₁	Invasione stromale ≤ 3 mm
T1a2	IA ₂	Invasione stromale da 3mm fino a 5mm
T1b	IB	Lesione superiore a T1a2
T2	II	Esteso oltre l'utero, non alla parete pelvica o al 1/3 inf. della vagina
T2a	IIA	Assenza di coinvolgimento parametrico
T2b	IIB	Coinvolgimento parametrico
T3	III	Esteso fino alla parete pelvica e/o la vagina e/o causa idronefrosi o insufficienza renale
T3a	IIIA	Invasione del 1/3 inferiore della vagina senza estensione alla parete pelvica
T3b	IIIB	Estensione alla parete pelvica e/o idronefrosi o rene escluso
T4	IVA	Invasione della mucosa della vescica o del retto e/o estensione fuori della piccola pelvi

L'adenocarcinoma della cervice, come la sua controparte squamosa, viene stadiato secondo il sistema FIGO, basato su parametri clinici.

Alcuni aspetti dell'adenocarcinoma non sono però ben definiti dal sistema FIGO come invece accade per il carcinoma squamoso. Il carcinoma squamo-cellulare è facilmente esplorabile dall'esaminatore per cui il solo esame clinico permette già una valutazione

sull'estensione tumorale. L'adenocarcinoma invece, originando dall'endocervice, è difficilmente valutabile nella sua estensione tanto che questa viene facilmente sottostimata. L'adenocarcinoma può infiltrare ampiamente lo stroma cervicale, rendendo la cervice estremamente dura alla palpazione.

Per chiarire come il sistema FIGO non sia ottimale per la stadiazione dell'adenocarcinoma, si consideri un tumore che è cresciuto tanto da aumentare notevolmente il volume della cervice senza interessare i parametri. L'adenocarcinoma in questione, pur essendo estremamente voluminoso, secondo il sistema FIGO verrebbe ancora considerato allo stadio I, dato che è necessaria l'invasione dei parametri per rientrare nello stadio IIB. Quindi un adenocarcinoma di dimensioni anche maggiori di 6 cm può ancora essere classificato come in stadio I.

E' questo uno dei motivi per cui, a parità di stadio, l'adenocarcinoma sembra avere una prognosi peggiore del carcinoma squamoso.

Nonostante ciò, l'adenocarcinoma viene usualmente trattato, a parità di stadiazione, con le stesse modalità del carcinoma squamo-cellulare.

5.12.3 Trattamento

L'adenocarcinoma della cervice allo stadio IB può essere efficacemente trattato mediante l'isterectomia radicale: la sopravvivenza a 5 anni per gli stadi IB e IIA varia dall'80% al 90%. In caso di fattori di rischio aggiuntivi (diametro della neoplasia ≥ 4 cm, linfonodi positivi, margini di resezione interessati o liberi ≤ 3 mm) viene solitamente effettuata la radioterapia adiuvante¹⁰⁶. Peters et al. ha confrontato i risultati ottenuti dalla radioterapia somministrata da sola o insieme alla chemioterapia a donne ad alto rischio che avevano subito un'isterectomia radicale per adenocarcinoma della cervice. Da questo studio sembra che, associando la radioterapia alla chemioterapia, si ottengano i migliori risultati⁶⁸. La sola radioterapia

inoltre sembra dare risultati peggiori in caso di adenocarcinoma rispetto al carcinoma squamoso, mentre l'associazione della radioterapia alla chemioterapia presenta un esito a distanza migliore in entrambi i tumori.

La terapia delle forme localmente avanzate (stadi IIB-IVA) si avvale comunemente della combinazione dell'utilizzo di cisplatino, utilizzato alla dose settimanale di 40 mg/m^2 , da solo ovvero in associazione con fluorouracile o idrossiurea, assieme alla terapia radiante; altri farmaci citotossici utilizzati con esiti promettenti, ma non superiori a quelli ottenuti con cisplatino, sono carboplatino, paclitaxel e gemcitabina¹⁰⁷.

Questi dati però derivano da trial in cui solo il 10% delle pazienti presentavano un adenocarcinoma e, con l'eccezione dello studio di Peter et al, i risultati non sono stati analizzati separatamente.

In caso di malattia in stadio avanzato o di recidiva il trattamento dell'adenocarcinoma non differisce da quello del carcinoma squamoso.

6 STUDIO SPERIMENTALE

6.1 Obiettivi dello studio

Diversi studi hanno evidenziato la persistenza di malattia residua o invasiva dopo un trattamento conservativo per AIS, suggerendo, quale trattamento definitivo, l'isterectomia extrafasciale⁶⁹⁻⁷¹. In una review di 14 studi su 157 pazienti con margini negativi alla conizzazione effettuata per AIS, il 26% presentava ancora AIS residuo e nel 2% un cancro invasivo⁷⁰. E' d'obbligo però prendere in considerazione un trattamento conservativo, quale la conizzazione, come alternativa all'isterectomia in pazienti ancora in età fertile e desiderose di prole^{72,73}. In tal caso alla conizzazione dovrà seguire necessariamente un attento follow up, allo scopo di diagnosticare precocemente un'eventuale malattia residua o recidivante.

Finora il follow up comprendeva ripetuti esami citologici, colposcopici, biotipici e curettage endocervicale (ECC). Questi metodi, purtroppo, presentano un'alta percentuale di falsi negativi per lesioni ghiandolari, sia nella diagnosi che nel follow up delle pazienti già sottoposte a trattamento^{70,71,74-76}.

Recentemente si è focalizzata l'attenzione sulla utilità della ricerca dell'HPV nelle lesioni cervicali. Sembra infatti che, durante l'esecuzione del follow up in pazienti trattate in modo conservativo per CIN3, la presenza di HR-HPV DNA, in assenza di anomalie citologiche, possa essere correlata alla presenza di una lesione squamosa di alto grado sfuggita al PAP test^{77,78}. Sono a tutt'oggi molto scarse le informazioni riguardo il valore predittivo di neoplasia ghiandolare cervicale - residua o recidiva - della ricerca di HR-HPV

dopo un trattamento conservativo, o studi basati sull'accuratezza degli esami citologici/istologici, colposcopici e sulla ricerca di HR-HPV in caso di AIS prima e dopo il trattamento conservativo.

Il presente studio è stato condotto con lo scopo di definire meglio:

- 1) l'accuratezza diagnostica della citologia, colposcopia e istologia in caso di AIS
- 2) la prognosi dell'AIS trattato in modo conservativo
- 3) il valore della citologia cervicale e della ricerca di HR-HPV (metodo Hybrid Capture II®), nella diagnosi di AIS (o di adenocarcinoma invasivo), residuo o recidivo durante il follow up di donne trattate in modo conservativo per un AIS.

6.2 Materiali e Metodi

6.2.1 Le pazienti e il loro management

Questo studio è stato effettuato su 59 donne, sottoposte a esame colposcopico in seguito a Pap test anormale (sec. Bethesda System 2001) e trattate per AIS durante il periodo 2001-2006 presso il nostro Istituto.

