

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIRURGIA

**AVALIAÇÃO DA VARIABILIDADE INTEROBSERVADOR
NO DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO
EM BIÓPSIAS DE PRÓSTATA**

RITA DE CÁSSIA ALVES SCHUMACHER

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Porto Alegre

2006

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIRURGIA

**AVALIAÇÃO DA VARIABILIDADE INTEROBSERVADOR
NO DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO
EM BIÓPSIAS DE PRÓSTATA**

RITA DE CÁSSIA ALVES SCHUMACHER

Orientadora: Profa. Dra. MARIA ISABEL ALBANO EDELWEISS

Co-orientadora: Profa. Dra. LUISE MEURER

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Medicina:
Cirurgia, da Faculdade de Medicina da
Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Porto Alegre
2006

S392a **Schumacher, Rita de Cássia Alves**

Avaliação da variabilidade interobservador no diagnóstico histopatológico em biópsias de próstata / Rita de Cássia Alves Schumacher; orient. Maria Isabel Albano Edelweiss ; co-orient. Luise Meurer - 2006.

162 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina: Cirurgia. Porto Alegre, BR-RS, 2006.

1. Neoplasias prostáticas 2. Biópsia por agulha 3. Controle de qualidade I. Edelweiss, Maria Isabel Albano II. Meurer, Luise III. Título.

NLM: WJ 858

***Para minha querida filha Roberta,
pelo seu amor e companheirismo.***

***À minha família pela compreensão
e apoio em todos os momentos.***

***À Professora Dra. Maria Isabel Albano Edelweiss a
minha profunda admiração e agradecimento pela
dedicação e exemplo que me guiaram desde o início
da minha formação acadêmica.***

AGRADECIMENTOS

À coordenação do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia, pela oportunidade da realização deste projeto.

Ao Professor Dr. Walter J. Koff, chefe do Serviço de Urologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, por possibilitar a realização deste projeto em sua linha de pesquisa.

Aos professores da Pós-Graduação em Cirurgia e de outros programas pela contribuição na minha formação.

Ao Dr. Carlos Thadeu Schmidt Cerski, professor do Departamento de Patologia e chefe do Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, local onde foi realizado este projeto.

Aos professores, médicos contratados, funcionários e residentes do Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pelo apoio na seleção dos casos e confiança no trabalho de revisão de lâminas.

Ao Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE) pelo auxílio financeiro.

Ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação (GPPG) do Hospital de Clínicas pelas orientações na realização do projeto.

À Professora Dra. Luise Meurer pela co-orientação e grande auxílio na revisão de lâminas.

À Dra. Liane Golbspan pelo auxílio na interpretação dos exames imuno-histoquímicos.

Ao Grupo de Estudos em Urologia pelas ajuda e incentivo, especialmente ao Dr. Marcos Dias Ferreira pelas preciosas orientações.

Aos doutorandos de Medicina Eduardo Terra Luccas, Tiago Ferreira Viegas e Cleber Brenner, pela ajuda na revisão de prontuários e digitação do banco de dados.

A funcionária Flávia Giusti Grossmann do Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e do Centro de Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pela realização das lâminas de imuno-histoquímica.

À equipe do Laboratório Citoclin pelo apoio e compreensão em todos os momentos, local onde também foi feita parte da documentação fotográfica.

Ao Professor Dr. João Carlos Prolla, Chefe da Unidade de Citologia do Hospital de Clínicas, local onde parte da documentação fotográfica foi realizada.

À minha irmã Ana Luísa Sant'Anna Alves, pela ajuda na fase de execução do projeto e experiência acadêmica.

Ao médico Felipe Geyer, pela ajuda na coleta de dados no início da realização deste projeto.

A equipe do laboratório Geyer pelo apoio no início deste projeto.

A Sra. Vânia Naomi Hirakata pela orientação na análise estatística e na interpretação dos resultados.

À Sras. Estela Maris Araripe e Helena Beatriz Silva Costa secretárias do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia pela disposição.

A Sra. Maria de Lourdes dos Santos Ponte, bibliotecária chefe substituta da biblioteca da Faculdade de Medicina da UFRGS, pela realização da ficha catalográfica.

À equipe do Laboratório de Patologia do Hospital Nossa Senhora Conceição pela compreensão e apoio.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-------|--|
| AMACR | Alfa-metil-coA-racemase |
| APTS | 3-aminopropiltriétoxilano |
| ASAP | “Atypical Small Acinar Proliferation” (proliferação de pequenos ácinos atípicos) |
| CaP | Câncer de Próstata |
| DAB | Diaminobenzidina |
| EG | Escore de Gleason |
| Fig | Figura |
| FIPE | Fundo de incentivo à pesquisa e eventos |
| GPPG | Grupo de Pesquisa e Pós-graduação |
| HCPA | Hospital de Clínicas de Porto Alegre |
| HE | Método de coloração que utiliza os corantes hematoxilina e eosina |
| IC | Intervalo de confiança |
| INCA | Instituto Nacional do Câncer |
| Kappa | Medida estatística de concordância entre observadores |
| Ki-67 | Antígeno nuclear (MIB-1) |
| MUC6 | Mucina epitelial encontrada nas vesículas seminais |
| n | Amostra |

| | |
|----------------|--|
| NIP | Neoplasia Intraepitelial Prostática |
| ng/ml | nanogramas/mililitros |
| PBS | Solução salina tamponada com fosfato |
| PSA | “Prostate Specific Antigen” (Antígeno Prostático Específico) |
| P63 | gene homólogo do P53 |
| P53 | gene supressor de tumores |
| R1 | Revisor 1 (primeiro revisor de lâminas) |
| R2 | Revisor 2 (segundo revisor de lâminas) |
| R3 | Revisor 3 (terceiro revisor de Lâminas) |
| 34 β E12 | citoqueratina de alto peso molecular avaliada pela imuno-histoquímica neste estudo |

LISTA DE GRÁFICOS, QUADRO E TABELAS

Gráficos

- Gráfico 1 - Variações do EG entre o Revisor 1 (R1) e o observador original34
Gráfico 2 - Variações do EG entre o Revisor 2 (R2) e o observador original34

Quadro

- Quadro 1 - Escore de Gleason, Consenso – ISUP 2005 (54) 10

Tabelas

- Tabela 1 - Variabilidade interobservador, entre o diagnóstico original e o final de biópsias de próstata estimada pelo índice kappa31
Tabela 2 - Variabilidade interobservador em exames de biópsias de próstata estimada pelo índice kappa32
Tabela 3 - .. Variações nos níveis de PSA dos pacientes nos grupos de diagnósticos em biópsias de próstata32
Tabela 4 - Variabilidade no Escore de Gleason (EG) em biópsias de próstata com diagnóstico de adenocarcinoma33
Tabela 5 - Características histológicas e rebiópsias dos focos de glândulas suspeitas nas biópsias de próstata38
Tabela 6 - Avaliação imuno-histoquímica nos focos de glândulas suspeitas e adenocarcinomas em biópsias de próstata38
Tabela 7 - Avaliação final dos diagnósticos de biópsias de próstata após revisão ...41

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|-------------|--|----|
| Figura 1 - | Fragmento de próstata obtido por biópsia transretal, apresentando uma zona de carcinoma (HE, 100x)..... | 5 |
| Figura 2 - | A: Desenho original do Escore de Gleason. B: Desenho modificado do Escore de Gleason – ISUP- 2005. | 8 |
| Figura 3 - | A: padrão 1 do EG (HE, 50x); B: padrão 2 (HE, 100x); C e D: padrão 3 (HE, 50x e 100x); E: padrão 4 (HE, 50x); F: padrão 5 (HE, 50x)..... | 9 |
| Figura 4 - | ASAP (HE, 200x) | 11 |
| Figura 5 - | NIP de alto grau, seta (HE 400x)..... | 11 |
| Figura 6 - | Cortes histológicos de biópsias de próstata corados para 34βE12 A: 100x; B: setas indicam células basais coradas (400x) | 15 |
| Figura 7 - | Exemplo 1. A: padrão 4 (setas) (HE, 100x); B: padrão 4 (setas) (HE, 400x) | 35 |
| Figura 8 - | Exemplo 2. A: padrão 3 (HE, 100x); B: padrão 4 (setas) (HE, 100x) | 35 |
| Figura 9 - | Exemplo 3. A: Padrão 2, seta indica cristalóide (HE, 100x); B: Padrão 2 (HE, 50x)..... | 36 |
| Figura 10 - | Exemplo 4. A: padrão 5 (HE, 100x); B: padrão 5 (HE, 400x) | 36 |
| Figura 11 - | A: ASAP, seta indica secreção intraluminal e cristalóide (HE, 200x); B: ASAP positiva, setas indicam células basais coradas (imuno-histoquímica-34βE12, 400x)..... | 39 |
| Figura 12 - | A: ASAP (setas) (HE, 100x); B: ASAP negativa para 34βE12 (setas) (imuno-histoquímica, 100x) | 40 |
| Figura 13 - | A: ASAP (HE, 100x); B: ASAP negativa para 34βE12 , as setas indicam glândulas negativas com fendas de retração ao seu redor (imuno-histoquímica, 100 x) | 40 |

RESUMO

Introdução e objetivos: a punção-biópsia de próstata é a principal forma de diagnóstico do câncer de próstata. A introdução da dosagem sérica do PSA e os programas de rastreamento do câncer de próstata levaram à detecção de neoplasias subclínicas e de pequenas dimensões. A utilização da revisão cega de cortes histológicos no controle de qualidade dos exames permite a reavaliação, fornece a variabilidade interobservadores e possibilita a detecção de exames discrepantes, falsos negativos e positivos. Na próstata tal prática é justificável pela frequência de diagnósticos de incerteza e de neoplasias de pequenas dimensões, que tornam a interpretação do exame mais difícil e subjetiva. O objetivo deste estudo é avaliar a variabilidade interobservador em biópsias de próstata.

Material e métodos: dois patologistas revisaram separadamente 489 exames de biópsias de próstata. Os patologistas desconheciam o diagnóstico original e informações clínicas como valor do PSA, idade e toque retal, obtidos dos prontuários clínicos. A variabilidade interobservador foi quantificada através do índice Kappa.

Resultados: foram revisadas biópsias provenientes de 191 pacientes. A média de idade foi de 65,5 anos e a média do PSA de 14,26 ng/ml (mediana=8,4 ng/ml). A concordância geral entre o diagnóstico original e o final (pós-revisão) foi de 94,3% e o índice kappa foi de 0,86 (com intervalo de confiança de 95% entre 0,8 e 0,91). O índice kappa entre os revisores foi de 0,83. A concordância entre os grupos de diagnóstico foi de 94,6% (kappa 0,85) para os exames benignos; 100% (k 0,99) nos adenocarcinomas; 76,5% (k 0,67) nas ASAPs – proliferações de pequenos ácinos atípicos e 50% (k 0,3) nas NIPs – neoplasias intraepiteliais prostáticas de alto grau.

Conclusões: Este estudo mostrou a alta concordância interobservador nos diagnósticos benignos e adenocarcinomas. As maiores variações ocorreram nas lesões pré-malignas (NIP) e nos diagnósticos duvidosos, expressas por uma menor concordância interobservador e baixo índice kappa. A revisão cega de biópsias de próstata pode ser útil e deve ser recomendada nos casos duvidosos, onde há uma forte suspeita de neoplasia, uma vez que o diagnóstico de neoplasias pequenas e lesões pré-neoplásicas é de difícil interpretação e pode estar relacionada a uma maior variabilidade interobservador.

Palavras-chave: câncer prostático, biópsia por agulha, controle de qualidade.

ABSTRACT

Introduction: prostate needle biopsy is the standard procedure for the diagnosis of prostate cancer. The introduction of PSA screening and other screening methods has allowed for the detection of subclinical and minimal carcinomas of the prostate. The blind review of histological sections for the quality control of exams permits reassessment, provides interobserver variability and allows the detection of discrepant exam results, false negatives and false positives. This practice is justified in case of the prostate, due to the frequently uncertain diagnoses and due to the presence of focal carcinoma, which render the interpretation of exam results more difficult and less objective. The aim of this study is to assess the interobserver variability in prostate biopsies carried out at a teaching hospital.

Materials and Methods: two pathologists individually reviewed 489 prostate biopsies. Both pathologists were blinded to the original diagnosis and to clinical data such as PSA levels, age, and digital rectal examination status. Interobserver variability was measured using the kappa coefficient.

Results: a total of 489 biopsies of 191 patients were reviewed. Mean patient age was 65.5 years, and PSA levels averaged 14.26 ng/ml (median:8,4ng/ml). Overall agreement between the original and final diagnoses was 94.3% with a kappa of 0.86 (95%CI between 0.8 and 0.91). The interobserver kappa value was 0.83. Agreement among diagnostic groups was 94.6% (kappa = 0.85) for benign exams; 100% (kappa = 0.99) for adenocarcinomas; 76.5% (kappa = 0.67) for atypical small acinar proliferations (ASAP) and 50% (kappa = 0.3) for high-grade prostatic intraepithelial neoplasias (HGPIIN).

Conclusions: The blind review of prostate biopsies can be useful and is recommended in uncertain cases highly suspicious of malignancy, since the diagnosis of minimal carcinoma and preneoplastic lesions is difficult and is related to a larger interobserver variability.

Key words: prostate cancer, needle biopsy, quality control.

SUMÁRIO

| | |
|--|------------|
| LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS | vii |
| LISTA DE GRÁFICOS, QUADRO E TABELAS | ix |
| LISTA DE FIGURAS | x |
| RESUMO | xi |
| ABSTRACT | xii |
| 1 INTRODUÇÃO | 1 |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 3 |
| 2.1 EPIDEMIOLOGIA | 3 |
| 2.2 BIÓPSIA DE PRÓSTATA | 4 |
| 2.3 CRITÉRIOS DIAGNÓSTICOS E CARACTERÍSTICAS DO ADENOCARCINOMA DE PRÓSTATA..... | 5 |
| 2.4 ASAP E NIP | 10 |
| 2.5 ENTIDADES QUE MIMETIZAM O CÂNCER DE PRÓSTATA | 12 |
| 2.6 CONSIDERAÇÕES TÉCNICAS | 13 |
| 2.7 IMUNO-HISTOQUÍMICA | 14 |
| 2.8 VARIABILIDADE INTEROBSERVADOR..... | 18 |
| 2.9 CONTROLE DE QUALIDADE | 20 |
| 3 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO | 23 |
| 4 OBJETIVOS DO ESTUDO | 24 |
| 5 MATERIAL E MÉTODOS | 25 |
| 6 RESULTADOS | 30 |
| 7 DISCUSSÃO | 43 |
| 8 CONCLUSÕES | 50 |
| 9 REFERÊNCIAS | 51 |
| 10 ARTIGO EM PORTUGUÊS: AVALIAÇÃO DA VARIABILIDADE INTEROBSERVADOR NO DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO EM BIÓPSIAS DE PRÓSTATA | 63 |
| RESUMO | 65 |
| INTRODUÇÃO..... | 66 |
| PACIENTES E MÉTODOS | 67 |

| | |
|--|------------|
| RESULTADOS..... | 70 |
| DISCUSSÃO | 72 |
| REFERÊNCIAS..... | 79 |
| 11 ARTIGO EM INGLÊS: INTEROBSERVER VARIABILITY IN HISTOPATHOLOGICAL DIAGNOSIS IN PROSTATE BIOPSIES..... | 87 |
| ABSTRACT | 89 |
| INTRODUCTION..... | 90 |
| MATERIALS AND METHODS | 91 |
| RESULTS | 93 |
| DISCUSSION..... | 96 |
| REFERENCES..... | 103 |
| ANEXOS | 111 |
| ANEXO 1: Ficha de revisão de lâminas de biópsias de próstata | 112 |
| ANEXO 2: Ficha de avaliação diagnóstica pós-revisão de biópsias de próstata | 113 |
| ANEXO 3: Significado e interpretação do índice kappa | 114 |
| ANEXO 4: Técnica da imuno-histoquímica | 115 |

1 INTRODUÇÃO

A punção-biópsia de próstata é a principal forma de diagnóstico do câncer de próstata. Após a introdução da dosagem sérica do antígeno prostático específico (PSA) e a possibilidade do rastreamento do câncer na população, através do exame ultrassonográfico com biópsia, houve um avanço no diagnóstico precoce das neoplasias de próstata, possibilitando a detecção da doença em estágios iniciais e subclínicos. Do ponto de vista da avaliação pelo patologista, contudo, isto significou um aumento no diagnóstico de processos benignos da próstata, neoplasias de pequenas dimensões, lesões pré-neoplásicas e outras condições que podem mimetizar características histológicas do adenocarcinoma e trazer dificuldade para a interpretação das biópsias por agulha (9,13,51-53,65,70,72,107,133).