Dopo aver effettuato la prima biopsia a cono è stato chiesto loro il consenso per partecipare a tale studio. Le pazienti sono state seguite fino al Maggio 2007 con un follow up della durata media di 40 mesi (mediana 42 mesi).

L'esame colposcopico è stato eseguito utilizzando un colposcopio Zeiss OPM1F (Karl Zeiss, Jena, Germania). In ogni esame si è fatto uso di acido acetico al 6% e soluzione iodo-iodurata di Lugol. La terminologia usata ha seguito la nomenclatura colposcopica del 2002, redatta dalla IFCPC (International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy), che distingue nel novero delle immagini anomale una zona di trasformazione anormale (ANTZ) di grado 1 (G1), di

grado 2 (G2), o una sospetta neoplasia invasiva. E' stata sempre documentata la presenza o meno di visibilità della giunzione squamo-colonnare (GSC) e ad ogni paziente sono state effettuate biopsie mirate e/o curettage endocervicali (ECC) di base.

Tutte le pazienti sono state sottoposte a conizzazione della cervice sia per fini diagnostici che terapeutici. Tale approccio conservativo è stato effettuato in quelle donne con lesioni ghiandolari che avevano rifiutato un trattamento radicale o desideravano preservare la loro capacità riproduttiva, dopo essere state informate sulla possibilità di persistenza/recidiva di malattia.

In 19 pazienti è stata effettuata una conizzazione a lama fredda (CKC), in 29 una LEEP (loop electrosurgical excision procedure) con un elettrodo ad ansa di 20 mm di ampiezza e 12, 15 o 20 mm di profondità (Utah Medical Products, Midvale, Utah, USA) in base alla dimensione della zona di trasformazione anormale, e in 11 una conizzazione LASER con Zeiss 50W (Karl Zeiss, Jena, Germany). Dopo il trattamento tutte le donne sono state richiamate ogni 6 mesi per il follow up. Ad ogni controllo era prevista: una visita colposcopica, un brush citologico eso ed endocervicale e un ECC. Sono stati inoltre prelevati campioni per rilevare l'eventuale presenza di HR-HPV DNA. In caso di anomalie colposcopiche è stata effettuata una biopsia mirata.

6.2.2 Istopatologia

Le biopsie sono state fissate in formalina neutra al 10%, sezionate e colorate con ematossilina-eosina per l'osservazione al microscopio. Sia per la diagnosi istologica che per il grading delle lesioni, sono stati utilizzati i criteri morfologici più comunemente usati^{79,80}. La diagnosi di AIS veniva confermata in presenza di cellule epiteliali ghiandolari cervicali pseudo-stratificate, di grandi dimensioni, con nuclei ipercromatici e figure mitotiche senza invasione stromale. Con il

termine di neoplasia cervicale ghiandolare intraepiteliale (CGIN) si è fatto riferimento ad uno spettro di alterazioni displastiche, meno severe di quelle dell'AIS, ma che includevano la presenza di figure mitotiche e atipia nucleare, quindi di proliferazione cellulare, da distinguere dall'atipia ghiandolare benigna di tipo reattivo.

Dopo la conferma istologica, le pazienti sono state sottoposte a conizzazione cervicale e ad ulteriori sezioni in caso di margini mal definiti. Ogni cono è stato poi analizzato specificando il coinvolgimento o meno dei tre margini (esocervicale, endocervicale e profondo stromale) da una neoplasia ghiandolare di ogni grado. Il cono è stato poi descritto nelle sue dimensioni (larghezza, altezza, profondità) e nel suo volume (cm³) (larghezza x altezza x profondità). Tutti gli esami istologici sono stati effettuati nel laboratorio di anatomia patologica del nostro Istituto da anatomo-patologi tenuti all'oscuro della precedente diagnosi citologica.

6.2.3 HPV DNA test

I campioni da sottoporre all'HPV test, effettuato col metodo Hybrid Capture II ® (HCII), sono stati prelevati durante l'esame colposcopico e testati con la sonda B (per genotipi di HPV ad alto rischio: tipi 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 68). Il test è stato considerato positivo per un rapporto di RLU-CO (relative light unite cut-off) di 1 pg/ml. Per la conservazione e il trasporto dei campioni in esame e dei reagenti sono state seguite le indicazioni del produttore (Digene Diagnostic Inc., USA). Inoltre in 22 campioni citologici, il rilevamento dell'HPV DNA è stato effettuato con la tecnica della PCR⁷⁸ (Polymerase chain reaction).

6.3 Risultati

L'età media delle donne che hanno partecipato allo studio era di 40,5 anni (DS 8.4 anni, range 27-63 anni). Si riportano nella tabella 6.3.1 le caratteristiche di base delle pazienti e le loro lesioni.

Tabella 6.3.1 Caratteristiche di base delle pazienti e loro lesioni

CARATTERISTICHE	NUMERO (N=59)	%
Pap test		
Negativo	1	1.7
ASCUS	2	3.4
ASC-H	1	1.7
LSIL	7	11.9
HSIL	20	33.9
AGC	19	32.2
AIS	8	13.5
Carcinoma	1	1.7
Colposcopia		
negativa	10	16.9
ANTZ 1*	5	8.5
ANTZ 2**	29	49.2
Non conclusiva	15	25.4
Giunzione squamo colonnare visibile		
Si	13	22.1
No	31	52.5
Non conclusiva	15	25.4
Biopsia		
negativa	7	11.9
CIN 1	2	3.4
CIN 2	2	3.4
CIN 3	7	11.9
CGIN	2	3.4
AIS	17	28.8
AIS e CIN 3	11	18.6
Non conclusiva	11	18.6
Istologia del cono		
CIN 3	20	33.9
SCC***, stadio IA ₁	2	3.4
SCC, stadio IA ₂	2	3.4
SCC, stadio IB	1	1.7
AIS	59	100.0
Coinvolgimento dei margini del cono		
Margini liberi	31	52.5
Margine endocervicale coinvolto	22	37.3
Margine eso- ed endo cervicale coinvolti	3	5.1
Margine endostromale coinvolto	1	1.7
Margini profondi coinvolti	1	1.7
Coinvolti tutti i margini	1	1.7

*ANTZ 1: zona di trasformazione atipica, grado 1;

**ANTZ 2: zona di trasformazione atipica, grado 2;

***SCC: carcinoma a cellule squamose

Al Pap test di ingresso il 50,9% delle pazienti presentava cellule squamose anormali; il 33,9% presentava lesioni intraepiteliali squamose di alto grado (HSIL), mentre cellule ghiandolari atipiche (AGC) o AIS, sono state riscontrate nel 45,7%. In una paziente il Pap test è risultato negativo.

L'esame colposcopico è risultato anormale in 34 pazienti su 59 (57,6%), normale in 10 casi su 59 (16,9%); tuttavia la colposcopia non è risultata conclusiva in circa un quarto del collettivo (15 pazienti, 25,4%). Da notare come la giunzione squamo-colonnare non sia stata visibile in 31 casi su 59 (52,5%), rendendo in tal modo insoddisfacente l'esame colposcopico.

Alla biopsia l'AIS è stato riscontrato come lesione isolata in 17 pazienti (28,8%), e associato a CIN3 in 11 casi (18,6%). In 11 donne sono stati rilevati gradi diversi di CIN isolata. In 2 pazienti è stata riscontrata una CGIN. Va notato come in 7 donne (11,9%) la biopsia cervicale ha dato un risultato negativo.

L'analisi istologica del cono delle 59 donne con AIS ha inoltre mostrato che in 34 casi (57,6%) l'AIS compariva come lesione pura e in 25 come lesione associata ad una patologia a cellule squamose. In particolare, in 5 pazienti (8,5%) è stato riscontrato un cancro a cellule squamose associato (SCC) (due allo stadio 1A₁, due allo stadio 1A₂ e uno allo stadio 1B, di piccolo volume e di 1.1cm di diametro), e in 20 (33,9%) si è rilevata una CIN3 coesistente.

La concordanza tra la biopsia effettuata durante l'esame colposcopico e l'esame istologico del cono si è rivelata da sufficiente a moderata (kappa pesato o ICC=0.351; 95% CI – 0.934-0.782)(p=0.214).

I margini del cono sono apparsi liberi da malattia in 31 casi (52,5%), mentre in 22 pazienti (37,3%) vi è stato un coinvolgimento dei margini endocervicali.

Analizzando il campione in funzione della tecnica di escissione non vi è stata evidenza di malattia dopo il trattamento iniziale nel 46.6% delle pazienti sottoposte a escissione con ansa, nel 50% dei conizzati trattati con il LASER e nel 61.1% delle pazienti sottoposte a conizzazione a lama fredda. La ricerca di HR-HPV DNA, effettuata col metodo HCII, ha rilevato la presenza del DNA virale in tutte le pazienti studiate tranne in una, quindi è risultato negativo solo nel 1.7% dei casi; inoltre in 19 donne positive al test HCII sono stati successivamente determinati i genotipi dei Papillomavirus coinvolti, attraverso la tecnica della PCR. Da questa analisi il tipo più frequente è risultato essere l'HPV18 (8/19; 42.1%) seguito dall'HPV16 (4/19; 21.1%). Nel 15.8% di tali pazienti è stata inoltre trovata una doppia infezione da HPV16 e HPV18. I risultati della tipizzazione virale sono apparsi significativamente correlati ($p=0.008$) con quelli della biopsia cervicale ma non con quelli del Pap test.

Il follow up è durato in media 40 mesi (DS 26.5 mesi; range 3-84 mesi) durante i quali sono state eseguite fino a 6 visite. Durante tale periodo 12 pazienti hanno subito una ulteriore conizzazione ed una paziente due: sono stati trovati residui di malattia (4 AIS e 1 adenocarcinoma stadio IA₂) in 5 di queste ultime 13 donne.

In 18 casi (30.5%) si è scelto di procedere con un intervento di isterectomia, in base alla presenza di carcinoma invasivo, ovvero della persistenza di margini positivi al cono, di multiparità, di età avanzata o in seguito alla specifica richiesta della paziente. Di queste 18 pazienti, in 13 (72.2%) i margini del cono erano coinvolti da malattia mentre nelle rimanenti 5 i margini erano negativi. Si è riscontrata malattia residua in 12 donne (66.6%), tutte con margini positivi (un caso di CIN3, uno di CGIN, due di AIS, uno di AIS e CIN3 associati,

tre di AIS associato a carcinoma squamo-cellulare di stadio IA₁ e quattro di adenocarcinoma allo stadio IA₁). Complessivamente una malattia residua o recidiva è stata osservata in 17 casi (28.8%); nel 19% in pazienti con margini liberi e nel 65% in pazienti con margini positivi alla prima conizzazione.

Al termine del follow up, le 59 pazienti sono apparse tutte libere da malattia, in 57 donne si è riscontrata la scomparsa dell'HPV mentre 2 sono rimaste HPV negative per tutto il periodo del follow up. Il Pap test non ha avuto alcun valore predittivo sul numero di conizzazioni e isterectomie da effettuare. Durante il follow up, tutte le pazienti sono state sottoposte ai seguenti esami: colposcopia, Pap test, biopsia e HCII-test. L'utilità del Pap test e dell'HC II test nella diagnosi di persistenza/scomparsa di malattia è stata monitorata nelle prime quattro visite del follow up. I risultati vengono mostrati nella tabella 6.3.2.

Tabella 6.3.2 Performance del PAP test e dell'HC II test nel follow up dopo trattamento di AIS endocervicale

Test/ Visita al follow up	Sensibilità*	Specificità	VPP	VPN	OR (95% CI)
Prima visita al FU					
Pap test	60.0(24.2-88.8)	68.9(40.8-87.9)	53.8(24.4-83.0)	73.5(44.6-91.2)	3.3(0.68-17.19)
HC II test	90.0(58.5-99.7)	56.5(29.7-85.2)	63.9(35.0-87.2)	87.5(47.6-99.5)	12.6(1.15-131.76)
Seconda visita al FU					
Pap test	65.9(20.5-95.6)	73.4(47.8-90.2)	44.4(13.7-78.8)	87.5(61.6-98.4)	5.6(0.78-39.96)
HC II test	84.7(37.6-99.5)	56.8(33.0-80.5)	41.7(15.1-72.3)	90.9(58.7-99.7)	7.1(0.67-75.21)
Terza visita al FU					
Pap test	0.0(0.0-84.2)	95.4(77.2-99.8)	0.0(0.0-97.5)	91.3(71.9-98.9)	1.1(0.96-1.24)
HC II test	0.0(0.0-84.3)	91.7(73.0-98.9)	0.0(0.0-84.2)	91.7(73.0-98.9)	1.1(0.97-1.23)
Quarta visita al FU	NC**	NC	NC	NC	NC
Quinta visita al FU	NC	NC	NC	NC	NC
Sesta visita al FU	NC	NC	NC	NC	NC

** NC : non calcolabile, tutti i casi guariti;

* biopsia e coloscopia usate come gold standard

L' HCII-test predice significativamente la persistenza/assenza di malattia solo alla prima visita del follow up, con un Odds Ratio (OR) di 12.6 (95%CI 1.15-131.76). Nonostante il valore dell'OR vada dal 3.3 al 5.6, il potere predittivo del Pap test non raggiunge significatività statistica in nessuna delle visite del follow up. Nelle visite seguenti

anche l'HPV test perde di significatività a causa della rapida riduzione dei casi con malattia persistente.