O número elevado de casos com diagnósticos duvidosos e adenocarcinomas focais propiciou o surgimento de acrônimos como ASAP (proliferação de pequenos ácinos atípicos) e NIP (neoplasia intraepitelial prostática) (12,49,131). Nos últimos anos a discussão dos seus significados em biópsias mostra a importância destes diagnósticos no seguimento dos pacientes (10,16,28,32,49,53,71,74,76,124,126, 132).

Vários trabalhos mostram que a rebiópsia de pacientes com diagnóstico de

ASAP em biópsias sextantes acaba por revelar adenocarcinoma em 21 a 49% dos casos (10,16,28,32,49,71,74-76,91,100,110,116,124,126,132). A introdução de protocolos de biópsias sextantes estendidas, mais amplas, confirmam a importância e o valor preditivo do diagnóstico dos casos duvidosos (ASAP) (127).

Por outro lado, também houve uma tentativa de classificar melhor estas lesões com a utilização da imuno-histoquímica, inicialmente com a citoqueratina 34 β E12, o p63 e posteriormente com a alfa-metil-coA-racemase (AMACR). Vários trabalhos demonstram a baixa sensibilidade e especificidade destes marcadores isoladamente e em coquetéis, evidenciando a necessidade de se aliar os critérios morfológicos aos aspectos clínicos na decisão diagnóstica (59,68,69,83,103,134, 140,142).

Outros trabalhos apontam as dificuldades diagnósticas e a variabilidade interobservador nos diagnósticos histopatológicos de biópsias de próstata e na graduação do Escore de Gleason (EG). A maior parte dos trabalhos enfoca as variabilidades nos padrões do EG nas biópsias e peças de prostatectomia (4,5,8,27,33,38,41,47,62,63,73,93,99,108,109,119). A variabilidade geral do diagnóstico histopatológico em biópsias de próstata é pouco estudada (93).

Alguns estudos demonstram o papel da “segunda opinião” na elucidação dos diagnósticos duvidosos e o seu impacto econômico e prognóstico (105,136). A revisão cega de biópsias de próstata pode mostrar onde se encontram as principais discrepâncias no diagnóstico do adenocarcinoma prostático, além de propiciar uma maior uniformidade dos exames e segurança nos diagnósticos duvidosos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 EPIDEMIOLOGIA

O câncer de próstata (CaP) é uma das neoplasias malignas mais freqüentes no homem, sendo o sexto tipo de câncer mais comum no mundo e a terceira causa de morte por câncer. Nos países desenvolvidos é um dos tumores malignos mais freqüentemente diagnosticados no sexo masculino, sendo a segunda causa de morte por câncer em homens nos Estados Unidos. Em 2005 a estimativa nos Estados Unidos foi de que 33% das neoplasias diagnosticadas no homem fossem da próstata e a mortalidade por este tipo de câncer fosse em torno de 10% de todas as neoplasias nos homens, sendo superada apenas pelo câncer de pulmão (7).

No Brasil é a quarta causa de morte por neoplasias no homem (78). Em 1979 a taxa de mortalidade bruta por CaP era de 3,73/100 mil homens, passando a 8,93/100 mil homens em 1999. A taxa de incidência por CaP no Brasil era de 40,49 casos/100 mil habitantes em 2003, sendo superada apenas pelas neoplasias malignas não melanocíticas de pele. A incidência e a taxa de mortalidade aumentaram nos últimos anos, e ainda assim, as estatísticas oficiais subestimam principalmente a incidência da doença (7,78,79).

Entre os fatores de risco associados ao desenvolvimento desta neoplasia destaca-se a idade avançada, contudo, o CaP é uma doença multifatorial e heterogênea que envolvendo também fatores genéticos e ambientais. Outros fatores de risco são: história familiar, dieta, etnia e sedentarismo (39,40,78).

O CaP é uma neoplasia de início insidioso, que acomete pacientes principalmente acima dos 50 anos, apresenta prognóstico variável e história natural pouco conhecida. Como em qualquer outra neoplasia maligna, há a preocupação em se fazer o diagnóstico precoce, diminuindo a chance de doença avançada, mutilante e metastática. Com a introdução da dosagem sérica do antígeno prostático específico (PSA) no rastreamento do CaP, houve um avanço importante no diagnóstico precoce da doença, que conseqüentemente levou a um aperfeiçoamento maior dos vários métodos diagnósticos, sendo possível a detecção de mais pacientes com neoplasias subclínicas (23,101).

2.2 BIÓPSIA DE PRÓSTATA

A punção-biópsia prostática transretal guiada por ultrassom é a principal forma de diagnóstico do CaP, sendo o adenocarcinoma acinar o tipo histológico de neoplasia maligna mais freqüentemente diagnosticado nesse órgão (figura 1). Este método foi introduzido na década de oitenta. Inicialmente utilizava-se uma agulha 14 gauges que posteriormente foi substituída pela agulha 18, mais fina, o que acarretou uma diminuição das complicações advindas do método, possibilitando a realização de biópsias mais amplas. Atualmente realizam-se biópsias de seis locais diferentes da próstata, as chamadas biópsias sextantes, ou estendidas que podem variar de 10 a 18 fragmentos (106,112). Os fragmentos são retirados bilateralmente do ápice,

terço médio e base da próstata. O diagnóstico histopatológico do adenocarcinoma de próstata tem uma grande importância no manejo dos pacientes, fornecendo informações essenciais para a conduta terapêutica e prognóstico destes e o desenvolvimento de biópsias mais amplas permitiu um aumento da acurácia do exame (23,36).

Erro!

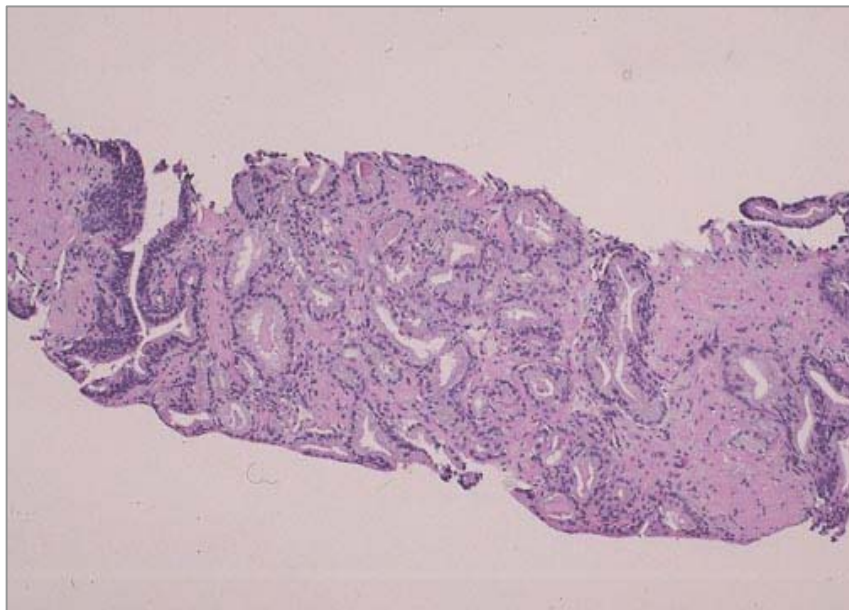


Figura 1 - Fragmento de próstata obtido por biópsia transretal, apresentando uma zona de carcinoma (HE,100x)

2.3 CRITÉRIOS DIAGNÓSTICOS E CARACTERÍSTICAS DO ADENOCARCINOMA DE PRÓSTATA

A próstata é uma glândula que pesa cerca de 20g no homem adulto, formada por elementos epiteliais e estromais, que dependem da estimulação androgênica para sua diferenciação e crescimento. A glândula é dividida em três zonas, segundo o esquema de MacNeal (96): central (que envolve os ductos ejaculadores), de

transição (que envolve a região periuretral) e periférica (cortical) (18,96). A zona de transição é o sítio preferencial da hiperplasia nodular e a zona periférica é a mais suscetível ao desenvolvimento do carcinoma e à inflamação, contudo a zona de transição também pode ser um local de neoplasias. De acordo com este esquema anatômico 85% a 90% dos carcinomas ocorrem na zona periférica (18,23).

Histologicamente a próstata é constituída por um sistema ducto-acinar que é revestido por células colunares secretoras que se assemelham muito, tanto nos ácinos como nos ductos, nas diferentes zonas. A unidade acinar apresenta uma camada de células secretoras, uma camada de células basais e a membrana basal. As células basais são células de reserva achatadas e alongadas de difícil visualização nas colorações de rotina (hematoxilina e eosina-HE) (18,23).

O diagnóstico do adenocarcinoma prostático apresenta vários critérios histológicos que são considerados essenciais na interpretação microscópica. O primeiro é o padrão infiltrativo das glândulas, que diz respeito aos aspectos arquiteturais da neoplasia, no qual se baseia o Escore de Gleason (EG) (figura 2). Os outros dois critérios são a ausência de células basais e as características nucleares, sendo a presença de nucléolos proeminentes um dos aspectos mais importantes. Além destes três critérios existem outros achados histológicos, alguns não exclusivos do adenocarcinoma, mas que são encontrados nesta neoplasia com uma freqüência elevada. A presença de cristalóides na luz de glândulas, de mucina intraluminal, de arranjos glomerulóides, de micronódulos hialinos, de fendas de retração tecidual ao redor das glândulas e de nucléolos múltiplos e excêntricos são achados que colaboram para o diagnóstico de malignidade. O padrão glomerulóide e

os micronódulos hialinos são achados morfológicos exclusivos do adenocarcinoma, porém raramente evidenciados em biópsias. Assim como a permeação neural e a invasão periprostática das glândulas neoplásicas, que também são achados que indicam malignidade por si só, porém nem sempre estão presentes em amostras pequenas e não são essenciais na elaboração diagnóstica (11,13,14,52,53,88,139).

O EG se baseia no tamanho e arranjo das glândulas neoplásicas e o grau é atribuído somando-se o padrão mais freqüente e o segundo padrão mais freqüente. O padrão 1 é bastante raro e pouco diagnosticado em biópsias. Sua identificação é difícil por tratarem-se de glândulas muito bem diferenciadas que dependem do arranjo nodular para a sua identificação. Assim como o padrão 1, o padrão 2 também é bem diferenciado e de difícil diagnóstico quando padrão único. Muitos autores não recomendam o diagnóstico dos graus 2 a 4 em biópsias (17,51,54). O padrão 3 é o mais freqüentemente encontrado nas biópsias de próstata e é considerado um padrão intermediário de diferenciação. O padrão 4 e 5 são mais indiferenciados e menos freqüentes que o padrão intermediário (17,23,45,54,99). Na figura 2 pode ser observado o desenho original do EG e o desenho modificado do EG, aceito atualmente. Na figura 3 pode-se observar as características histológicas de cada padrão.

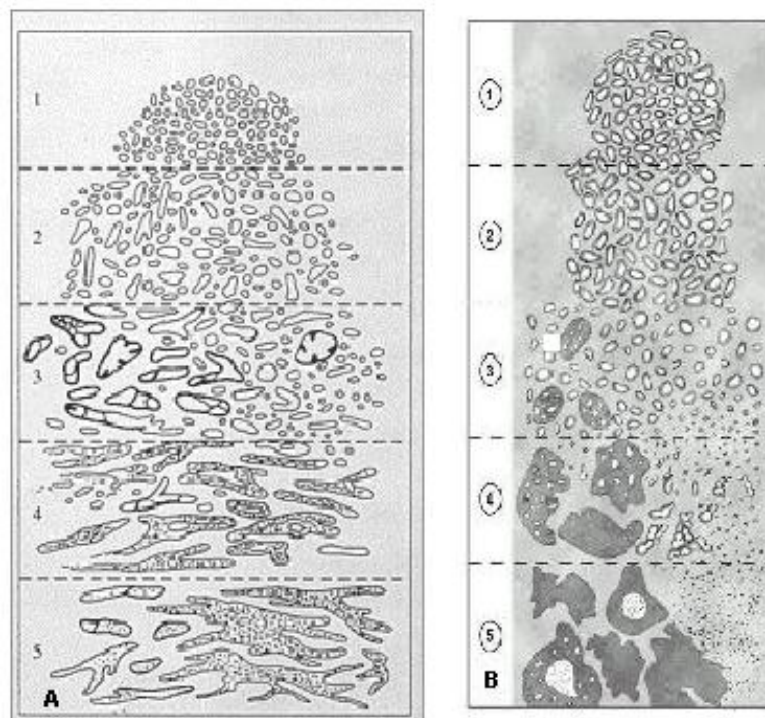


Figura 2 - A: Desenho original do Escore de Gleason. B: Desenho modificado do Escore de Gleason – ISUP- 2005. Padrão 1: glândulas de tamanho médio e regular, próximas e com pouco estroma entre si, formando nódulos. Padrão 2: glândulas de tamanho médio e alguma irregularidade, com nítido estroma entre si, formando nódulos. Padrão 3: glândulas com nítido padrão infiltrativo, pequenas e irregulares, formando angulações, formações cribriformes ou papilares regulares. Padrão 4: glândulas com padrão infiltrativo, microacinar, cribriforme ou papilar com bordas irregulares, formação de cordões e fusão de glândulas. Padrão 5: cordões de células neoplásicas ou ninhos infiltrativos, com pouco ou nenhum arranjo glandular, comedonecrose. (Fonte: Gleason DF. Classification of prostatic carcinomas. *Cancer Chemother. Rep.* 1966;50:125-128)(64).

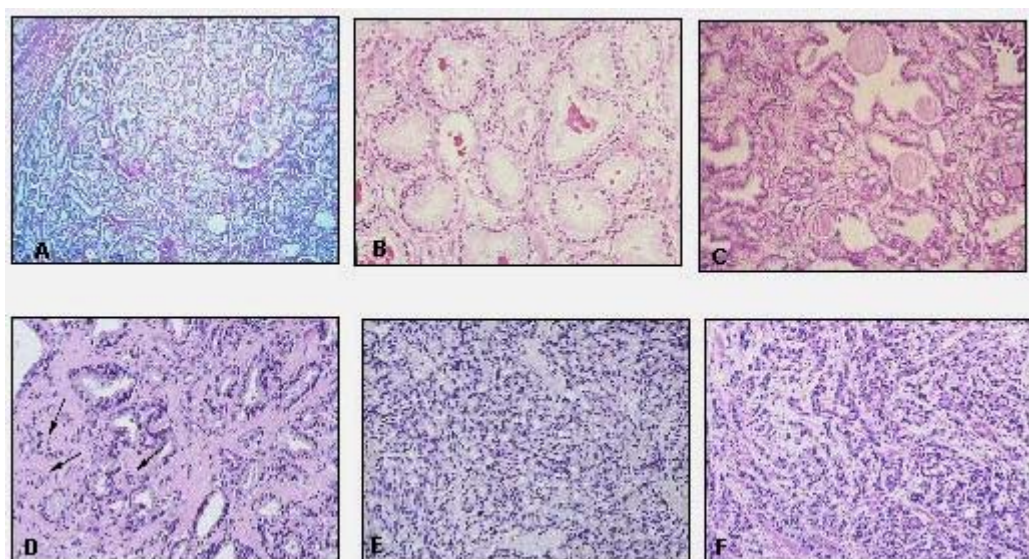


Figura 3 - A: padrão 1 do EG (HE, 50x); B: padrão 2 (HE, 100x); C e D: padrão 3 (HE, 50x e 100x); E: padrão 4 (HE, 50x); F: padrão 5 (HE, 50x)
(fonte:www.pathology.jhu/prostate)

O EG é um importante fator prognóstico que se correlaciona com diversas outras variáveis. Os escores mais elevados, de 7 a 10, relacionam-se com pior prognóstico, e os escores 5 e 6 estão associados a doença menos agressiva (24).

Nos últimos anos foram criados nomogramas para predizer o estágio patológico e progressão da doença após cirurgia ou radioterapia, e o EG representa um importante aspecto nesta avaliação (95).

É importante ressaltar que o EG foi criada na década de 60, numa época que antecedeu a utilização da punção-biópsia de próstata como método diagnóstico. A descrição original de neoplasias bem diferenciadas foi realizada em peças de ressecções trans-uretrais e prostatectomias, onde havia maior volume tumoral, relações anatômicas e estrutura mais global dos tumores. Além disso, a larga experiência e utilização do EG pôde demonstrar melhor as diferenças principalmente nos padrões 3 e 4, o que levou à necessidade de adaptações em sua classificação.

Atualmente o EG é o único recomendado pela OMS e foi recentemente reformulado (Quadro 1) (Figura 2B) (54,99). Existem várias denominações para esta classificação: Sistema de Gleason, Grau de Gleason e Escore de Gleason. O termo Escore de Gleason será usado neste trabalho, para fins de uniformização.

Quadro 1: Escore de Gleason, Consenso – ISUP 2005 (54)

| |
|---|
| Padrão 1: nódulo circoscrito de ácinos de médio tamanho, arredondados ou ovais, uniforme, amontoados mas separados (glândulas maiores que no padrão 3) |
| Padrão 2: semelhante ao padrão 1, bem circoscrito, na periferia do nódulo pode haver infiltração mínima. As glândulas são mais próximas uma das outras e não tão uniformes como no padrão 1. |
| Padrão 3: glândulas menores que no padrão 1 e 2, infiltrando o estroma e os ácinos não neoplásicos, marcada variação de forma e tamanho, nódulos tumorais de padrão cribriforme pequenos e com bordas regulares |
| Padrão 4: fusão de glândulas com padrão microacinar, glândulas com lúmen pobremente formados, glândulas cribriformes grandes, glândulas cribriformes com borda irregular, padrão hipernefróide. |
| Padrão 5: ausência de diferenciação glandular, composto de ninhos sólidos, cordões ou células isoladas; comedocarcinoma com necrose central, envolto por massas de padrão sólido, cribriforme ou papilar. |

2.4 ASAP E NIP

A dosagem do PSA e os programas de prevenção do CaP levaram a detecção de lesões cada vez mais restritas e iniciais, como também de entidades benignas, o que refletiu enormemente na interpretação dos achados histológicos. Os maiores dilemas em biópsias prostáticas dizem respeito a amostragem muito pequena da neoplasia (46,138). Nos últimos anos foi introduzido um termo chamado “proliferação de pequenos ácinos atípicos” (“atypical small acinar proliferation”- ASAP), o qual é empregado em proliferações acinares suspeitas de neoplasia que não preenchem todos os critérios para adenocarcinoma, tanto do ponto de vista morfológico como quantitativo. A ASAP é definida como uma pequena área de 1 a 2 milímetros, onde as glândulas são pequenas e semelhantes ao padrão 3 do EG, com nucléolos evidentes e camada basal ausente ou pouco nítida (figura 4). A incidência deste diagnóstico é demonstrada por diversos autores com percentuais

que variam de 0,4 a 23,4% de todas as biópsias (46,100). Alguns autores não recomendam o seu uso por não representar uma entidade patológica distinta e sim uma forma de expressar uma dificuldade diagnóstica, que pode representar um grupo de lesões de difícil diagnóstico em biópsias, que não necessariamente estão restritas a pequenos focos suspeitos, mas também lesões maiores que podem gerar dúvidas (17,50).

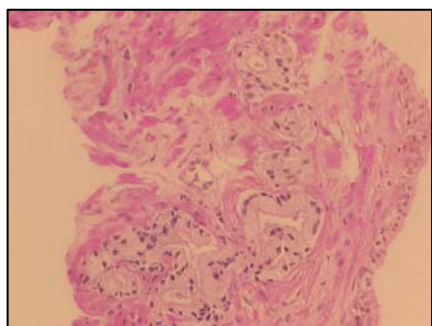


Figura 4 - ASAP (HE, 200x)

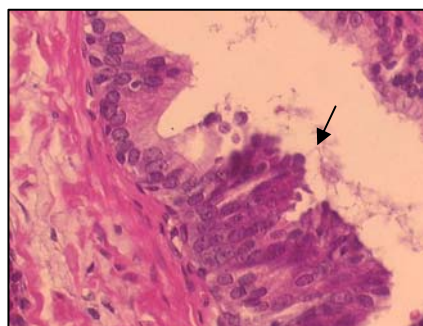


Figura 5 - NIP de alto grau, seta (HE 400x)

Outro achado bastante comum e de relevância clínica é a presença de neoplasia intraepitelial prostática de alto grau (NIP). A NIP representa nas biópsias de próstata uma condição pré-neoplásica que pode preceder o adenocarcinoma ou pode estar associada a este (131). A NIP está presente em cerca de 1,5 % a 25 % das biópsias de próstata, com média de cerca de 7% (figura 5) (42,100,143).

Diversos trabalhos mostraram a importância prognóstica da avaliação da NIP e da ASAP nas biópsias sextantes de próstata. Alguns autores demonstraram a relação entre a presença e o número de fragmentos com NIP e o aparecimento de carcinoma em biópsias subseqüentes, variando este risco em torno de 27% a 79% nos diversos trabalhos existentes na literatura (19,22,85,86,90,126,144). Da mesma forma, a ASAP está relacionada a um risco aumentado de neoplasia em biópsias

posteriores, fazendo-se o diagnóstico de câncer em 21 a 49% dos casos nas rebiópsias (15,100,128). Assim, estabeleceu-se um grupo de pacientes de maior risco para apresentar uma neoplasia em biópsias posteriores, preconizando-se a estes pacientes acompanhamento clínico, dosagem de PSA e rebiópsia (1,15,21,25,36,42,75,145).

Um estudo de coorte recente de Schlesinger e colaboradores acompanhou um número significativo de pacientes com diagnóstico prévio de ASAP, NIP ou ambos (336 pacientes), mostrando um valor preditivo para carcinoma de próstata de 23% na NIP, 37% na ASAP e 33% na ASAP + NIP (128). Um outro estudo de Moore e colaboradores apresentou um resultado semelhante na ASAP (36%) e bem inferior na NIP (4,5%), quando eram realizadas biópsias estendidas, demonstrando uma diminuição do risco destes pacientes apresentarem câncer em biópsias posteriores quando se fazem biópsias mais amplas (100).

2.5 ENTIDADES QUE MIMETIZAM O CÂNCER DE PRÓSTATA

Além da ASAP, da NIP e dos carcinomas focais, outras entidades patológicas podem estar presentes no exame da biópsia de próstata, que classicamente são descritos como situações que mimetizam o carcinoma. Tal dificuldade é em parte explicada pela ausência da arquitetura global das lesões nas biópsias. Entre os mimetizadores do câncer, a atrofia acinar, a adenose, a hiperplasia adenomatosa atípica e a hiperplasia de células basais são os mais importantes a serem mencionados (70).

Uma série de trabalhos tratam de descrever estas lesões em biópsias, discutindo amplamente os critérios no diagnóstico diferencial (3,9,12,52,72,107). Por se tratarem muitas vezes de situações de diagnóstico polêmico e apresentarem dificuldades técnicas e de amostragem, o desenvolvimento de rotinas e técnicas de aperfeiçoamento e aumento da acurácia do diagnóstico foram desenvolvidas.

2.6 CONSIDERAÇÕES TÉCNICAS

A amostragem do material representativo de neoplasia tem importância prognóstica e determina o manejo clínico-cirúrgico dos pacientes, podendo ser influenciada pela qualidade das lâminas. Também a quantidade de fragmentos envolvidos, o tamanho dos fragmentos, o volume tumoral, o EG e a invasão perineural dependem da boa técnica histológica e amostragem das neoplasias nos cortes histológicos (20,34,77,84). As neoplasias de alto grau (EG igual ou maior que 8) são um exemplo, quando focalmente representadas na biópsia e revelando-se bem mais extensas nas prostatectomias (35,58,114). Nos laboratórios de patologia, os cortes histológicos de biópsias de próstata em geral são realizados em dois a três níveis de aprofundamento, no sentido de realizar uma amostragem bem completa do fragmento, evitando ocultar pequenos focos de neoplasia e lesões suspeitas. Também são obedecidas algumas regras na inclusão das amostras para que não fragmentem e não fiquem tortuosas após o processamento. É recomendada a mínima manipulação do material com pinça, colocação de poucos fragmentos no mesmo cassete e o tingimento dos mesmos com eosina ou nanquim antes do processamento (30,31,36,87,137).

Do ponto de vista da avaliação microscópica é importante que o patologista tenha uma boa experiência e que utilize todos os recursos de apoio existentes para realizar o diagnóstico preciso, como por exemplo a imuno-histoquímica e a consulta por um outro patologista do seu departamento ou de outro serviço (36,137).

2.7 IMUNO-HISTOQUÍMICA

A imuno-histoquímica é um método complementar de diagnóstico em patologia principalmente utilizado na determinação da histogênese de neoplasias. Esta técnica utiliza anticorpos monoclonais específicos que podem se ligar a antígenos teciduais específicos, neoplasias e substâncias produzidas por elas. Para as células epiteliais existe uma variedade de subtipos de citoqueratinas, com pesos moleculares diferentes, que as identificam conforme a origem epitelial. A citoqueratina é identificada através de uma ligação antígeno-anticorpo, que é possibilitada por esta técnica, na qual se utilizam anticorpos ligados a cromógenos que podem ser visualizados em cortes histológicos.

No carcinoma prostático, o estudo imuno-histoquímico pode ser utilizado para melhor visualização da camada de células basais e detecção de substâncias produzidas pelo tumor como a fosfatase ácida prostática e o PSA. Estas duas últimas são utilizadas quando se quer comprovar a origem prostática de uma neoplasia, sendo de pouca utilização em biópsias. Já as células basais, como fazem parte dos critérios diagnósticos do adenocarcinoma, são mais utilizadas nas biópsias.

O ácino prostático é constituído por duas camadas de células, uma basal e outra superficial que secreta o líquido prostático. As células basais não são encontradas nos adenocarcinomas e em geral estão presentes nos outros processos não neoplásicos e na NIP. Acredita-se que as células basais representam o compartimento de reserva do epitélio prostático e que sua interrupção ou perda é um passo importante na gênese da NIP para o carcinoma invasor. A visualização desta camada de células pode ser difícil mesmo em processos benignos.

O marcador imuno-histoquímico mais utilizado para a detecção das células basais é o anticorpo monoclonal para 34 β E12 (figura 6). Além deste marcador que é amplamente utilizado, também existem o p63 e a citoqueratina 5 e 6, que também coram as células basais (2,59).

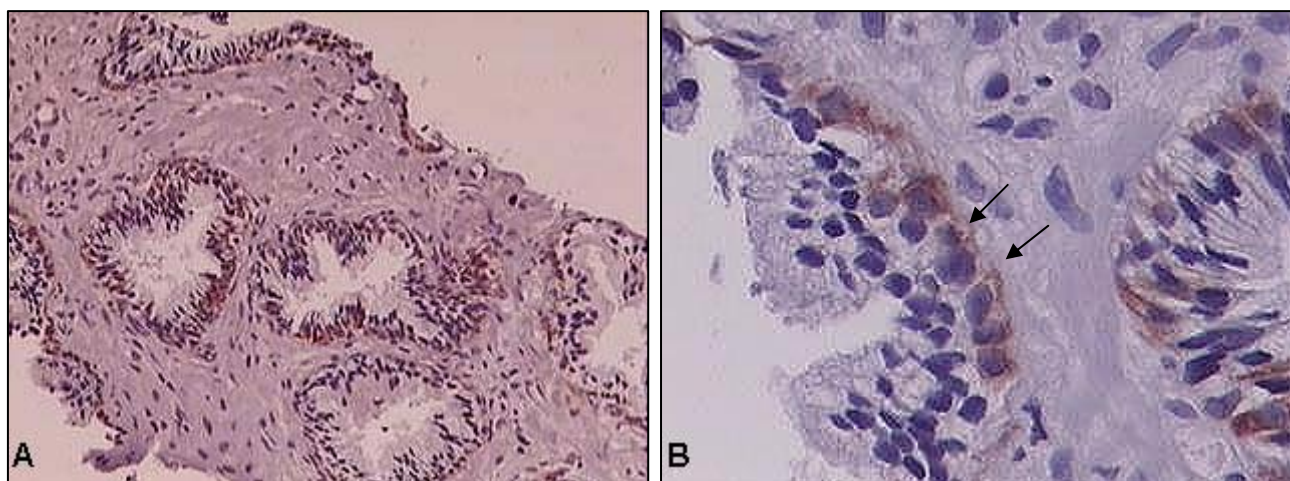


Figura 6 - Cortes histológicos de biópsias de próstata corados para 34 β E12 A: 100x; B: setas indicam células basais coradas (400x)

A 34 β E12 é uma citoqueratina de alto peso molecular que está presente nas células basais dos ácinos prostáticos e ausente nas células acinares intraluminais

superficiais. O espectro de citoqueratinas deste marcador abrange as citoqueratinas 1,5,10 e 14.

Os estudos com o objetivo de identificação de células basais em lesões suspeitas inicialmente mostraram que estes marcadores poderiam ser adjuvantes promissores no diagnóstico diferencial das lesões suspeitas em biópsias de próstata, principalmente nas proliferações de pequenos ácinos atípicos e na distinção de carcinomas bem diferenciados com outros processos benignos focais (37,130,134,140). Entretanto muitas lesões benignas podem apresentar rarefação ou ausência de células basais no exame imuno-histoquímico como a NIP, a atrofia que é negativa em 23% dos casos, a hiperplasia adenomatosa atípica que pode ser negativa em até 50% dos casos, e as glândulas normais da próstata que também podem ser negativas em cerca de 21% dos casos, particularmente em ácinos benignos na periferia de pequenos focos (69,140). A alteração na sensibilidade do marcador conforme o tempo de fixação também pode ser um outro fator de confusão descrito (140).

Na prática a coloração negativa para os marcadores de células basais não garante que as glândulas que não coraram representem um carcinoma. Alguns estudos mostraram que as lesões suspeitas, negativas para células basais, não revelaram a presença de adenocarcinoma em biópsias posteriores e prostatectomias em mais de 43% dos pacientes (68). O seguimento destes pacientes comprovou que a sensibilidade e especificidade do método trazem algumas limitações, com risco de falsos positivos e negativos, fazendo do exame um adjuvante no diagnóstico do

adenocarcinoma, que precisa de avaliação criteriosa, e que deve ser aliado aos achados anatomopatológicos convencionais e aspectos clínicos (68,70).

Muito recentemente está sendo estudado um marcador tumoral através da imuno-histoquímica chamado α metil-coA-racemase (AMACR; P504s). A AMACR é uma proteína citoplasmática envolvida no metabolismo do lipídeos. Alguns estudos demonstram a superexpressão desta enzima em diversas neoplasias. No CaP parece que há uma expressão que pode variar de 89% a 94,5% dos casos (81,82,97,103,148). Sabe-se que uma porcentagem de glândulas normais (5 a 21%), adenose e NIP, também podem expressar o marcador fracamente (55,80,140).

Jiang e colaboradores encontraram uma expressão da AMACR em 94,5% dos casos de adenocarcinomas focais (menores de 1,0 milímetro), demonstrando uma alta sensibilidade e especificidade deste marcador (81). Estudo posterior do mesmo autor revela o incremento na acurácia diagnóstica dos focos suspeitos de neoplasia com a utilização da 34 β E12 e da AMACR em conjunto (82).

O uso concomitante dos dois marcadores parece melhorar em parte a acurácia do exame, através de uma maior concordância interobservador, convertendo o diagnóstico de ASAP para carcinoma em cerca de 10% dos casos, segundo Zhou e colaboradores (147,148).

Assim como a adição destes dois marcadores, o uso do p63, um homólogo do gene supressor de tumores, p53, que marca o núcleo das células basais, pode ser utilizado na detecção destas células em imuno-histoquímica, também apresentando

uma sensibilidade e especificidade um pouco superior à da 34 β E12 (26,59,68,70,83,98,130,142). Apesar das expectativas que o uso destes marcadores, separadamente ou em coquetéis, trazem na solução de diagnósticos difíceis, a coloração imuno-histoquímica para estes anticorpos é heterogênea e a reação negativa para os marcadores, em pequenos focos de glândulas atípicas, não é diagnóstica de adenocarcinoma (53,69,98).

Outros marcadores de mucina como a MUC6 e marcadores de proliferação celular como o Ki67, também podem ser utilizados na diferenciação dos ductos ejaculadores e NIP, respectivamente, em lesões suspeitas de carcinoma (92,123). Estes anticorpos são bem menos utilizados e ajudam no diagnóstico em situações especiais.

2.8 VARIABILIDADE INTEROBSERVADOR

Com todas as dificuldades diagnósticas que podem envolver a interpretação de uma biópsia de próstata, é de se esperar que exista uma variação considerável, de observador a observador, principalmente nas lesões pequenas e duvidosas. Alguns trabalhos já demonstraram a variabilidade inter e intra-observador em outros órgãos como na biópsias gástricas, curetagens uterinas e exames citopatológicos cérvico-vaginais (61, 66,121).

Em próstata alguns estudos mostram a variabilidade interobservador na graduação histológica do adenocarcinoma, principalmente no uso do EG (5,62,93,119). Também existem trabalhos que estudam a variabilidade no

diagnóstico da NIP e de carcinomas focais, salientando a necessidade de diagnóstico de consenso nestes casos (8,33,38,48,62,93,99).