Alla prima e alla seconda visita, l'HCII-test appare più sensibile (si intende per sensibilità la capacità del test di individuare i soggetti malati), mentre il Pap test più specifico nella diagnosi di AIS residuo (per specificità si intende la capacità del test di individuare i soggetti sani). Il valore predittivo positivo (VPP) (probabilità che la paziente con un test positivo abbia effettivamente un AIS) del Pap test è piuttosto alto, mentre l'HCII-test mostra un migliore valore predittivo negativo (VPN) (probabilità che la paziente sia veramente sana in caso di negatività del test). A causa della scomparsa di AIS residuo, la definizione di questi indici di performance non è possibile alla quarta, quinta e sesta visita di follow up.

Se usati insieme e alla prima visita di follow up, il Pap test e l'HCII-test rilevano lesioni persistenti con un OR=9.0 (95% 0.89-86.41), presentando una sensibilità del 90%, una specificità del 50%, un VPP del 52.9% e un VPN del 88.9%. Alla seconda visita del follow up, l'associazione dei due test mostra una sensibilità del 100%, una specificità del 52.6%, un VPP di 40.0% e un VPN del 100% (l'OR non è calcolabile). Alla terza visita, quando la maggior parte delle lesioni è ormai scomparsa, la sensibilità è del 0%, la specificità del 91.7%, il PPV dello 0% e il VPN del 91.7%. Infine, alla quarta, quinta e sesta visita, quando non è più rilevabile alcuna lesione di AIS, non è più possibile effettuare tali valutazioni.

6.4 Discussione e Conclusioni

Diversi studi hanno dimostrato come l'impiego del Pap test come metodica di screening abbia prodotto una notevole riduzione

dell'incidenza del carcinoma squamoso della cervice uterina nelle popolazioni sottoposte a tale indagine, mentre altri lavori indicano come lesioni cervicali ghiandolari siano spesso misconosciute alla citologia tradizionale, a causa di limiti descritti in precedenza, legati sia alla tecnica che all'operatore^{29,89}. Una difficoltà ulteriore nella diagnosi di AIS consiste nel dato che molto spesso tale patologia non mostra anomalie alla colposcopia, tale per cui piccole biopsie cervicali o curettage superficiali del canale cervicale possono dare esiti falsamente negativi. Tutti questi fattori giustificano il fatto che solo il 40%-60% degli AIS sono diagnosticati prima di eseguire una conizzazione^{33,34,85}, eseguita spesso per anomalie squamose, frequentemente coesistenti a quelle ghiandolari, data la loro comune origine causata dall'HPV¹³. In più, come ricordato in precedenza, le lesioni squamose originano dalla GSC, e l'AIS viene spesso reperito ai margini superiori della zona di trasformazione^{71,85,86,88,97}. Tali caratteristiche sono state confermate anche in questo studio, ove il 33.9% degli AIS erano associati a CIN 3 ed il 8,5% al carcinoma squamoso. Il punto di partenza dell'iter diagnostico/terapeutico e di follow up delle 59 donne trattate per AIS, ed oggetto di questo studio, è stato, tranne in un caso, un Pap test anormale, che peraltro riferiva la presenza di AIS in meno del 50% dei casi^{81,82,83}. Anche la colposcopia è risultata anormale solo nel 57.7% e completamente negativa nel 16.9% dei soggetti; nel 52.5% delle pazienti la colposcopia è stata insoddisfacente a causa della non visibilità della GSC. L'apparente inappropriatezza dell'esame colposcopico probabilmente è dovuta^{72,73,81} alla multifocalità dell'AIS e alla sua localizzazione profonda nelle invaginazioni delle ghiandole endocervicali, meno accessibili rispetto alla zona di trasformazione, sede tipica delle lesioni squamose⁸²⁻⁸⁴. L'inadeguatezza della colposcopia nel rilevare

le lesioni endocervicali denota come la biopsia mirata non possa essere considerata ottimale nella diagnosi pre-chirurgica di AIS. Ciò risulta evidente in questo studio, dato che il 19,7% delle biopsie cervicali ha riscontrato solo la presenza di una SIL e addirittura l'11,9% sono risultate completamente negative. Considerata quindi l'inaffidabilità dei test diagnostici di routine nel rilevare eventuali lesioni ghiandolari in più della metà dei casi, si rende necessaria, ai fini di una diagnosi definitiva di AIS, la conizzazione della cervice con successiva conferma istopatologica.

In questo studio sono state utilizzate più frequentemente le tecniche di conizzazione mediante ansa diatermica o LASER (54,7%) rispetto alla conizzazione a lama fredda^{83,85}. I margini, alla prima conizzazione, sono risultati positivi più frequentemente in caso di escissione con ansa diatermica che non in caso di utilizzo di lama fredda (53,4% versus 38,9%, rispettivamente)^{86,87}. Questo tuttavia non dimostra la superiorità della conizzazione a lama fredda su quella eseguita con ansa, in quanto quest'ultima è spesso utilizzata per scopi diagnostico-terapeutici, mentre la prima in caso di terapia di AIS già accertato⁸⁸. Lo stato dei margini del cono, come elemento in grado di predire la presenza di malattia residua, è stato oggetto di diversi studi^{69,87,89,90,91}; una conizzazione incompleta è una causa frequente del fallimento della terapia dell'AIS: infatti si sono rilevati AIS residui o adenocarcinomi invasivi nel 50-80% delle pazienti con margini positivi e nel 20-40% delle donne con margini negativi^{69,84,87,90,91}. In questo studio una malattia residua, confermata istologicamente, è stata riscontrata nel 19% (6/31) delle pazienti con margini dei coni negativi e nel 65% (18/28) dei soggetti con margini positivi, confermando un alto rischio di persistenza o recidiva di lesioni ghiandolari, intraepiteliali o invasive, in caso di margini coinvolti da malattia⁹¹⁻⁹³.

Di fronte a coni con margini positivi e donne desiderose di preservare la propria capacità riproduttiva è necessario un rigoroso follow up e, nell'eventualità di persistenza di malattia, viene consigliata una seconda conizzazione⁹¹⁻⁹⁵.

E' evidente pertanto che il principale obiettivo del follow-up è la diagnosi precoce di malattia residua o ricorrente, che può evolvere in carcinoma invasivo nel caso in cui il trattamento effettuato non si sia rivelato risolutore⁶⁹. Gli attuali protocolli di follow-up prevedono esami citologici periodici, ECC e esami colposcopici. Tuttavia è noto che le lesioni ghiandolari possono frequentemente sfuggire alla citologia convenzionale.