Allsbrook e colaboradores demonstraram a variabilidade interobservador do EG em 46 biópsias. Dez uropatologistas revisaram os casos e graduaram os carcinomas conforme o EG. O índice kappa de concordância interobservador variou de 0,56 a 0,7 entre os patologistas, concordância considerada boa. As maiores discrepâncias diagnósticas ocorreram na graduação do padrão 4 e 5, quando estes eram focais. Tal variabilidade é discutida e evidenciada devido a grande variação na forma de se usar o EG, e seu significado em biópsias. Também houve uma variabilidade maior no diagnóstico dos padrões 1 e 2, mostrando a dificuldade do diagnóstico das neoplasias bem diferenciadas (5).

O trabalho de Glaessgen e colaboradores também mostra a variação na graduação do EG, principalmente nos padrões 4 e 5, e correlacionam as discrepâncias com o número de fragmentos envolvidos. Neste estudo houve uma variabilidade maior na graduação do EG quando mais de um fragmento estava envolvido por neoplasia. Também houve uma maior discordância quando o padrão 4 continha arranjos cribriformes e fusão de glândulas (62).

Lessells e colaboradores obtiveram a variabilidade diagnóstica de biópsias de próstata em um estudo onde foram revisadas 100 biópsias de forma cega. O índice kappa foi de 0,86 nas biópsias negativas (diagnóstico benigno) e 0,91 nas positivas (adenocarcinoma). Neste estudo houve boa concordância entre os diagnósticos benignos e malignos, contudo o número de casos suspeitos (ASAP) e pré-

neoplásicos (NIP) era pequeno, dando pouco poder aos resultados, nestas duas situações, na medida em que estudou pouco justamente os casos, onde pode haver maior discordância (93).

2.9 CONTROLE DE QUALIDADE

Vários métodos são propostos para a vigilância e controle de qualidade em anatomia patológica, através da revisão de uma porcentagem de todos os exames realizados em um laboratório, da revisão de casos positivos, da consultoria intra e extra-departamental ou da revisão cega (67,118,135).

Diversos estudos mostram a importância da revisão de exames de forma retrospectiva e prospectiva, com o objetivo de aumentar a acurácia diagnóstica de exames anatomopatológicos (94,117,120). A utilização destes procedimentos inicialmente mostrou o seu valor na revisão de lâminas em esfregaços citológicos, sendo uma forma eficiente na detecção de discordâncias diagnósticas e erros em citopatologia (43,56,121,122,146). Estudos posteriores sugerem que a revisão de exames em patologia cirúrgica também tem validade (94,120). A revisão cega de exames, ou seja, sem o conhecimento do diagnóstico original, tem mostrado uma boa sensibilidade na detecção de erros diagnósticos em espécimes de diferentes órgãos, uma vez que propicia a reavaliação de um exame, que potencialmente pode conter erros, por um segundo patologista não influenciado por um diagnóstico prévio (60,118,120).

Alguns trabalhos apontam as falhas na interpretação dos exames em patologia cirúrgica, encontradas através da revisão dos cortes histológicos. Os erros

identificados são falsos positivos, falsos negativos e falta de informação complementar ao diagnóstico principal, que tenha relevância no tratamento e prognóstico. Estes erros são agrupados conforme o grau de importância, segundo esses autores. Falsos positivos e negativos são considerados erros maiores, grau histológico de neoplasias, informações diagnósticas complementares omitidas e erros ortográficos são considerados erros menores (48,94,102,105,115, 120,136,141).

Na literatura, a taxa de erros maiores varia de 0,8 a 5,0% de toda a rotina de exames em patologia cirúrgica geral (não somente prostática), em estudos retrospectivos e prospectivos. Já a frequência de discordâncias diagnósticas gerais, que abrange todo tipo de erro, varia de 20 a 30% dos casos (94,102,105,113, 117,120,129,141).

Na biópsia de próstata a acurácia diagnóstica determinada pela revisão de lâminas é pouco estudada (29,48,105,137). Epstein e colaboradores, encontraram um índice de falsos positivos de 1,3% (7 casos dentre 535). O estudo foi realizado em exames previamente diagnosticados como adenocarcinoma, na avaliação pré-operatória dos pacientes. Neste estudo os principais diagnósticos que levaram ao erro foram a adenose, a atrofia e focos de glândulas amontoadas por distorções artefatuais. Este estudo também revela o impacto clínico e os custos da revisão das biópsias previamente à prostatectomia, valorizando a segunda opinião nos diagnósticos anátomo-patológicos (48).

O desenvolvimento de procedimentos padronizados na realização dos exames e implementação de programas de controle de qualidade e qualidade assegurada nos serviços de patologia têm colaborado para uma maior concordância entre os diagnósticos, diminuindo a frequência de erros e discrepâncias (60,105,120). A criação de um programa de controle de qualidade parece promover também um maior aprendizado dos patologistas e residentes, além de tornar o exame anatomopatológico mais completo, uniforme, refinado e confiável (94).

3 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

O diagnóstico anatomopatológico do CaP através de biópsia tornou-se a principal forma de diagnóstico, com um aperfeiçoamento da técnica de realização da biópsia e interpretação dos exames. Os programas de rastreamento propiciaram uma detecção precoce da doença muitas vezes traduzida por neoplasias de pequenas dimensões. Tudo isso, além de trazer um aperfeiçoamento da interpretação das biópsias, também trouxe um maior número de diagnósticos de incerteza e subjetividade ao exame. A determinação das variações interobservadores através da revisão cega dos exames pode demonstrar onde se encontram as principais falhas e dificuldades no diagnóstico, uma vez que propicia a reavaliação de um exame, que potencialmente pode conter erros, por um segundo patologista não influenciado por um diagnóstico prévio. A identificação destas variações poderá ajudar na compreensão e dimensionamento das discrepâncias diagnósticas encontradas no seguimento dos pacientes e indicar procedimentos que possam minimizar o problema.

4 OBJETIVOS DO ESTUDO

1 – Determinar a variabilidade interobservador dos diagnósticos histopatológicos de biópsias de próstata, realizados no Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

2 – Analisar o tipo de discrepância diagnóstica e apontar suas possíveis causas.

3 – Determinar a concordância diagnóstica do exame histopatológico nas biópsias de próstata.

5 MATERIAL E MÉTODOS

Este é um estudo com delineamento transversal contemporâneo, onde foram revisados exames histopatológicos de biópsias de próstata realizados no Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre no período de 1º de junho a 23 de dezembro de 2004. As lâminas contendo as amostras teciduais obtidas por biópsias transretais de próstata foram selecionados de forma aleatória pelos residentes do Serviço de Patologia.

O número de exames estudados foi de 489 biópsias, provenientes de 191 pacientes. O número de exames e pacientes não é o mesmo, porque cada paciente gera na grande maioria das vezes dois exames: um do lobo direito e outro do lobo esquerdo da próstata. Em alguns casos havia seis exames por paciente. Para obter a prevalência do adenocarcinoma e dos demais diagnósticos na nossa amostra e correlacionar com dados clínicos (idade e PSA), foi necessário criar dois bancos de dados, um para exames e outro para pacientes.

O cálculo da amostra foi feito a partir da prevalência do diagnóstico de adenocarcinoma (desfecho positivo) em biópsias de próstata. A prevalência populacional deste diagnóstico no nosso meio não é conhecida. Foi utilizada a

prevalência na literatura, em hospitais terciários universitários, em torno de 20 a 40% das biópsias, que é superior a encontrada no Hospital de Clínicas de Porto Alegre através dos programas de rastreamento (13%) (57). Calculou-se inicialmente uma amostra de 666 exames para um índice kappa de 0,8 e intervalo de confiança de 95%. Ao final do tempo previsto para a coleta de dados (7 meses) obteve-se um número de exames inferior ao calculado. Como o índice kappa na amostra obtida foi superior ao esperado, a coleta de dados foi interrompida ao final deste período.

Os exames foram revisados por dois patologistas vinculados ao Serviço de Patologia (revisão intra-departamental). Os casos foram examinados independentemente, de forma totalmente cega, ou seja, sem o conhecimento do diagnóstico original e informações clínicas como idade, PSA e toque retal. No ANEXO 1 encontra-se a ficha de diagnóstico de revisão.

Posteriormente foram anexadas as informações clínicas e o diagnóstico original para confronto. Também foi pesquisado o resultado de biópsias posteriores nos casos de ASAP e NIP. Estas informações foram anexadas a ficha de avaliação diagnóstica (ANEXO 2).

Os exames com diagnósticos discrepantes entre os revisores e o diagnóstico original e discrepantes entre si foram revisados por um terceiro patologista para a realização de um consenso.

Para estimar a concordância entre os observadores foi utilizado o índice kappa (ANEXO 3). Para estimar a concordância do EG nos diagnósticos de

adenocarcinoma utilizou-se o índice kappa ponderado. Para as comparações, os EG foram agrupados em três grupos: EG menor ou igual a 6, EG igual a 7 e EG maior que 7. Variações maiores que uma categoria foram consideradas graves na escala de ponderação (6,111). Para a análise da idade e PSA nos diferentes grupos foi realizada a análise de variância (ANOVA, one way) e o teste de Kruskal Wallis, respectivamente. Os programas estatísticos utilizados foram o SPSS (Statistical Package for Social Science, versão 11.0 – Chicago, IL), Pepi (versão 3.0) e Stata (versão 7.0) (111).

As lâminas de HE foram obtidas dos arquivos do Serviço de Patologia do HCPA, mantendo-se assim as mesmas condições técnicas para todos os observadores. Nos casos de diagnóstico de ASAP foi realizada a técnica de imunohistoquímica (ANEXO 4) com a utilização do anticorpo monoclonal para citoqueratina de alto peso molecular, clone 34 β E12 (DAKO®-código MO630), camundongo anti-humano, na diluição 1/20 (1 microlitro de anticorpo/20 microlitros de tampão). A citoqueratina de alto peso molecular cora de marrom as células basais dos ácinos. As glândulas nitidamente benignas ao redor dos ácinos suspeitos foram utilizadas como controle interno. O perfil imunohistoquímico foi graduado em positivo (positividade contínua ou descontínua das células basais) e negativo (sem expressão do marcador).

Na revisão os patologistas tinham as seguintes opções de diagnóstico: negativo (incluindo as prostatites e outras entidades benignas), adenocarcinoma (adicionado do EG), ASAP, NIP, ASAP + NIP e inadequado. Nos casos de ASAP foram realizados os exames imunohistoquímicos. Foram considerados

inadequados os exames com escassez de glândulas. Estes exames também foram excluídos da análise de variabilidade interobservador.

Os diagnósticos a partir das revisões foram classificados como: correto - o mesmo diagnóstico entre o diagnóstico original e os revisores; provável falso negativo - ASAP, NIP e adenocarcinoma não diagnosticados no exame original; provável falso positivo - ASAP, NIP e adenocarcinomas não confirmados pelos revisores; diagnóstico discrepante - variações no EG dos adenocarcinomas, discordâncias entre os revisores que não resultaram em mudança do diagnóstico, e inconclusivo - material inadequado para interpretação (ausência ou escassez de glândulas prostáticas). Os termos falso positivo e negativo foram utilizados neste estudo apenas para melhor entendimento das variações encontradas.

O grupo de patologistas do serviço de patologia foi informado da realização do estudo previamente ao início das revisões com a intenção de uniformizar a forma de diagnóstico. Todos os médicos foram orientados a fazer os diagnósticos e graduação histológica do EG, por exame, sem realização de diagnóstico agrupado por paciente. Isto foi feito com o objetivo de evitar vícios de aferição na concordância dos diagnósticos. Por outro lado, também faz parte das recomendações da reunião de consenso (ISUP-2005), como forma de redação dos laudos de biópsias de próstata, graduar separadamente o EG por exames (54,89,125).

Em todos os exames duvidosos (ASAP) ou naqueles em que se encontrou um provável falso positivo ou negativo, foi feita a revisão do prontuário e pesquisa de biópsias posteriores. Nos casos em que não houve seguimento dos pacientes, o

patologista responsável pelo exame foi comunicado, a fim de realizar a revisão de lâminas oficial e comunicação da equipe. O projeto foi submetido ao comitê de Ética do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (GPPG-HCPA), tendo sido aprovado.

O estudo foi parcialmente financiado pelo FIPE/HCPA.

6 RESULTADOS

Foram revisadas 489 biópsias de próstata, provenientes de 191 pacientes. A média de idade dos pacientes foi de 65,55 anos. O valor do PSA era conhecido em 151 pacientes, apresentando uma média de 14,26 ng/ml (mediana = 8,4 ng/ml). Os exames inadequados (insatisfatórios) foram excluídos da análise (7 casos, 1,4%). No total 482 casos foram incluídos na análise da variabilidade interobservador. A concordância geral entre o diagnóstico original e o final foi de 94,3% e o índice kappa foi de 0,86 (com intervalo de confiança de 95% entre 0,8 e 0,91). A tabela 1 mostra a frequência dos diagnósticos e a variabilidade interobservador entre o diagnóstico original e o diagnóstico final (após revisão).

A concordância interobservador geral foi considerada muito boa. Avaliando-se separadamente os diagnósticos obteve-se um kappa de 0,85 para os exames benignos, 0,99 para os adenocarcinomas, 0,67 para as ASAPs e 0,3 para as NIPs. O índice de concordância foi considerado muito bom nos exames benignos e nos adenocarcinomas, bom nas ASAPs e fraco nas NIPs, conforme a interpretação do índice kappa (ANEXO 3).

Tabela 1 - Variabilidade interobservador, entre o diagnóstico original e o final de biópsias de próstata estimada pelo índice kappa (n=482)

| Diagnóstico | Diagnóstico original (%) | Diagnóstico Final (%) | Concordância (%) | Índice kappa (IC)* |
|----------------|--------------------------|-----------------------|------------------|---------------------|
| Benigno | 77,2 (n=372) | 74,5 (n=359) | 94,6 | 0,85 (0,79-0,90) |
| Adenocarcinoma | 18,0 (n=87) | 18,5 (n=89) | 100 | 0,99 (0,97-1,0) |
| ASAP | 3,5 (n=17) | 4,4 (n=21) | 76,5 | 0,67 (0,5-0,85) |
| NIP | 1,2 (n=6) | 2,7 (n=13) | 50,0 | 0,3 (0,03-0,58) |

* IC= intervalo de confiança

A variabilidade interobservadores aos pares pode ser observada na tabela 2. Entre todos os observadores a variabilidade geral foi considerada de boa a muito boa. As maiores diferenças foram encontradas nas NIPs e ASAPs. Na NIP a concordância foi de fraca a moderada. Entre os dois revisores houve moderada concordância. Na ASAP a concordância foi moderada a boa.

Um dos patologistas revisores (R2) também foi o patologista original em 185 casos, sendo possível então determinar para este revisor a variabilidade intraobservador, que foi muito boa nos exames benignos (k 0,94), adenocarcinomas (k 1,0) e ASAPs (k 0,85). Na NIP houve uma concordância intraobservador moderada (k 0,66). Como o revisor 3 (R3) foi o patologista que revisou os diagnósticos discordantes, não fez sentido calcular a variabilidade pelo índice kappa para este observador. Ao todo o revisor 3 (R3) avaliou 35 casos.

Tabela 2 - Variabilidade interobservador em exames de biópsias de próstata estimada pelo índice kappa

| | geral | Adenocarcinoma | NIP | ASAP | benigno |
|------------------------------|-------|----------------|------|------|---------|
| R1 x original | 0,79 | 0,93 | 0,2 | 0,48 | 0,81 |
| R2 x original | 0,88 | 0,97 | 0,32 | 0,75 | 0,89 |
| R2 x R2 (intraobservador) | 0,94 | 1,0 | 0,66 | 0,85 | 0,94 |
| R1 x R2 | 0,83 | 0,92 | 0,47 | 0,59 | 0,87 |
| Original x final | 0,86 | 0,99 | 0,3 | 0,67 | 0,85 |

R1 = revisor 1; R2 = revisor 2; original = diagnóstico original; final = diagnóstico final (pós-revisão)

Na análise de variância dos diferentes grupos de diagnósticos não houve diferença significativa na idade dos pacientes ($p = 0,408$). Na análise do PSA houve diferença entre os grupos ($p = 0,001$). Não houve diferença significativa entre o grupo de pacientes com adenocarcinoma (diagnóstico positivo) e o grupo de pacientes com diagnóstico benigno (diagnóstico negativo) ($p=0,06$). Apenas entre o grupo ASAP e o grupo adenocarcinoma houve diferença significativa ($p=0,04$), porém o número de pacientes é pequeno neste grupo. A tabela 3 mostra os principais resultados.

Tabela 3 - Variações nos níveis de PSA dos pacientes nos grupos de diagnósticos em biópsias de próstata (n=191)

| | benigno | Adeno carcinoma | ASAP | NIP | Significância (95%) |
|-------------------------|---------|-----------------|------|------|---------------------|
| N | 102 | 38 | 7 | 4 | |
| Perdas** | 17 | 13 | 7 | 3 | |
| Média do PSA (ng/ml) | 11,18 | 24,8 | 5,51 | 7,79 | |
| DP* | 12,09 | 30,15 | 3,19 | 4,03 | |
| Mediana do PSA (ng/ml) | 7,7 | 12,0 | 5,0 | 6,25 | |
| Benignox Adenocarcinoma | | | | | 0,06 |
| Benignox ASAP | | | | | 0,176 |
| Benignox NIP | | | | | 0,941 |
| Adenocarcinomax ASAP | | | | | 0,04 |
| Adenocarcinomax NIP | | | | | 0,296 |
| ASAPx NIP | | | | | 0,848 |

* DP= desvio padrão; ** casos onde o valor do PSA não foi encontrado no prontuário

Adenocarcinomas

Na amostra obteve-se 87 exames com o diagnóstico de adenocarcinoma. Na avaliação do EG houve discrepância na graduação em 29 casos (34,5 %). As maiores variações ocorreram na graduação do padrão 4 (EG7 e maior que 7).

A concordância do EG foi calculada usando-se o índice kappa ponderado. Esta análise foi possível em 84 casos dentre os 87 exames. Em três exames pelo menos um observador não concordou com o diagnóstico de carcinoma, não sendo possível avaliar a concordância do EG. Houve uma concordância geral boa no EG entre os observadores. Na tabela 4 observa-se o índice kappa geral para cada observador e o índice kappa ponderado para cada categoria. Para o cálculo do índice kappa ponderado os graus do EG foram agrupados em três categorias: $EG \leq 6$; $EG = 7$ e $EG > 7$. As maiores variações ocorreram nos escores 7 e maior que 7 conforme o gráfico 1 e 2. Entre os revisores houve uma tendência em elevar o EG.

Tabela 4 - Variabilidade no Escore de Gleason (EG) em biópsias de próstata com diagnóstico de adenocarcinoma (n= 84)

| | kappa geral ponderado | EG \leq 6 kappa (IC)* | EG 7 | EG > 7 |
|---------------|-----------------------|----------------------------|----------------------|----------------------|
| R1 x original | 0,77 (0,67 – 0,88) | 0,81 (0,68 – 0,93) | 0,59 (0,4 – 0,79) | 0,73 (0,57- 0,89) |
| R2 x original | 0,83 (0,73- 0,92) | 0,86 (0,75-0,97) | 0,66 (0,47-0,84) | 0,79 (0,64-0,98) |
| R1 x R2 | 0,72 (0,59-0,85) | 0,76 (0,62-0,9) | 0,64 (0,46-0,83) | 0,66 (0,47-0,85) |

* IC= intervalo de confiança. R1 = revisor 1; R2 = revisor 2; original = diagnóstico original.

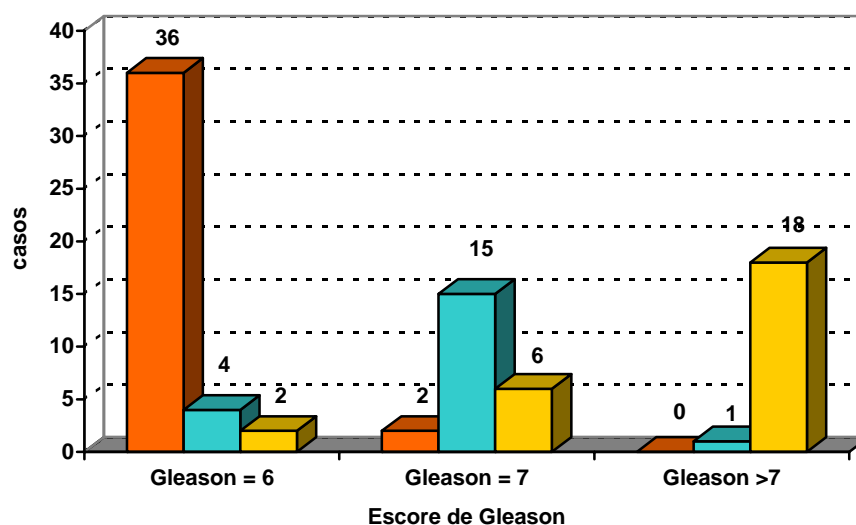


Gráfico 1 - Variações do EG entre o Revisor 1 (R1) e o observador original

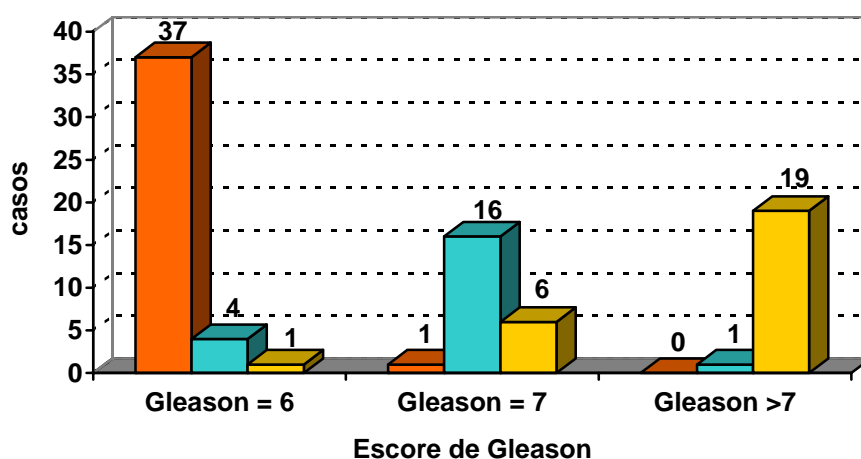


Gráfico 2 - Variações do EG entre o Revisor 2 (R2) e o observador original

As figura a seguir ilustram alguns exemplos de discrepâncias diagnósticas encontradas nos EG. No exemplo 1 o diagnóstico original foi de um adenocarcinoma EG 7 (padrão 3+4), que por um dos observadores foi diagnosticado EG 6 (padrão 3+3). A figura 7 mostram as zonas de padrão 4, onde houve discordância. No exemplo 2 o diagnóstico original foi de um adenocarcinoma EG 8 (padrão 4+4). O

diagnóstico final deste caso foi EG 7 (padrão 4+3). A figura 8A mostra o padrão 3 e a figura 8B, o padrão 4. No exemplo 3 o diagnóstico original foi de um adenocarcinoma EG 6 (padrão 3+3). A figura 9A e 9B ilustram o padrão 2 diagnosticado por um dos observadores com escore total 5 (2+3). No exemplo 4 o diagnóstico foi de um adenocarcinoma EG 9 (padrão 4+5). Nas figuras 10A e B pode-se observar o padrão 5, que foi considerado 4 por um dos observadores.

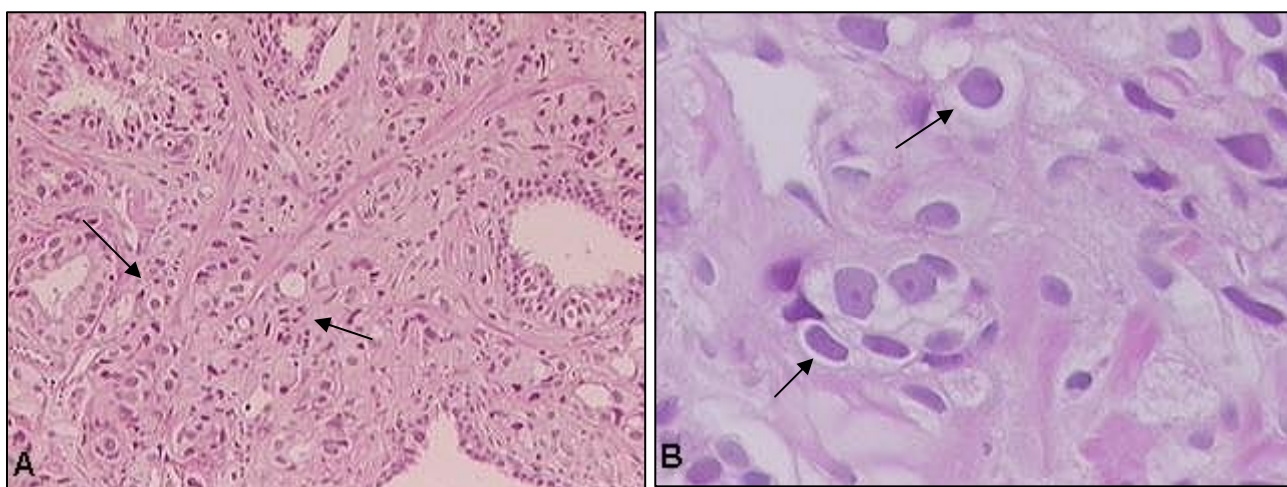


Figura 7 - Exemplo 1. A: padrão 4 (setas) (HE, 100x); B: padrão 4 (setas) (HE, 400x)

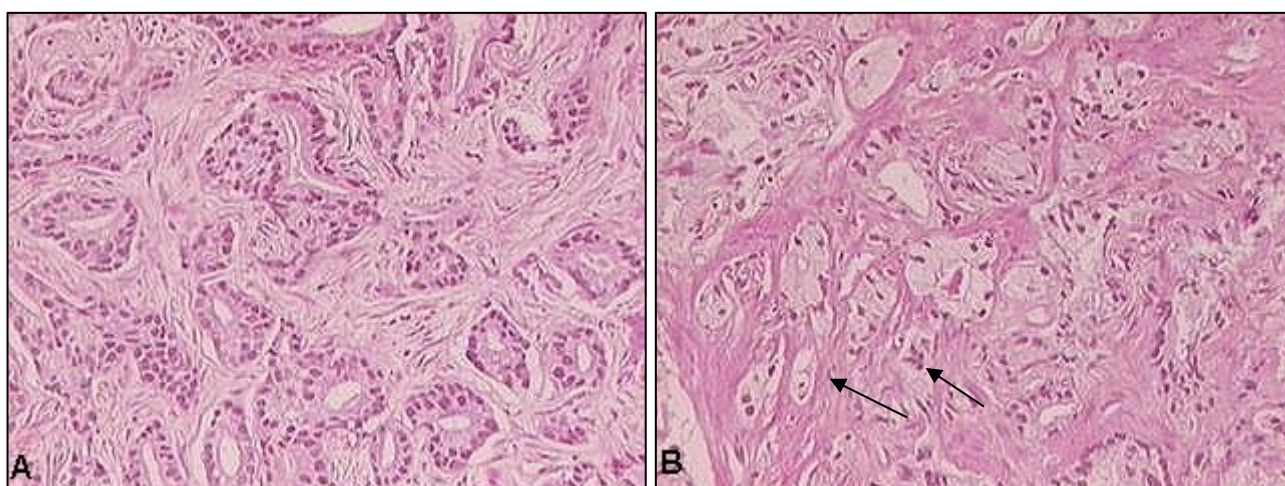


Figura 8 - Exemplo 2. A: padrão 3 (HE, 100x); B: padrão 4 (setas) (HE, 100x)

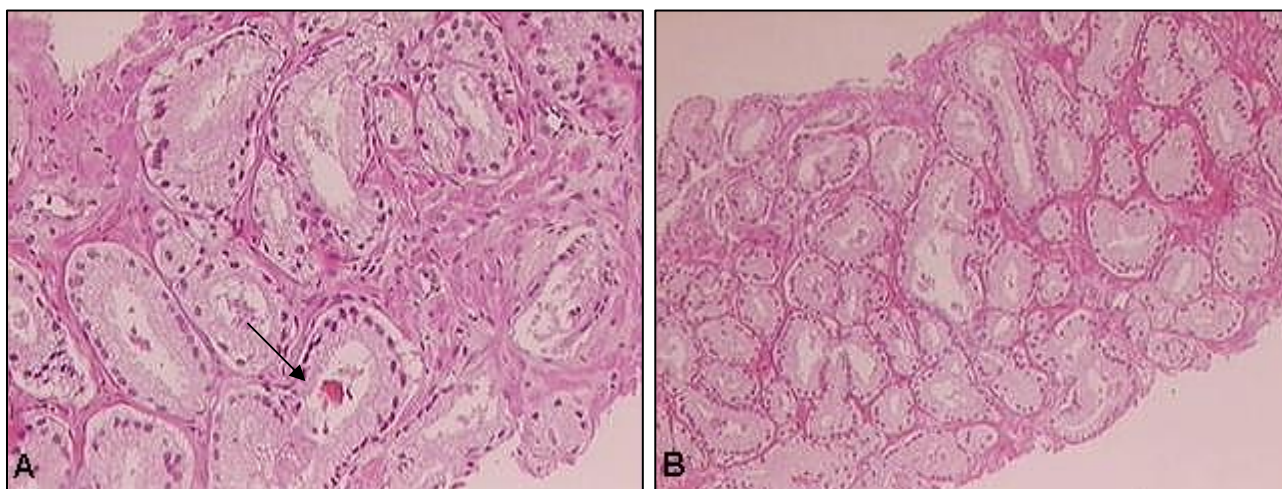


Figura 9 - Exemplo 3. A: Padrão 2, seta indica cristalóide (HE,100x); B: Padrão2 (HE,50x)

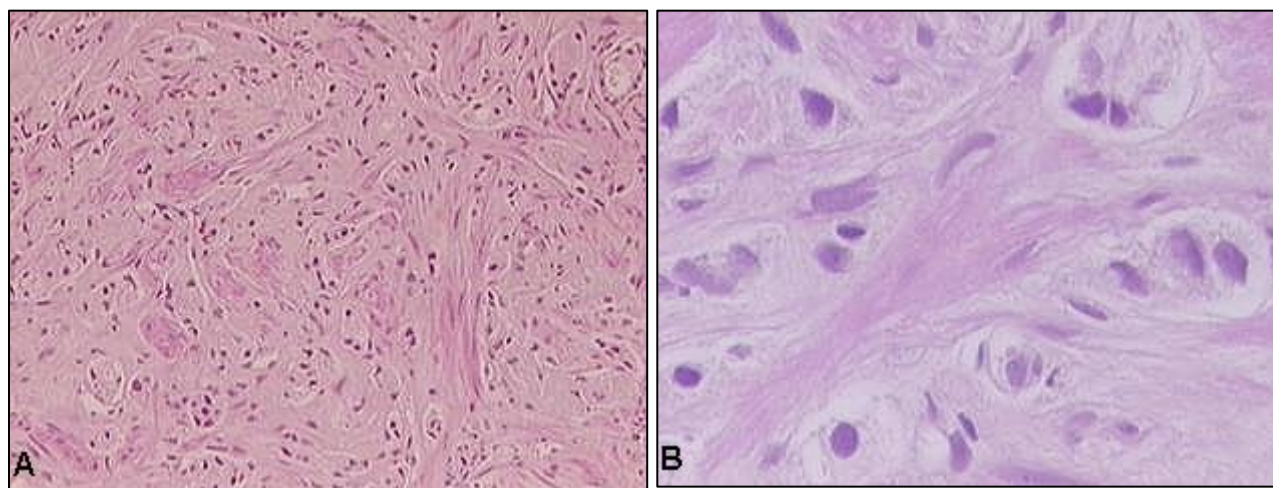


Figura 10 - Exemplo 4. A: padrão 5 (HE,100x); B: padrão 5 (HE, 400x)

ASAP e NIP

Nos casos de ASAP onde não houve concordância diagnóstica foi feita a descrição dos achados microscópicos considerando a presença de nucléolos, nucléolos múltiplos, fendas de retração tecidual, cristalóide, mucina intraluminal e número de glândulas atípicas (tabela 5).

Em todos os casos em que o diagnóstico por paciente foi de ASAP e NIP foram pesquisadas as biópsias posteriores e o seguimento dos pacientes. Em dois casos de ASAP diagnosticados na revisão, o paciente tinha carcinoma diagnosticado na biópsia concomitante do lado oposto. Em dois casos de NIP o paciente tinha o diagnóstico de carcinoma na biópsia do lado oposto. Em três casos não houve concordância com o diagnóstico original de ASAP (falso positivo). Em um dos casos havia esmagamento de glândulas e nos outros dois casos o foco de ASAP não foi encontrado pelos revisores.

Em três focos de ASAP havia focos de atrofia nas glândulas adjacentes. Em um caso a imuno foi positiva contribuindo para o diagnóstico de benignidade, em um caso foi inconclusiva e em um caso negativa.

O exame imuno-histoquímico foi realizado em 27 focos de ASAP, que incluíram os focos suspeitos diagnosticados pelos revisores e os focos de ASAP onde não havia sido feito imuno-histoquímica inicialmente. Em um caso de carcinoma foi feita a imuno-histoquímica também para confirmar o diagnóstico e em outro caso, onde havia concomitantemente ASAP e carcinoma na mesma lâmina, foi

feita imuno-histoquímica para determinar o padrão imuno-histoquímico no foco de ASAP. A tabela 5 mostra as características histológicas e clínicas dos exames de pacientes com ASAP e o seguimento destes, e a tabela 6, os resultados do exame imuno-histoquímico. Na tabela 5 o número de focos de ASAP é maior que o número de pacientes e exames com ASAP, porque muitos casos apresentavam mais de um foco de ASAP na mesma lâmina ou em outra lâmina correspondente ao mesmo exame.