E' stata recentemente proposta la ricerca dei genotipi di HPV ad alto rischio (HR-HPV) nel management delle lesioni squamo-cellulari, in particolare nel follow-up delle pazienti trattate per una CIN 2-3, in considerazione dell'elevata sensibilità e dell'alto valore predittivo negativo dell'HCII-test nella diagnosi di malattia residua o ricorrente, suggerendo come il mancato ritrovamento di HR-HPV, in questi casi, sia un buon indice di scomparsa di malattia⁷⁷. Poichè gli HR-HPV sono frequentemente coinvolti anche nell'eziologia delle lesioni ghiandolari, in questo studio si è voluta analizzare la performance della ricerca degli HR-HPV associata alla citologia cervicale nel rilevare lesioni ricorrenti o residue, confermate all'esame istologico, durante il follow-up di pazienti trattate in modo conservativo per AIS. I dati mostrano che la ricerca degli HR-HPV predice in modo significativo la scomparsa o la persistenza di malattia, al contrario del Pap test il cui potere predittivo non ha raggiunto alcuna significatività statistica in nessuna delle visite del follow-up. Inoltre l'HCII-test ha mostrato un migliore valore predittivo negativo mentre il Pap test è stato più specifico nel rilevare AIS residuo. L'associazione del Pap

test e dell'HCII test ha mostrato una sensibilità del 90.0% e un valore predittivo negativo (VPN) del 88.9% per le lesioni persistenti alla prima visita di follow-up. Alla seconda visita la sensibilità e il VPN sono stati del 100%.

Le lesioni ghiandolari in situ venivano trattate in passato con l'isterectomia extra fasciale o anche radicale per diversi motivi, tra i quali la possibilità di persistenza di malattia, nonostante i margini negativi alla biopsia escissionale - conseguente alla multifocalità delle lesioni ghiandolari (lesioni a salto) - e la possibile presenza di un adenocarcinoma invasivo nella profondità delle ghiandole endocervicali, nonostante la presenza di un epitelio sovrastante apparentemente normale⁷³.

Negli ultimi anni, il trattamento delle lesioni ghiandolari in situ prevede una minore radicalità, al fine di preservare la funzionalità riproduttiva della paziente, allorché le lesioni colpiscono giovani donne ancora in età fertile e quindi più propense verso trattamenti conservativi. Ciò è giustificato da una migliore conoscenza della storia naturale delle lesioni ghiandolari cervicali^{93,94}, e della loro associazione con l'infezione da HR-HPV^{86,96,97}.

Tuttavia, il management dell'AIS continua a essere oggetto di opinioni divergenti: infatti, mentre alcuni Autori sottolineano l'alta incidenza di malattia residua in situ o invasiva dopo conizzazione, altri enfatizzano il rischio di effettuare isterectomie non necessarie, suggerendo di indirizzare la scelta terapeutica verso trattamenti demolitivi esclusivamente in base allo stato dei margini^{85,93-95}.

L'esperienza di questo studio supporta quest'ultimo approccio, poiché il 33% delle nostre pazienti che si è sottoposto a isterectomia non ha presentato successivamente evidenza di malattia. Evidentemente la sicurezza del trattamento conservativo dell'AIS, adottato in

determinati casi, dipende dall'accuratezza dei metodi di indagine utilizzati nel predire l'evenienza di malattia residua^{98,99}. Questo studio evidenzia come l'associazione del Pap test e dell'HCII-test abbia una sensibilità del 90% nella diagnosi di lesione persistente alla prima visita di follow up e del 100% alla seconda visita, associato al valore del VPN pari al 100% alla seconda visita. Per concludere, i risultati del nostro studio suggeriscono che la ricerca di HR-HPV, associata all'esame citologico, offre chiari vantaggi, rispetto alla sola citologia, nel monitoraggio di donne trattate in modo conservativo anche in caso di neoplasia ghiandolare intraepiteliale: l'elevata sensibilità, e l'alto valore predittivo negativo dei due test in associazione, concorrono a garantire una diagnosi precoce nelle pazienti a elevato rischio di malattia ricorrente o progressiva¹⁰⁰, evitando nel contempo trattamenti radicali non necessari. Uno studio multicentrico basato su una coorte più ampia di pazienti potrebbe confermare questi dati preliminari.

BIBLIOGRAFIA

1. Friedell GH, McKay DG. Adenocarcinoma in situ of the endocervix. *Cancer* 1953; 6:887-897.
2. Jaworski RC, Pacey NF, Greenberg ML, Osborn RA. The histology diagnosis of Adenocarcinoma in situ and related lesions of the cervix uteri. *Adenocarcinoma in situ Cancer* 1988; 61:1171-1181.
3. Lee KR, Flynn CE. Early invasive adenocarcinoma of the cervix. *Cancer* 2000; 89: 1048-1055.
4. Ostor AG. Early invasive adenocarcinoma of the uterine cervix. *Int J. Gynecol Pathol* 2000; 19:29-38.
5. Pirog EC, Kleter B, Olgac S et al. Prevalence of human papillomavirus DNA in different histological subtypes of cervical adenocarcinoma. *Am J Pathol* 2000; 157:1055-1062.
6. Krane JF, Granter SR, Trask CE et al. Papanicolaou smear sensitivity for the detection of the adenocarcinoma of the cervix ; a study of 49 cases. *Cancer* 2001; 93:8-15.
7. Schoolland M, Allpress S, Sterrett GF, Adenocarcinoma of the cervix: sensitivity of diagnosis by cervical smear and cytologic patterns and pitfalls in 24 cases. *Cancer* 2002; 96:5-13.
8. Riethdorf L, Riethdorf S, Lee KR et al. Human papillomaviruses, expression of p16 and early endocervical glandular neoplasia. *Hum Pathol* 2002; 33:899-904.

9. Lee KR, Sun D, Crum CP. Endocervical intraepithelial glandular atypia (dysplasia): a histopathologic human papillomavirus and MIB-1 analysis of 25 cases. *Hum Pathol* 2000; 31:656-664.
10. Smith HO, Tiffany MF, Qualls CR, Key CR. The rising incidence of adenocarcinoma relative to squamous cell carcinoma of the uterine cervix in the United States-a 24 year population based study. *Gynecol Oncol* 2000,78:97-105.
11. Horowitz IR, Jacobson LP, Zucher PK, Currie J, Rosenshein NB: Epidemiology of adenocarcinoma of the cervix. *Gynecol Oncol* 1988; 31:25-31
12. Liu S, Semeneiw R, Probert A, Mao Y. Cervical cancer in Canada: changing patterns in incidence and mortality. *Int J Gynecol Cancer* 2001;11:24-31.
13. Andersson S, Rylander E, Larsson B et al. The role of human papillomavirus in cervical adenocarcinoma carcinogenesis. *Eur J Cancer* 2001; 37:246-250.
14. Lacey JV Jr, Frisch M, Brinton LA, et al. Associations between smoking and adenocarcinomas and squamous cell carcinomas of the uterine cervix (United States). *Cancer Causes Control* 2000;12:153-161.
15. Altekruse SF, Lacey JV Jr., Brinton LA et al. Comparison of human papillomavirus genotypes, sexual and reproductive risk factors of cervical adenocarcinoma and squamous cell carcinoma: Northeastern United States. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 188:657-663.
16. Parazzini F, La Vecchia C, Negri F et al. Case-control study of estrogen replacement therapy and risk of cervical cancer. *Br Med J* 1997;315:85-88.
17. Arbeit JM, Howley PM, Hanahan D. Chronic estrogen induced cervical and vaginal squamous carcinogenesis in human

papillomavirus type 16 transgenic mice. Proc Natl Acad Sci USA 1996; 93:2930-2935.