Tabela 5 - Características histológicas e rebiópsias dos focos de glândulas suspeitas nas biópsias de próstata

| Características histológicas e clínicas dos pacientes com focos das zonas suspeitas | Focos (n=27) | Exames (n=21) |
|---|--------------|---------------|
| Número de glândulas \geq 10 | 13 | - |
| Número de glândulas $<$ 10 | 14 | - |
| Mucina | 10 | - |
| Cristalóide | 3 | - |
| Nucléolo | 27 | - |
| Nucléolos múltiplos | 5 | - |
| Células basais pouco nítidas | 27 | - |
| Imuno negativa | 15 | 11 |
| NIP no mesmo fragmento ou lado oposto | 3 | 3 |
| Carcinoma no lado oposto | 4 | 2 |
| Carcinoma na rebiópsia | 5 | 4 |
| NIP ou ASAP na rebiópsia | 0 | 0 |
| Rebiópsia negativa | 3 | 3 |
| Sem rebiópsia ou seguimento | 12 | 14 |

Tabela 6 - Avaliação imuno-histoquímica nos focos de glândulas suspeitas e adenocarcinomas em biópsias de próstata (n=29)

| Diagnóstico Original | Imuno Negativa | Imuno Positiva | Inconclusivo |
|----------------------|----------------|----------------|--------------|
| Benigno | 8 | 5 | 0 |
| ASAP | 6 | 2 | 6 |
| Adenocarcinoma | 2 | 0 | 0 |

Em oito exames onde o diagnóstico inicial era benigno foi encontrado um foco de ASAP negativa na coloração imuno-histoquímica. Os outros casos de focos suspeitos referem-se a exames diagnosticados inicialmente como ASAP e confirmados pelos revisores na histologia e pela coloração imuno-histoquímica. Também dentro deste grupo de 21 exames estão os casos suspeitos pelos revisores que foram interpretados como benignos após a imuno-histoquímica e o consenso. As figuras 11 e 12 ilustram os focos de ASAP na lâmina de HE original e a na lâmina da reação imuno-histoquímica para 34 β E12.

Dos oito exames negativos, quatro pertenciam a dois pacientes e os outros casos pertenciam a quatro pacientes diferentes. Um destes dois pacientes apresentava carcinoma na biópsia do lado oposto. Ao todo cinco pacientes apresentaram focos negativos na imuno-histoquímica. Destes apenas dois pacientes foram rebiopsiados. Em um deles foi diagnosticado adenocarcinoma. Nos outros pacientes (n=3), onde não houve seguimento, o patologista responsável foi comunicado para realizar o diagnóstico de revisão oficial.

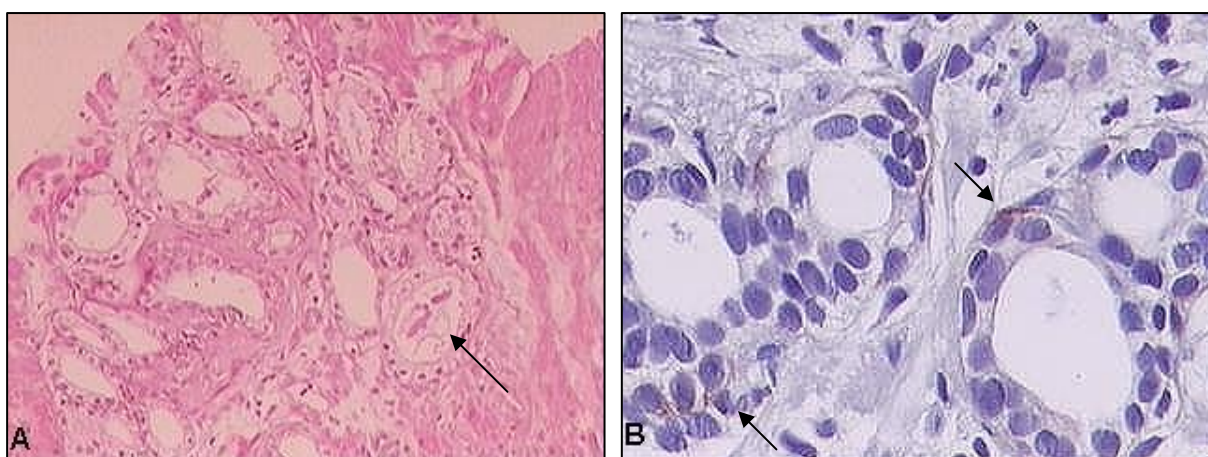


Figura 11 - A: ASAP, seta indica secreção intraluminal e cristalóide (HE, 200x); B:ASAP positiva, setas indicam células basais coradas (imuno-histoquímica-34 β E12, 400x)

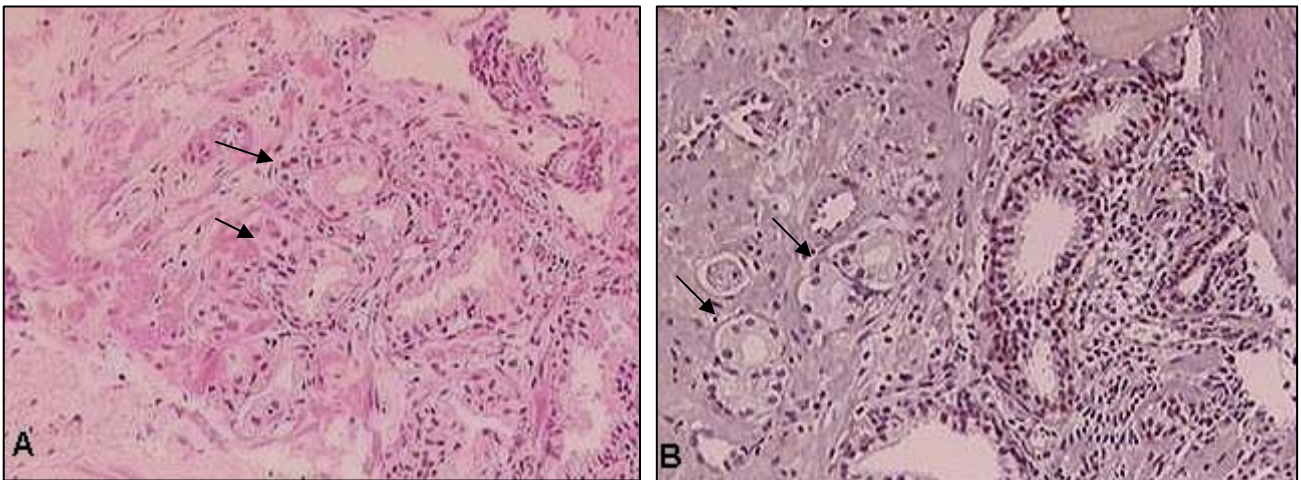


Figura 12 - A: ASAP (setas) (HE, 100x); B: ASAP negativa para 34βE12 (setas) (imuno-histoquímica, 100x)

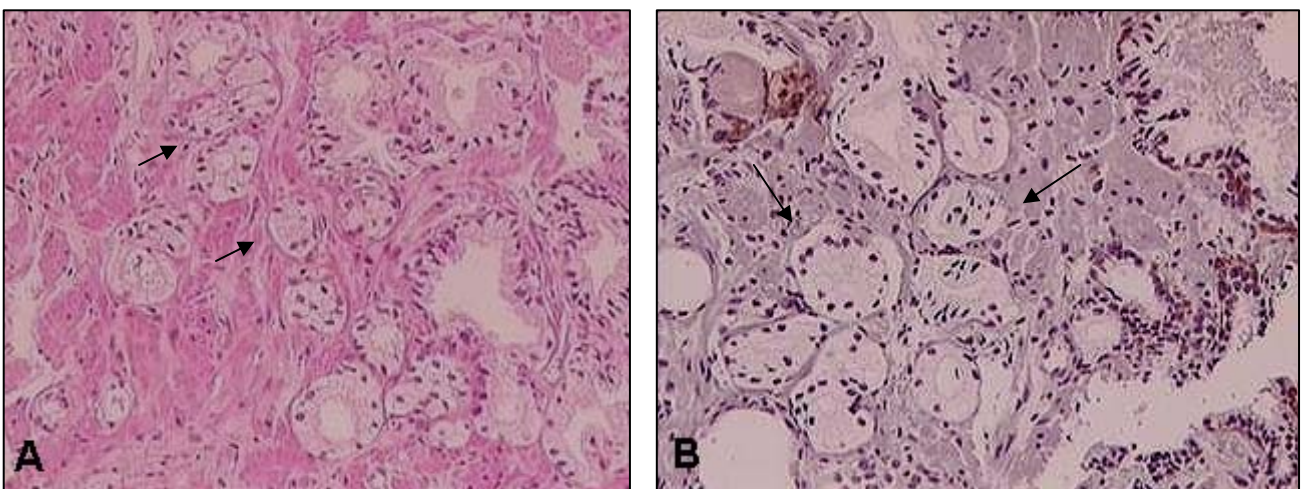


Figura 13 - A: ASAP (HE, 100x); B: ASAP negativa para 34βE12 , as setas indicam glândulas negativas com fendas de retração ao seu redor (imuno-histoquímica, 100 x)

A tabela 7 mostra a avaliação final dos diagnósticos. Em 87,7% dos casos houve concordância completa entre o diagnóstico final e o original (n=429). Estes casos compreenderam 352 biópsias benignas, 59 com adenocarcinoma, onde também houve concordância completa na graduação do Gleason, 11 ASAPs, 2 casos de NIP e os 5 casos insatisfatórios.

Tabela 7 - Avaliação final dos diagnósticos de biópsias de próstata após revisão

| Avaliação | Diagnóstico Final (*) |
|---|---|
| Avaliação correta 87,7% (n= 429) | Benigno (352) Adenocarcinoma (59) ASAP (11) NIP (2) Insat (5) |
| Falso negativo 3,9% (n= 19) | ASAP (8) NIP (10) Adenoca (1) |
| Falso positivo 1,2% (n=6) | ASAP (3) NIP (3) |
| Diagnóstico discrepante 7,2% (n=35) | Benigno (3) Adenocarcinoma (29) ASAP (2) NIP (1) |

* número de casos

Dentre os casos provavelmente falsos negativos encontramos 8 casos de ASAP, 1 caso positivo e 10 casos de NIP. O único caso positivo não diagnosticado pertencia a um paciente com diagnóstico de carcinoma na biópsia concomitante do lado oposto, não resultando em modificação no diagnóstico final do paciente. Um outro exame com carcinoma, encontrado na revisão, não foi considerado um falso negativo, pois o diagnóstico original foi de uma ASAP negativa na imunohistoquímica. Nos prováveis falsos positivos encontramos três casos de ASAP não

confirmados pela histologia e pela imuno-histoquímica. Em todos os casos havia glândulas atróficas em outras áreas. Os casos de NIP erroneamente diagnosticados representavam NIP de baixo grau e região das vesículas seminais. Os exames discrepantes foram 7,2 % e representam os casos em que pelo menos um dos observadores não concordou com o diagnóstico final ou discordou na graduação do EG.

7 DISCUSSÃO

A variabilidade interobservador é amplamente estudada em anatomia patológica, onde muitas vezes os critérios diagnósticos não são claramente definidos ou dependem da experiência e avaliação subjetiva do patologista. Na próstata muitos relatos tratam da variabilidade interobservador no EG e poucos trabalhos abordam este tema com um enfoque no diagnóstico em biópsias. Recentemente o EG foi adaptado com o intuito de uniformizar e diminuir as variações do seu emprego (ISUP-2005) (54).

Lessels e colaboradores demonstraram a variabilidade interobservador em uma amostra de 100 lâminas revisadas por 12 patologistas, das quais 53 eram benignas, 46 malignas e uma suspeita. No estudo de Lessels o índice kappa foi de 0,86 nos exames benignos e 0,91 nos adenocarcinomas. Este estudo mostrou uma concordância interobservador muito boa nos diagnósticos benignos e malignos nas biópsias de próstata (93).

No nosso estudo o índice kappa para os exames benignos foi de 0,85 (n=372) e para os adenocarcinomas foi de 0,99 (n=87). Os nossos resultados são

semelhantes ao estudo anterior, confirmando a concordância muito boa na avaliação destes diagnósticos.

Para a NIP a concordância interobservador tem sido pouco descrita. Epstein e colaboradores determinaram a variabilidade no diagnóstico da NIP de baixo e alto grau, em um estudo realizado em uma época em que ainda era usada a graduação das NIPs em 1, 2 e 3, mostrando uma concordância fraca entre os observadores com um kappa de 0,33 (n=25)(47). Posteriormente essa graduação caiu em desuso, excluindo-se o diagnóstico de NIP de baixo grau em biópsias, devido ao baixo valor preditivo (47). No nosso estudo foi encontrado um índice kappa de 0,3 para as NIPs, onde todos os casos tratavam-se de NIPs de alto grau e mesmo assim houve uma concordância fraca entre os observadores. Estes resultados demonstram que nem só a NIP de baixo grau determina as variações interobservadores neste diagnóstico, mas que mesmo os diagnósticos de NIP de alto grau mostram uma tendência a variar mais de observador a observador, apesar do número pequeno de casos estudados.

No nosso trabalho houve uma concordância menor entre os observadores nas NIPs e ASAPs, confirmando a maior subjetividade e possibilidade de discordância entre estes diagnósticos. Entretanto, o número pequeno de casos e o intervalo de confiança amplo do índice Kappa dão pouco poder aos resultados nestas duas situações. Na maioria dos trabalhos onde se utilizou o índice kappa como medida de variabilidade, não fica explicitado o intervalo de confiança e em muitos o número de exames comparados também é pequeno, impedindo uma avaliação mais precisa da variabilidade da NIP e ASAP em biópsias (8,47,93).

Chan e colaboradores também determinam o grau de concordância em biópsias de próstatas enviadas a um uropatologista para uma segunda opinião. No estudo o grau de concordância na NIP foi de 75% e nos suspeitos (ASAP) 36,8% em uma amostra de 3155 pacientes (29).

No nosso estudo a concordância interobservador nas ASAPs foi de 76,5% (kappa 0,67). Esta diferença com os dados da literatura pode ser explicada pelo tipo e tamanho da amostra do nosso estudo. Todos os nossos casos eram provenientes de um mesmo serviço diferentemente do trabalho de Chan, onde os exames eram provenientes de diversos locais, possivelmente com variações maiores na forma de relatar os diagnósticos suspeitos, e além disso compreenderam um número bem maior de casos duvidosos. Com o número de casos estudados no nosso trabalho não é possível afirmar que a variabilidade não possa ser maior neste diagnóstico, conforme podemos observar pelo intervalo de confiança do índice kappa (0,5-0,86).

Um outro aspecto importante no nosso trabalho foi a forma de revisão e amostras. Todos os casos foram avaliados de forma cega incluindo os casos negativos, positivos e duvidosos aleatoriamente, possibilitando ao revisor uma avaliação isenta. Em muitos trabalhos os patologistas revisores sabiam o tipo de amostra que estavam avaliando. Além disso, no nosso trabalho o patologista revisor possuía todas as lâminas do mesmo caso e a partir delas realizava o diagnóstico, diferentemente de muitos trabalhos, onde as zonas para serem avaliadas pelos observadores eram marcadas ou selecionadas previamente. A forma como fizemos as revisões se aproxima mais de uma situação real de revisão de lâminas. É importante também ressaltar que no nosso trabalho, tanto os patologistas que

diagnosticaram os exames pela primeira vez, quanto os revisores R1 e R2 tratavam-se de patologistas não especializados em uropatologia. Isto mostra que a experiência dos patologistas generalistas no nosso meio é semelhante aos melhores Serviços especializados em uropatologia.

As variações no diagnóstico nos EG é mais bem estudada. A grande motivação e esforços no sentido de compreender o EG devem-se as implicações prognósticas. O EG é um fator prognóstico muito importante no CaP e correlaciona-se com diversas variáveis como volume tumoral, status das margens nas prostatectomias, recorrência, PSA e marcadores moleculares.

Diversos trabalhos demonstram as diferenças na graduação do EG, seja em peças de prostatectomia, ou comparações entre o grau da biópsia e da peça radical, revelando a falta de reprodutibilidade interobservador. Tais trabalhos enfocam as dificuldades do diagnóstico nas biópsias principalmente por questões de representatividade da neoplasia e subjetividade na graduação dos padrões limítrofes, onde podem ocorrer sobreposição entre um padrão e outro e a presença de mais de dois padrões na mesma amostra (27,63,99).