18. Greeley C, Schroeder S, Silverberg SG. Microglandular hyperplasia of the cervix: a true 'pill lesion? Int J Gynecol Pathol 1995;14:50-54.

19. Quade BJ, Yang A, Wang Y et al. Expression of the p53 homologue p63 in early cervical neoplasia. Gynecol Oncol 2001;80:24-29

20. Lee KR, Minter LJ, Granter SR. Papanicolaou smear sensitivity for adenocarcinoma in situ of the cervix. A study of 34 cases. Am J Clin Pathol 1997; 107:30-35.

21. Lee KR, Darragh TM, Joste NE et al. Atypical glandular cells of undetermined significance (AGUS) : interobserver reproducibility in cervical smears and corresponding thin layer preparations. Am J Clin Pathol 2002; 117:96-102.

22. Wright TC Jr, Cox JT, Massad LS, et al 2001. Consensus guidelines for the management of women with cervical cytological abnormalities. JAMA 2002; 287:2120-2129

23. Ashfaq R, Gibbons D, Vela C et al. ThinPrep Pap Test. Accuracy for glandular disease. Acta Cytol 1999; 43:81-85.

24. Bai H, Sung CJ, Steinhoff MM. ThinPrep Pap Test promotes detection of glandular lesions of the endocervix. Diagn Cytopathol 2000; 23:19-22.

25. Hecht JL, Sheets EE, Lee KR. Atypical glandular cells of undetermined significance in conventional cervical/vaginal smears and thin layer preparations. Cancer 2002; 96:1-4

26. Wang N, Emancipator SN, Rose P et al. Histologic follow up of atypical endocervical cells. Liquid based, Thin layer preparation vs. conventional Pap smear. Acta Cytol 2002; 46:453-457.

27. Krane J, Lee KR, Sun D et al. Atypical glandular cells of undetermined significance. Outcome predictions based on human papillomavirus testing. *Am J Clin Pathol* 2004; 121:87-92.
28. Ostor AG, Duncan A, Quinn M, Rome R. Adenocarcinoma in situ of the uterine cervix: an experience with 100 cases. *Gynecol Oncol* 2000; 79:207-210.
29. Negri G, Egarter-Vigl E, KAsal A et al. p16INK4a is a useful marker for the diagnosis of adenocarcinoma of the cervix uteri and its precursors: an immunohistochemical study with immunocytochemical correlations. *Am J Surg Pathol* 2003; 27:187-193.
30. Shin C.H., Schorge J.O., Lee K.R., Sheets E.E.: Conservative management of adenocarcinoma in situ of the cervix. *Gynecol Oncol* 2000;79:6-10
31. Ostor A.G., Duncan A., Quinn M., Rome R.: Adenocarcinoma in situ of the cervix: an experience with 100 cases. *Gynecol Oncol* 2000; 79:207-10
32. Andersen E.S., Nielsen K.: Adenocarcinoma in situ of the cervix: a prospective study of conization as definitive treatment. *Gynecol Oncol* 2002;86:365-9
33. Krivak T.C., Rose G.S., McBroom J.W., Carlson J.W., Winter W.E., Kost E.R.: Cervical adenocarcinoma in situ: a systematic review of therapeutic options and predictors of persistent or recurrent disease. *Obstet Gynecol Survay* 2001;56:567-75
34. Kennedy A.W., Biscotti C.V.: Further study of the management of cervical adenocarcinoma in situ. *Gynecol Oncol* 2002;86:361-64
35. Soutter W.P., Haidopoulos D., Gornall R.J., McIndoe G.A., Fox J., Mason W.P., Flanagan A., Nicholas N., Barker F., Abrahams J., Lampert I., Sarhanis P.: Is conservative treatment of adenocarcinoma in situ of the uterine cervix safe? *BJOG* 2001;108(11):1184-9.

36. Bryson P., Stulberg R., Shepherd L., McLelland K., Jeffrey J.: Is electro-surgical loop excision with negative margins sufficient treatment for cervical ACIS? *Gynecol Oncol* 2004;93:465-8
37. SOGC Clinical Practice Guidelines. Guidelines on adenocarcinoma in situ of the cervix: clinical features and review of management . *JSOGC* 1999;77:699-706
38. McHale M.T., Le T.D., Burger R.A., Gu M., Rutgers J.L., Monk B.J.: Fertility sparing treatment for in situ and early invasive adenocarcinoma of the uterine cervix. *Obstet Gynecol* 2001;98:726-31
39. Goldstein N.S.: An investigation of the mechanisms underlying the disparity between rate of residual endocervical adenocarcinoma in situ (AIS) in hysterectomy specimens and clinical failure rate following conservatively treated AIS. *Am J Clin Pathol* 2004;122(4):540-5
40. Denehy T.R., Gregori C.A., Breen J.L.: Endocervical curettage, cone margins, and residual adenocarcinoma in situ of the cervix. *Obstet Gynecol* 1997;90(1): 1-6
41. Cutler J.B., Abulafia O., Gandia J., Lee-McBrien C.: Metanalysis comparing cold knife cone biopsy and loop electro-surgical excision procedures in the treatment of adenocarcinoma in situ. Abstract from 31st Annual Meeting of SOGO. *Gynecol Oncol* 2000;76:238-9
42. Creasman W.T.: New gynecologic cancer staging. *Gynecol Oncol* 1995;58:157-8
43. Kasper H.G., DinT.V., DorethyM.G., Hannigan E.V., KumarD.: Clinical implications of tumor volume measurement in stage I adenocarcinoma of the cervix. *Obstet Gynecol* 1993;81:296-300
44. Hopkins M.P., Morley G.W.: A comparison of adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the cervix. *Obstet Gynecol* 1991;77:912-7

45. Utsugi K., Shimizu Y., Akiyama F., Hasumi K.: Is the invasion depth in millimeters valid to determine the prognosis of the early invasive cervical adenocarcinoma? A case of recurrent FIGO stage IA1 cervical adenocarcinoma. *Gynecol Oncol* 2001;82(1):205-7
46. Balega J., Michael H., Hurteau J., Moore D.H., Santiesteban J., Sutton G.P., Look K.Y.: The risk of nodal metastasis in early adenocarcinoma of the uterine cervix. *Int J Gynecol Cancer* 2004;14(1)104-9
47. Ostor A., Rome R., Quinn M.: Microinvasive adenocarcinoma of the cervix. A clinicopathologic study of 77 women. *Obstet Gynecol* 1997;89:88-93
48. Schorge J.O., Lee K.R., Sheets E.E.: Prospective management of stage IA(1) cervical adenocarcinoma by conization alone to preserve fertility: a preliminary report. *Gynecol Oncol* 2000;78(2):217-20
49. Schorge J.O., Knowles L.M., Lea J.S.: Adenocarcinoma of the cervix. *Curr Treat Options Oncol* 2004;5(2):119-27
50. Ostor A.G.: Early invasive adenocarcinoma of the uterine cervix. *Int J Gynecol Pathol* 2000;19(1):29-38
51. Elishaev E., Gilks C.B., Miller D., Srodon M., mKurman R.J., Ronnett B.M.: Synchronous and metachronous endocervical and ovarian neoplasms: evidence supporting interpretation of the ovarian neoplasms as metastatic endocervical adenocarcinomas simulating primary ovarian surface epithelial neoplasms. *Am J Surg Pathol* 2005; 29(3):281-94
52. Fadare O., Zheng W.: Well differentiated papillary villoglandular adenocarcinoma of the uterine cervix with a focal high-grade component: is there a need for reassessment? *Virchows Arch* 2005; 9:1-5