Alguns trabalhos mostram a variabilidade interobservador na graduação do EG em biópsias, variando o índice kappa de 0,47 a 0,68 dentro dos vários grupos de diagnósticos. Nas biópsias há uma tendência de sub-graduar a neoplasia, principalmente de grau 7 para 6, onde a zona de tumor com padrão 4 é pequena e duvidosa (5,33,38,41,62,108,119). Outros trabalhos comparando as biópsias

sextantes e estendidas demonstram uma maior acurácia na graduação do EG nas biópsias mais amplas (34).

Alsbrook e colaboradores obtiveram o índice kappa em biópsias de próstata em uma amostra de 46 casos, que foram revisadas por dez patologistas diferentes. O índice kappa neste estudo foi de 0,56 a 0,7, considerada uma boa concordância. As maiores variações ocorreram entre os padrões 4 e 5 e nos carcinomas bem diferenciados com padrão 1 e 2, demonstrando a dificuldade no diagnóstico dessas neoplasias principalmente tratando-se de focos tumorais pequenos (5).

O trabalho de Glaessgen e colaboradores também revela uma maior variabilidade na graduação dos padrões mais elevados, correlacionando as discrepâncias com o número de fragmentos envolvidos. Especificamente mostra a variabilidade do padrão 4 quando este apresenta arranjos cribriformes e fusão de glândulas (62).

Nguyen e colaboradores estudaram o impacto da revisão de biópsias de próstata que continham adenocarcinoma. Neste estudo o EG mudou em um grau em 44% dos casos e foi mais comum o aumento do EG na revisão (81% dos casos), determinando um aumento na categoria de risco intermediário a alto em 8,2 % dos pacientes (104).

No nosso trabalho o índice kappa geral para a graduação do EG variou de 0,72 a 0,83 entre os observadores, considerada boa a muito boa. Os índices mais baixos foram encontrados no EG 7 (kappa 0,59 a 0,66) e maior que 7 (kappa 0,66 a

0,79) com moderada a boa concordância. No nosso trabalho não obtivemos nenhum caso de EG total 4 ou menor que 4. Isto deve-se principalmente a raridade deste diagnóstico em biópsias e as recomendações para evitar o diagnóstico destas neoplasias bem diferenciadas em biópsias (54).

A imuno-histoquímica no diagnóstico de focos suspeitos tem mostrado uma sensibilidade baixa na diferenciação do adenocarcinoma e processos benignos, como é demonstrado em diversos trabalhos onde utilizam-se marcadores para células basais e outros marcadores tumorais. As principais dificuldades no diagnóstico imuno-histoquímico relacionam-se com a irregularidade com que os marcadores para células basais coram as glândulas normais e de outros processos não neoplásicos (68,69,83,140).

No nosso trabalho encontramos algumas dificuldades neste sentido. Os casos inconclusivos representaram focos suspeitos negativos para a 34 β E12 que apresentavam glândulas benignas adjacentes também negativas (controle interno negativo). Este tipo de padrão imuno-histoquímico é relatado por outros autores e dificulta a interpretação do exame. Um outro problema encontrado com a imuno-histoquímica foi a representação do foco suspeito na lâmina em que foi realizada a reação. Em alguns exames houve o desgaste do bloco de parafina, não sendo mais visualizado o foco suspeito na lâmina da imuno-histoquímica e em outros exames a área suspeita ficou bastante diferente do foco original. Estas situações reforçam a necessidade de aliar os critérios morfológicos na interpretação dos achados imuno-histoquímicos.

Na avaliação dos falsos positivos e negativos em biópsias de próstata alguns trabalhos detectam sua ocorrência. Van der Kwast e colaboradores em um estudo colaborativo europeu mostram a frequência de falsos negativos em 4% dos exames de biópsia de próstata previamente diagnosticados como benignos e 0,36% de falsos positivos. Este estudo atribuiu os achados principalmente a pequenos focos de tumor que não foram detectados pelo patologista ou super-valorizados nos falsos positivos (138).

Outro estudo de Kronz e colaboradores revela uma frequência de 2,7% de falsos negativos, que representaram uma mudança definitiva no tratamento em 0,5% dos pacientes e uma possível mudança em 0,5% de outros pacientes. Neste estudo os autores discutem estes resultados e argumentam que o estudo contou com casos selecionados, não revelando de forma real a porcentagem de falsos negativos de uma amostra não selecionada (87).

No nosso trabalho encontramos exames provavelmente falsos negativos em 3,9% dos casos e falsos positivos em 1,2%. A maioria dos casos falsos negativos e positivos incluíram focos de pequenos ácinos atípicos e NIP. Tais resultados mostram a importância da revisão cega na detecção de lesões pequenas e de diagnóstico polêmico. Contudo, a avaliação real dos falsos positivos e negativos só pode ser mensurada adequadamente ao longo do tempo, comparando os resultados apresentados com o padrão ouro (prostatectomias e rebiópsias). A utilização do banco de dados deste trabalho poderá colaborar com este objetivo em estudos futuros.

8 CONCLUSÕES

1 - A variabilidade interobservador nos diagnósticos histopatológicos de biópsias de próstata no Serviço de Patologia do HCPA estimada pelo índice kappa foi de 0,85 nos exames benignos (concordância muito boa, 94,6%). Nos adenocarcinomas o índice kappa foi de 0,99 (concordância muito boa, 100%). Na avaliação diagnóstica dos casos suspeitos (ASAP) e das NIPs a variabilidade interobservador apresentou uma tendência a maiores variações. Na ASAP o índice kappa obtido foi 0,67 (concordância boa, 76,5%). Na NIP o índice kappa foi de 0,3 (concordância fraca, 50%).

2 - Na avaliação diagnóstica os prováveis falsos negativos (3,9%) e positivos (1,2%) representaram os casos onde há maior variabilidade, ASAPs e NIPs. As maiores discrepâncias diagnósticas foram encontradas na graduação do escore de Gleason.

3 - A concordância diagnóstica foi menor nos diagnósticos de ASAP e NIP, 76,5% e 50%, respectivamente.

9 REFERÊNCIAS

1. Abdel-Khalek M, El-Baz M, Ibrahiem H. Predictors of prostate cancer on extended biopsy in patients with high-grade prostatic intraepithelial neoplasia: a multivariate analysis model. *BJU Int* 2004;94(4):528-33.
2. Abrahams NA, Ormsby AH, Brainard J. Validation of cytokeratin 5/6 as an effective substitute for keratin 903 in the differentiation of benign from malignant glands in prostate needle biopsies. *Histopathol* 2002;41(1):35-41.
3. Ali TZ, Epstein JI. Perineural involvement by benign prostatic glands on needle biopsy. *Am J Surg Pathol* 2005;29(9):1159-63.
4. Allan RW, Sanderson H, Epstein JI. Correlation of minute (0.5 MM or less) focus of prostate adenocarcinoma on needle biopsy with radical prostatectomy specimen: role of prostate specific antigen density. *J Urol* 2003;170(2 Pt 1):370-2.
5. Allsbrook WC, Jr., Mangold KA, Johnson MH, Lane RB, Lane CG, Amin MB, et al. Interobserver reproducibility of Gleason grading of prostatic carcinoma: urologic pathologists. *Hum Pathol* 2001;32(1):74-80.
6. Altman D. *Practical Statistics for medical Research*. 2ª ed. London: Chapman & Hall, 1994. p. 403-409.
7. American Cancer Society - ACS. Estimated new cancer cases and death, US. In. Atlanta, GA, EUA: American Cancer Society; 2005. Disponível em: www.cancer.org. Acesso em 5 de janeiro de 2006.
8. Amin MBB, DG; Epstein, JI; Grignon, DJ; Humphrey, P; Ro, JY;. Interobserver Reproducibility in The Diagnosis of Small Foci of Prostatic Adenocarcinoma in Needle Biopsies. *Laboratory Investigation* 1998;78(1):76.
9. Amin MB, Tamboli P, Varma M, Srigley JR. Postatrophic hyperplasia of the prostate gland: a detailed analysis of its morphology in needle biopsy specimens. *Am J Surg Pathol* 1999;23(8):925-31.

10. Amin M, Boccon-Gibod L, Egevad L, Epstein JI, Humphrey PA, Mikuz G, et al. Prognostic and predictive factors and reporting of prostate carcinoma in prostate needle biopsy specimens. *Scand J Urol Nephrol Suppl* 2005(216):20-33.
11. Anton RC, Chakraborty S, Wheeler TM. The significance of intraluminal prostatic crystalloids in benign needle biopsies. *Am J Surg Pathol* 1998;22(4):446-9.
12. Argani P, Epstein JI. Inverted (Hobnail) high-grade prostatic intraepithelial neoplasia (PIN): report of 15 cases of a previously undescribed pattern of high-grade PIN. *Am J Surg Pathol* 2001;25(12):1534-9.
13. Aydin H, Zhou M, Herawi M, J IE. Number and location of nucleoli and presence of apoptotic bodies in diagnostically challenging cases of prostate adenocarcinoma on needle biopsy. *Hum Pathol* 2005;36(11):1172-7.
14. Baisden BL, Kahane H, Epstein JI. Perineural invasion, mucinous fibroplasia, and glomerulations: diagnostic features of limited cancer on prostate needle biopsy. *Am J Surg Pathol* 1999;23(8):918-24.
15. Berner A, Harvei S, Skjorten FJ. Follow-up of localized prostate cancer, with emphasis on previous undiagnosed incidental cancer. *BJU Int* 1999;83(1):47-52.
16. Billis A. Follow up of high grade prostatic intraepithelial neoplasia and atypical small acinar proliferation in a highly screened patient population. *Int Braz J Urol* 2003;29(2):172-3.
17. Billis APA. Adenocarcinoma da Próstata. *International Braz J Urol Int* 2003;29(suppl.1):27-34.
18. Billis A. *Patologia Cirúrgica da Próstata*. Campinas, Impressão Digital do Brasil Gráfica e Editora; 2003. p. 17-206.
19. Bishara T, Ramnani DM, Epstein JI. High-grade prostatic intraepithelial neoplasia on needle biopsy: risk of cancer on repeat biopsy related to number of involved cores and morphologic pattern. *Am J Surg Pathol* 2004;28(5):629-33.
20. Bismar TA, Lewis JS, Jr., Vollmer RT, Humphrey PA. Multiple measures of carcinoma extent versus perineural invasion in prostate needle biopsy tissue in prediction of pathologic stage in a screening population. *Am J Surg Pathol* 2003;27(4):432-40.
21. Borboroglu PG, Comer SW, Riffenburgh RH, Amling CL. Extensive repeat transrectal ultrasound guided prostate biopsy in patients with previous benign sextant biopsies. *J Urol* 2000;163(1):158-62.
22. Bostwick DG, Qian J, Frankel K. The incidence of high grade prostatic intraepithelial neoplasia in needle biopsies. *J Urol* 1995;154(5):1791-4.

23. Bostwick DG. Neoplasms of the prostate. In: Bostwick DG, Eble JN, eds. *Urologic Surgical Pathology*. St. Louis: Mosby-Year Book, 1997. p. 343-421.
24. Bostwick DG, Grignon DJ, Hammond ME, Amin MB, Cohen M, Crawford D, et al. Prognostic factors in prostate cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 2000;124(7):995-1000.
25. Brausi M, Castagnetti G, Dotti A, De Luca G, Olmi R, Cesinero AM. Immediate radical prostatectomy in patients with atypical small acinar proliferation. Over treatment? *J Urol* 2004;172(3):906-8.
26. Browne TJ, Hirsch MS, Brodsky G, Welch WR, Loda MF, Rubin MA. Prospective evaluation of AMACR (P504S) and basal cell markers in the assessment of routine prostate needle biopsy specimens. *Hum Pathol* 2004;35(12):1462-8.
27. Carlson GD, Calvanese CB, Kahane H, Epstein JI. Accuracy of biopsy Gleason scores from a large uropathology laboratory: use of a diagnostic protocol to minimize observer variability. *Urol* 1998;51(4):525-9.
28. Chan TY, Epstein JI. Follow-up of atypical prostate needle biopsies suspicious for cancer. *Urol* 1999;53(2):351-5.
29. Chan TY, Epstein JI. Patient and urologist driven second opinion of prostate needle biopsies. *J Urol* 2005;174(4 Pt 1):1390-4.
30. Chappell B, McLoughlin J. Technical considerations when obtaining and interpreting prostatic biopsies from men with suspicion of early prostate cancer: part 2. *BJU Int* 2005;95(8):1141-5.
31. Chappell B, McLoughlin J. Technical considerations when obtaining and interpreting prostatic biopsies from men with suspicion of early prostate cancer: part I. *BJU Int* 2005;95(8):1135-40.
32. Cheville JC, Reznicek MJ, Bostwick DG. The focus of "atypical glands, suspicious for malignancy" in prostatic needle biopsy specimens: incidence, histologic features, and clinical follow-up of cases diagnosed in a community practice. *Am J Clin Pathol* 1997;108(6):633-40.
33. Coard KC, Freeman VL. Gleason grading of prostate cancer: level of concordance between pathologists at the University Hospital of the West Indies. *Am J Clin Pathol* 2004;122(3):373-6.
34. Coogan CL, Latchamsetty KC, Greenfield J, Corman JM, Lynch B, Porter CR. Increasing the number of biopsy cores improves the concordance of biopsy Gleason score to prostatectomy Gleason score. *BJU Int* 2005;96(3):324-7.
35. Cupp MR, Bostwick DG, Myers RP, Oesterling JE. The volume of prostate cancer in the biopsy specimen cannot reliably predict the quantity of cancer in the radical prostatectomy specimen on an individual basis. *J Urol* 1995;153(5):1543-8.

36. Cury J. Biópsia Prostática padronizada. São Paulo. Sociedade Brasileira de Urologia; 2003, 9-28.
37. Dardik M, Epstein JI. Efficacy of restaining prostate needle biopsies with high-molecular weight cytokeratin. *Hum Pathol* 2000;31(9):1155-61.
38. De la Taille A, Viellefond A, Berger N, Boucher E, De Fromont M, Fondimare A, et al. Evaluation of the interobserver reproducibility of Gleason grading of prostatic adenocarcinoma using tissue microarrays. *Hum Pathol* 2003;34(5):444-9.
39. DeMarzo AM, Nelson WG, Isaacs WB, Epstein JI. Pathological and molecular aspects of prostate cancer. *Lancet* 2003;361(9361):955-64.
40. Deutsch E, Maggiorella L, Eschwege P, Bourhis J, Soria JC, Abdulkarim B. Environmental, genetic, and molecular features of prostate cancer. *Lancet Oncol* 2004;5(5):303-13.
41. Di Loreto C, Fitzpatrick B, Underhill S, Kim DH, Dytch HE, Galera-Davidson H, et al. Correlation between visual clues, objective architectural features, and interobserver agreement in prostate cancer. *Am J Clin Pathol* 1991;96(1):70-5.
42. Dovey Z, Corbishley CM, Kirby RS. Prostatic intraepithelial neoplasia: a risk factor for prostate cancer. *Can J Urol* 2005;12 Suppl 1:49-52.
43. Dudding N. Rapid rescreening of cervical smears: an improved method of quality control. *Cytopathol* 1995;6(2):95-9.
44. Editors ICoMJ. Requisitos uniformes para manuscritos apresentados a periódicos biomédicos. *Rev. Saúde Pública* 1999;33(1):6-15.
45. Egevad L, Allsbrook WC, Jr., Epstein JI. Current practice of Gleason grading among genitourinary pathologists. *Hum Pathol* 2005;36(1):5-9.
46. Epstein JI. Diagnostic criteria of limited adenocarcinoma of the prostate on needle biopsy. *Hum Pathol* 1995;26(2):223-9.
47. Epstein JI, Grignon DJ, Humphrey PA, McNeal JE, Sesterhenn IA, Troncoso P, et al. Interobserver reproducibility in the diagnosis of prostatic intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol* 1995;19(8):873-86.
48. Epstein JI, Walsh PC, Sanfilippo F. Clinical and cost impact of second-opinion pathology. Review of prostate biopsies prior to radical prostatectomy. *Am J Surg Pathol* 1996;20(7):851-7.
49. Epstein JI. Atypical small acinar proliferation of the prostate gland. *Am J Surg Pathol* 1998;22(11):1430-1.
50. Epstein JI. How should atypical prostate needle biopsies be reported? Controversies regarding the term "ASAP". *Hum Pathol* 1999;30(12):1401-2.