53. Young RH, Clement PB. Endocervical adenocarcinoma and its variants: their morphology and differential diagnosis. *Histopathology* 2002; 41:185-207
54. Gilks CB, Young RH, Aguirre P et al. Adenoma malignum (minimal deviation adenocarcinoma) of the uterine cervix. A clinicopathological and immunohistochemical analysis of 26 cases. *Am J Surg Pathol* 1989; 13:717-729.
55. Schorge JO, Lee KR, Lee SJ et al. Early cervical adenocarcinoma: selection criteria for radical surgery. *Obstet Gynecol* 1999; 94:386-390.
56. Zaino RJ. The fruits of our labours: distinguishing endometrial from endocervical adenocarcinoma. *Int J Gynecol Pathol* 2002; 21:1-3
57. Young RH, Scully RE. Minimal deviation endometrioid adenocarcinoma of the uterine cervix. A report of five cases of a distinctive neoplasm that may be misinterpreted as benign. *Am L Surg Pathol* 1993; 17:660-665.
58. Alfsen GC, Kristensen GB, Skovlund E et al. Histologic subtype has minor importance for overall survival in patients with adenocarcinoma of the uterine cervix: a population based study of prognostic factors in 505 patients with nonsquamous cell carcinomas of the cervix. *Cancer* 2001; 92:2471-2483.
59. Jones MW, Kounelis S, Papadaki H et al. Well-differentiated villoglandular adenocarcinoma of the uterine cervix: a clinicopathological study of 24 cases. *Int J Gynecol Pathol* 1993; 12:1-7.
60. Nordqvist SR, Fidler WJ Jr, Woodruff JM, Lewis JL Jr. Clear cell adenocarcinoma of the cervix and vagina. A clinicopathologic study of 21 cases with and without a history of maternal ingestions of estrogens. *Cancer* 1976; 37:858-871.

61. Grisaru D, Covens A, Chapman B, et al. Does histology influence prognosis in patients with early stage cervical carcinoma ? *Cancer* 2001; 92:2999-3004.
62. Zhou C, Gilks CB, Hayes M, Clement PB. Papillary serous carcinoma of the uterine cervix: a clinicopathologic study of 17 cases. *Am J Surg Pathol* 1998; 22:113-120.
63. Ferry JA, Scully RE. 'Adenoid cystic' carcinoma and adenoid basal carcinoma of the uterine cervix. A study of 28 cases. *Am J Surg Pathol* 1988; 12:134-144.
64. Grayson W, Taylor LF, Cooper K. Adenoid cystic and adenoid basal carcinoma of the uterine cervix: comparative morphologic, mucin and immunohistochemical profile of two rare neoplasms of putative 'reserve cell' origin. *Am J Surg Pathol* 1999; 23:448-458
65. Silver SA, Devouassoux-Shisheboran M, Mezzetti TP, Tavassoli FA. Mesonephric adenocarcinomas of the uterine cervix: a study of 11 cases with immunohistochemical findings. *Am J Surg Pathol* 2001; 25:379-387.
66. Ordi J, Romagosa C, Tavassoli FA, et al. CD10 expression in epithelial tissues and tumors of the gynaecologic tract. A useful marker in the diagnosis of mesonephric, trophoblastic and clear cell tumors. *Am J Surg Pathol* 2003; 27:178-186.
67. Lea JS, Sheets EE, Wenham RM, et al. Stage IIB-IVB cervical adenocarcinoma: prognostic factors and survival. *Gynecol Oncol* 2002; 84:115-119.
68. Davy ML, Dodd TJ, Luke CG, Roder Dm. Cervical Cancer: effect of glandular cell type on prognosis, treatment and survival. *Obstet Gynecol* 2003; 101:38-45.
69. Cohn DE, Morrison CD, Zanagnolo VL, Goist M, Copeland LJ. Invasive cervical adenocarcinoma immediately following a cone

biopsy for adenocarcinoma in situ with negative margins. *Gynecol Oncol* 2005; 98:158-160.

70. Shipman SD, Bristow RE. Adenocarcinoma in situ and early invasive adenocarcinoma of the uterine cervix. *Curr Opin Oncol* 2001; 13:394-398.

71. Krivac TC, Rose GJ, McBroom JW, Carlson JW, Winter We, Kost ER. Cervical adenocarcinoma in situ: a systematic review of therapeutic options and predictors of persistent or recurrent disease. *Obstet Gynecol Surv* 2001; 56:567-575.

72. ACOG Practice Bulletin. Clinical management guidelines for obstetrician-gynaecologists. Management of abnormal cervical cytology and histology. *Obstet Gynecol* 2005; 106:645-663.

73. Bryson P, Stulberg R, Shepherd L, McLelland K, Jeffrey J. Is electrosurgical loop excision with negative margins sufficient treatment for cervical ACIS? *Gynecol Oncol* 2004; 93:465-468.

74. Raab SS. Can glandular lesions be diagnosed in pap smear cytology? *Diagn Cytopathol* 2000; 23:127-133.

75. Krane JF, Granter SR, Trask CE, Hogan CL, Lee KR. Papanicolaou smear sensitivity for the detection of adenocarcinoma of the cervix: a study of 49 cases. *Cancer* 2001; 93:8-15.

76. Ruba S, Schoolland M, Allpress S, Sterrett G. Adenocarcinoma in situ of the uterine cervix. Screening and diagnostic errors in Papanicolaou smears. *Cancer Cytopath* 2004; 102:280-287.

77. Costa S, De Simone P, Venturoli S, Cricca M, Zerbini M, Musiani M et al. Factors predicting human papillomavirus clearance in cervical intraepithelial neoplasia lesions treated by conization. *Gynecol Oncol*. 2003; 90:358-365.

78. Cricca M, Venturoli S, Morselli-Labate AM, Costa S, Santini D, Ambretti M et al. HPV DNA patterns and disease implications in the

follow up of patients treated for HPV 16 high-grade carcinoma in situ. *J Med Virol.* 2006; 78:494-500.

79. Clement BP, RH Young. In: *Atlas of Gynecologic Surgical Pathology*, W.B. Saunders, Philadelphia, 2000, pp.109-113.

80. Zaino RJ. Symposium part I: adenocarcinoma in situ, glandular dysplasia, and early invasive adenocarcinoma of the uterine cervix. *Intern J Gynecol Pathol*, 2002; 21:314-326.

81. Ostor AG, Duncan A, Quinn M, Rome R. Adenocarcinoma in situ of the uterine cervix: an experience with 100 cases. *Gynecol Oncol* 2000; 79(2):207-10.

82. Azodi M, Chambers SK, Rutherford TJ, Kohorn EI, Schwartz PE, Chambers JT. Adenocarcinoma in situ of the cervix: Management options. *Gynecol Oncol* 1999; 73:348-353.

83. Andersen ES, Nielsen K. Adenocarcinoma in situ of the cervix: a prospective study of conization as definitive treatment. *Gynecol Oncol* 2002; 86:365-369.

84. Levenback WJK, Malpica A, Morris M, Burke T, Mitchell MF. Adenocarcinoma in situ of the cervix: significance of cone biopsy margins. *Obstet Gynecol* 1996; 88:82-86.

85. Akiba Y, Kubushiro K, Fukuchi, Fujii T, Tsukazaki K, Mukai M, Nozawa S. Is laser conization adequate for therapeutic excision of adenocarcinoma in situ of the uterine cervix? *J Obstet Gynaecol res* 2005; 31:252-256.

86. Widrich T, Kennedy AW, Myers TM, Hart WR, Wirth S. Adenocarcinoma in situ of the uterine cervix: management and outcome. *Gynecol Oncol* 1996; 61:304-308.

87. Goldstein NS, Mani A, The status and distance of cone biopsy margins as a predictor of excision adequacy for endocervical adenocarcinoma in situ. *Am J Clin Pathol.* 1998; 109:727-732.

88. Kennedy AW, Biscotti CV. Further study of the management of Cervical Adenocarcinoma in situ. *Gynecol Oncol* 2002; 86:361-364.
89. Sherman ME, Wang SS, Carreon J, Devesa SS. Mortality trends for cervical squamous and adenocarcinoma in the United States. *Cancer* 2005; 103: 1258-1264.
90. Bertrand M, Lickrish GM, Colgan TJ. The anatomic distribution of cervical adenocarcinoma in situ: implications for treatment. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 157:21-25.
91. McHale MT, Le TD, Burger RA, Gu M, L. Rutgers JL, Monk BJ. Fertility sparing treatment for in situ and early invasive adenocarcinoma of the cervix. *Obstet Gynecol* 2001; 98:726-731.
92. Im DD, Duska LR, Rosenheim NB. Adequacy of conization margins in adenocarcinoma in situ of the cervix as a predictor of residual disease. *Gynecol Oncol* 1995; 59:179-82.
93. Plaxe SC, Saltzstein L. estimation of the duration of the preliminary phase of cervical adenocarcinoma suggests that there is ample opportunity for screening. *Gynecol Oncol* 1999; 75:55-61.
94. Andersen ES, Arfmann E. Adenocarcinoma in situ of the uterine cervix: a clinico-pathologic study of 36 cases. *Gynecol Oncol* 1989; 35:1-7.
95. Shin CH, Schorge JO, Kenneth RL, Sheets EE. Conservative management of adenocarcinoma in situ of the cervix. *Gynecol Oncol* 2000; 79:6-10.
96. Soutter WP, Haidopoulos D, Gornall RJ, McIndoe GA, Fox J, Mason WP et al. Is conservative treatment for adenocarcinoma in situ of the cervix safe? *BJOG* 2001; 108:1184-1189.
97. Muntz GM. Can cervical Adenocarcinoma in situ be safely managed by conizations alone. *Gynecol Oncol* 1996; 61:301-303.

98. Saqi A, Gupta PK, Errol M, Babiac A, Blackmun D, Mansukhani M, Vasques M. High-risk human papillomavirus DNA testing: a marker for atypical glandular cells. *Diagn Cytopathol* 2006; 34:235-9.
99. Syrjänen KJ. Improved detection of adenocarcinoma in situ (AIS) by screening. A key to reducing the incidence of cervical adenocarcinoma? Editorial. *Acta Cytol* 2004; 48:591-594.
100. Wang SS, Sherman ME, Silverberg SG, Carreon JD, Lacey JV Jr, Zaino R, Kurman RJ, Hildesheim A. Pathological characteristics of cervical adenocarcinoma in a multi-center US-based study. *Gynecol Oncol*. 2006; 103:541-6.
101. Castellsaguè X, Diaz M, de Sanjosé S, Munoz N, Herrero R, Franceschi S, Peling RW, Ashley R, Smith JS, Snijders PJF, Meijer KJLM, Bosch FX. Worldwide human papilloma virus etiology of cervical adenocarcinoma and its cofactors: implications for screening and prevention. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98 (5):303-315
102. Crothers BA. The Bethesda System 2001: update on terminology and application. *Clin Obstet Gynecol* 2005; 48 (1):98-107
103. Wright TC, Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon D. 2006 consensus guidelines for the management of women with cervical intraepithelial neoplasia or adenocarcinoma in situ. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 197:340-345
104. Bisseling KCHM, Bekkers RLM, Rome RM, Quinn MA. Treatment of microinvasive adenocarcinoma of the uterine cervix: a retrospective study and review of the literature. *Gynecol Oncol* 2007; 107:424-430
105. Wentzensen M., du Bois A., Kommoss S., Pfisterer J., von Knebel Doeberitz M., Schmidt D., Kommoss F. No metastatic cervical adenocarcinomas in a series of p16^{INK4a} - positive mucinous or

endometrioid advanced ovarian carcinomas: an analysis of the AGO ovarian cancer study group. *Int J Gynecol Pathol* 2007; 27:18-23

106. Carballo N, Gonzales-Cortijo L, Gonzales-Martin A, Rojo A, Chiva L. Indications for adjuvant radiotherapy treatment after surgery and novel modalities of treatment. *Gynecol Oncol* 2008; 110:S41-S44

107. Gonzales-Cortijo L, Carballo N, Gonzales-Martin A, Corraliza V, Chiva LM, Lapuente Sastre F, Garcia Garcia JF, Rojo Sebastian A, Hornedo J, Colomer R. Novel chemotherapy approaches in chemoradiation protocols. *Gynecol Oncol* 2008; 110:S45-S48

108. Benedet JL, Bender H, Jones H 3rd, Ngan HY, Pecorelli S. FIGO staging classifications and clinical practice guidelines in the management of gynecological cancers. FIGO Committee of Gynecologic Oncology. *Int J Gynaecol Obstet* 2000; 70:289-262

109. Tseng CJ, Horng SG, Soong YK, Hsueh S, Hsieh CH, Lin HW. Conservative conization for microinvasive carcinoma of the cervix. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 176(5):1009-10