51. Epstein JI. Gleason score 2-4 adenocarcinoma of the prostate on needle biopsy: a diagnosis that should not be made. *Am J Surg Pathol* 2000;24(4):477-8.
52. Epstein JI, Potter SR. The pathological interpretation and significance of prostate needle biopsy findings: implications and current controversies. *J Urol* 2001;166(2):402-10.
53. Epstein JI. Diagnosis and reporting of limited adenocarcinoma of the prostate on needle biopsy. *Mod Pathol* 2004;17(3):307-15.
54. Epstein JI, Allsbrook WC, Jr., Amin MB, Egevad LL. The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2005;29(9):1228-42.
55. Evans AJ. Alpha-methylacyl CoA racemase (P504S): overview and potential uses in diagnostic pathology as applied to prostate needle biopsies. *J Clin Pathol* 2003;56(12):892-7.
56. Farrell DJ, Bilkhu S, Gibson LM, Cummings L, Wadehra V. Rapid screening of cervical smears as a method of internal quality control. For how long should we rescreen? *Acta Cytol* 1997;41(2):251-60.
57. Ferreira MD. Avaliação da dosagem sérica do antígeno prostático específico ajustado pelo volume da zona de transição na detecção precoce do câncer de próstata. [Dissertação de Mestrado]. Porto Alegre. Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2001.
58. Fine SW, Epstein JI. Minute foci of Gleason score 8-10 on prostatic needle biopsy: a morphologic analysis. *Am J Surg Pathol* 2005;29(7):962-8.
59. Fleshman RL, MacLennan GT. Immunohistochemical markers in the diagnosis of prostate cancer. *J Urol* 2005;173(5):1759.
60. Foucar E. 'Individuality' in the specialty of surgical pathology: self-expression or just another source of diagnostic error? *Am J Surg Pathol* 2000;24(11):1573-6.
61. Fukunaga M, Katabuchi H, Nagasaka T, Mikami Y, Minamiguchi S, Lage JM. Interobserver and intraobserver variability in the diagnosis of hydatidiform mole. *Am J Surg Pathol* 2005;29(7):942-7.
62. Glaessgen A, Hamberg H, Pihl CG, Sundelin B, Nilsson B, Egevad L. Interobserver reproducibility of percent Gleason grade 4/5 in prostate biopsies. *J Urol* 2004;171(2 Pt 1):664-7.
63. Glaessgen A, Hamberg H, Pihl CG, Sundelin B, Nilsson B, Egevad L. Interobserver reproducibility of modified Gleason score in radical prostatectomy specimens. *Virch Arch* 2004;445(1):17-21.
64. Gleason DF. Classification of prostatic carcinomas. *Cancer Chemother Rep* 1966;50(3):125-8.

65. Gleason D. Undergrading of Prostate Cancer Biopsies: A Paradox Inherent in All Biologic Bivariate Distributions. *Urol* 1996;47(3):289-291.
66. Guarner J, Herrera-Goepfert R, Mohar A, Sanchez L, Halperin D, Ley C, et al. Interobserver variability in application of the revised Sydney classification for gastritis. *Hum Pathol* 1999;30(12):1431-4.
67. Gupta D, Layfield LJ. Prevalence of inter-institutional anatomic pathology slide review: a survey of current practice. *Am J Surg Pathol* 2000;24(2):280-4.
68. Halushka MK, Kahane H, Epstein JI. Negative 34betaE12 staining in a small focus of atypical glands on prostate needle biopsy: a follow-up study of 332 cases. *Hum Pathol* 2004;35(1):43-6.
69. Hameed O, Sublett J, Humphrey PA. Immunohistochemical stains for p63 and alpha-methylacyl-CoA racemase, versus a cocktail comprising both, in the diagnosis of prostatic carcinoma: a comparison of the immunohistochemical staining of 430 foci in radical prostatectomy and needle biopsy tissues. *Am J Surg Pathol* 2005;29(5):579-87.
70. Herawi M, Parwani AV, Irie J, Epstein JI. Small glandular proliferations on needle biopsies: most common benign mimickers of prostatic adenocarcinoma sent in for expert second opinion. *Am J Surg Pathol* 2005;29(7):874-80.
71. Hoedemaeker RF, Van der Kwast TH, Schroder FH. The clinical significance of a small focus of well-differentiated carcinoma at prostate biopsy. *BJU Int* 2003;92 Suppl 2:92-6.
72. Hosler GA, Epstein JI. Basal cell hyperplasia: an unusual diagnostic dilemma on prostate needle biopsies. *Hum Pathol* 2005;36(5):480-5.
73. Hsieh TF, Chang CH, Chen WC, Chou CL, Chen CC, Wu HC. Correlation of Gleason scores between needle-core biopsy and radical prostatectomy specimens in patients with prostate cancer. *J Chin Med Assoc* 2005;68(4):167-71.
74. Iczkowski KA, MacLennan GT, Bostwick DG. Atypical small acinar proliferation suspicious for malignancy in prostate needle biopsies: clinical significance in 33 cases. *Am J Surg Pathol* 1997;21(12):1489-95.
75. Iczkowski KA, Bassler TJ, Schwob VS, Bassler IC, Kunnel BS, Orozco RE, et al. Diagnosis of "suspicious for malignancy" in prostate biopsies: predictive value for cancer. *Urology* 1998;51(5):749-57; discussion 757-8.
76. Iczkowski KA, Chen HM, Yang XJ, Beach RA. Prostate cancer diagnosed after initial biopsy with atypical small acinar proliferation suspicious for malignancy is similar to cancer found on initial biopsy. *Urology* 2002;60(5):851-4.
77. Iczkowski KA, Casella G, Seppala RJ, Jones GL, Mishler BA, Qian J, et al. Needle core length in sextant biopsy influences prostate cancer detection rate. *Urology* 2002;59(5):698-703.

78. INCA INdC-. Taxa de Mortalidade por Neoplasias Malignas. Ministério da Saúde. Disponível em: www.datasus.org.br. Brasil; 2005. Acesso em 15 de dezembro de 2005.
79. INCA INdC-. Câncer de Próstata - Concenso. Ministério da Saúde. Disponível em: www.inca.gov.br. Brasil; 2002. Acesso em 15 de dezembro de 2005.
80. Jiang Z, Woda BA, Rock KL, Xu Y, Savas L, Khan A, et al. P504S: a new molecular marker for the detection of prostate carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2001;25(11):1397-404.
81. Jiang Z, Wu CL, Woda BA, Dresser K, Xu J, Fanger GR, et al. P504S/alpha-methylacyl-CoA racemase: a useful marker for diagnosis of small foci of prostatic carcinoma on needle biopsy. *Am J Surg Pathol* 2002;26(9):1169-74.
82. Jiang Z, Iczkowski KA, Woda BA, Tretiakova M, Yang XJ. P504S immunostaining boosts diagnostic resolution of "suspicious" foci in prostatic needle biopsy specimens. *Am J Clin Pathol* 2004;121(1):99-107.
83. Jiang Z, Li C, Fischer A, Dresser K, Woda BA. Using an AMACR (P504S)/34betaE12/p63 cocktail for the detection of small focal prostate carcinoma in needle biopsy specimens. *Am J Clin Pathol* 2005;123(2):231-6.
84. Kestin LL, Goldstein NS, Vicini FA, Martinez AA. Percentage of positive biopsy cores as predictor of clinical outcome in prostate cancer treated with radiotherapy. *J Urol* 2002;168(5):1994-9.
85. Kronz JD, Shaikh AA, Epstein JI. High-grade prostatic intraepithelial neoplasia with adjacent small atypical glands on prostate biopsy. *Hum Pathol* 2001;32(4):389-95.
86. Kronz JD, Allan CH, Shaikh AA, Epstein JI. Predicting cancer following a diagnosis of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia on needle biopsy: data on men with more than one follow-up biopsy. *Am J Surg Pathol* 2001;25(8):1079-85.
87. Kronz JD, Milord R, Wilentz R, Weir EG, Schreiner SR, Epstein JI. Lesions missed on prostate biopsies in cases sent in for consultation. *Prostate* 2003;54(4):310-4.
88. Kruslin B, Tomas D, Rogatsch H, Novosel I, Cupic H, Belicza M, et al. Periacinar retraction clefting in the prostatic needle core biopsies: an important diagnostic criterion or a simple artifact? *Virch Arch* 2003;443(4):524-7.
89. Kunz GM, Jr., Epstein JI. Should each core with prostate cancer be assigned a separate gleason score? *Hum Pathol* 2003;34(9):911-4.
90. Lefkowitz GK, Sidhu GS, Torre P, Lepor H, Taneja SS. Is repeat prostate biopsy for high-grade prostatic intraepithelial neoplasia necessary after routine 12-core sampling? *Urol* 2001;58(6):999-1003.

91. Leite KR, Mitteldorf CA, Camara-Lopes LH. Repeat prostate biopsies following diagnoses of prostate intraepithelial neoplasia and atypical small gland proliferation. *Int Braz J Urol* 2005;31(2):131-6.
92. Leroy X, Ballereau C, Villers A, Saint F, Aubert S, Gosselin B, et al. MUC6 is a marker of seminal vesicle-ejaculatory duct epithelium and is useful for the differential diagnosis with prostate adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 2003;27(4):519-21.
93. Lessells AM, Burnett RA, Howatson SR, Lang S, Lee FD, McLaren KM, et al. Observer variability in the histopathological reporting of needle biopsy specimens of the prostate. *Hum Pathol* 1997;28(6):646-9.
94. Lind AC, Bewtra C, Healy JC, Sims KL. Prospective peer review in surgical pathology. *Am J Clin Pathol* 1995;104(5):560-6.
95. Lopez-Corona E, Ohori M, Scardino PT, Reuter VE, Gonen M, Kattan MW. A nomogram for predicting a positive repeat prostate biopsy in patients with a previous negative biopsy session. *J Urol* 2003;170(4 Pt 1):1184-8; discussion 1188.
96. McNeal JE. Normal Histology of the Prostate. *Am J Surg Pathol* 1988;12:619-633.
97. Magi-Galluzzi C, Luo J, Isaacs WB, Hicks JL, de Marzo AM, Epstein JI. Alpha-methylacyl-CoA racemase: a variably sensitive immunohistochemical marker for the diagnosis of small prostate cancer foci on needle biopsy. *Am J Surg Pathol* 2003;27(8):1128-33.
98. Molinie V, Fromont G, Sibony M, Vieillefond A, Vassiliu V, Cochand-Priollet B, et al. Diagnostic utility of a p63/alpha-methyl-CoA-racemase (p504s) cocktail in atypical foci in the prostate. *Mod Pathol* 2004;17(10):1180-90.
99. Montironi R, Mazzuccheli R, Scarpelli M, Lopez-Beltran A, Fellegara G, Algaba F. Gleason grading of prostate cancer in needle biopsies or radical prostatectomy specimens: contemporary approach, current clinical significance and sources of pathology discrepancies. *BJU Int* 2005;95(8):1146-52.
100. Moore CK, Karikehalli S, Nazeer T, Fisher HA, Kaufman RP, Jr., Mian BM. Prognostic significance of high grade prostatic intraepithelial neoplasia and atypical small acinar proliferation in the contemporary era. *J Urol* 2005;173(1):70-2.
101. Nadler RB, Loeb S, Roehl KA, Antenor JA, Eggener S, Catalona WJ. Use of 2.6 ng/ml prostate specific antigen prompt for biopsy in men older than 60 years. *J Urol* 2005;174(6):2154-7.
102. Nakhleh RE, Zarbo RJ. Amended reports in surgical pathology and implications for diagnostic error detection and avoidance: a College of American Pathologists Q-probes study of 1,667,547 accessioned cases in 359 laboratories. *Arch Pathol Lab Med* 1998;122(4):303-9.

103. Nassar A, Amin MB, Sexton DG, Cohen C. Utility of alpha-methylacyl coenzyme A racemase (p504s antibody) as a diagnostic immunohistochemical marker for cancer. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2005;13(3):252-5.
104. Nguyen PL, Schultz D, Renshaw AA, Vollmer RT, Welch WR, Cote K, et al. The impact of pathology review on treatment recommendations for patients with adenocarcinoma of the prostate. *Urol Oncol* 2004;22(4):295-9.
105. Novis DA, Zarbo RJ, Valenstein PA. Diagnostic uncertainty expressed in prostate needle biopsies. A College of American Pathologists Q-probes Study of 15,753 prostate needle biopsies in 332 institutions. *Arch Pathol Lab Med* 1999;123(8):687-92.
106. O'Connell MJ, Smith CS, Fitzpatrick PE, Keane CO, Fitzpatrick JM, Behan M, et al. Transrectal ultrasound-guided biopsy of the prostate gland: value of 12 versus 6 cores. *Abdom Imaging* 2004;29(1):132-6.
107. Oppenheimer JR, Wills ML, Epstein JI. Partial atrophy in prostate needle cores: another diagnostic pitfall for the surgical pathologist. *Am J Surg Pathol* 1998;22(4):440-5.
108. Oyama T, Allsbrook WC, Jr., Kurokawa K, Matsuda H, Segawa A, Sano T, et al. A comparison of interobserver reproducibility of Gleason grading of prostatic carcinoma in Japan and the United States. *Arch Pathol Lab Med* 2005;129(8):1004-10.
109. Pan CC, Liang WY, Huang CW, Chiang H. Diagnosing minimal adenocarcinoma on prostate needle biopsy by real-time dynamic telepathology through the internet: evaluation of an economic technology for remote consultation. *Hum Pathol* 2002;33(2):242-6.
110. Park S, Shinohara K, Grossfeld GD, Carroll PR. Prostate cancer detection in men with prior high grade prostatic intraepithelial neoplasia or atypical prostate biopsy. *J Urol* 2001;165(5):1409-14.
111. Pestana M. *Análise de Dados para Ciências Sociais: a complementariedade do SPSS*. 3 ed. Lisboa: Edições Sílabo; 2003. p.181-185.
112. Philip J, Ragavan N, Desouza J, Foster CS, Javle P. Effect of peripheral biopsies in maximising early prostate cancer detection in 8-, 10- or 12-core biopsy regimens. *BJU Int* 2004;93(9):1218-20.
113. Piotrowski MM, Bessette RL, Chensue S, Cutler D, Kachalia A, Roseborough JW, et al. Learning to improve safety: false-positive pathology report results in wrongful surgery. *Jt Comm J Qual Patient Saf* 2005;31(3):123-31.
114. Poulos CK, Daggy JK, Cheng L. Prostate needle biopsies: multiple variables are predictive of final tumor volume in radical prostatectomy specimens. *Cancer* 2004;101(3):527-32.
115. Ramsay AD. Errors in histopathology reporting: detection and avoidance. *Histopathology* 1999;34(6):481-90.

116. Renshaw AA, Santis WF, Richie JP. Clinicopathological characteristics of prostatic adenocarcinoma in men with atypical prostate needle biopsies. *J Urol* 1998;159(6):2018-21.
117. Renshaw AA, Pinnar NE, Jiroutek MR, Young ML. Blinded review as a method for quality improvement in surgical pathology. *Arch Pathol Lab Med* 2002;126(8):961-3.
118. Renshaw AA, Pinnar NE, Jiroutek MR, Young ML. Quantifying the value of in-house consultation in surgical pathology. *Am J Clin Pathol* 2002;117(5):751-4.
119. Renshaw AA, Schultz D, Cote K, Loffredo M, Ziembra DE, D'Amico AV. Accurate Gleason grading of prostatic adenocarcinoma in prostate needle biopsies by general pathologists. *Arch Pathol Lab Med* 2003;127(8):1007-8.
120. Renshaw AA, Cartagena N, Granter SR, Gould EW. Agreement and error rates using blinded review to evaluate surgical pathology of biopsy material. *Am J Clin Pathol* 2003;119(6):797-800.
121. Renshaw AA. Rescreening in cervical cytology for quality control. When bad data is worse than no data or what works, what doesn't, and why. *Clin Lab Med* 2003;23(3):695-708.
122. Renshaw AA, Young ML, Holladay EB. Blinded review of Papanicolaou smears in the context of litigation. *Cancer* 2004;102(3):136-41.
123. Rioux-Leclercq N, Leray E, Patard JJ, Lobel B, Guille F, Jouan F, et al. The utility of Ki-67 expression in the differential diagnosis of prostatic intraepithelial neoplasia and ductal adenocarcinoma. *Hum Pathol* 2005;36(5):531-5.
124. Rosen S, Upton M. ASAP. Atypical small acinar proliferations. *Hum Pathol* 1999;30(12):1403.
125. Rubin MA, Bismar TA, Curtis S, Montie JE. Prostate needle biopsy reporting: how are the surgical members of the Society of Urologic Oncology using pathology reports to guide treatment of prostate cancer patients? *Am J Surg Pathol* 2004;28(7):946-52.
126. San Francisco IF, Olumi AF, Kao J, Rosen S, DeWolf WC. Clinical management of prostatic intraepithelial neoplasia as diagnosed by extended needle biopsies. *BJU Int* 2003;91(4):350-4.
127. Scattoni V, Roscigno M, Freschi M, Deho F, Raber M, Briganti A, et al. Atypical small acinar proliferation (ASAP) on extended prostatic biopsies: predictive factors of cancer detection on repeat biopsies. *Arch Ital Urol Androl* 2005;77(1):31-6.
128. Schlesinger C, Bostwick DG, Iczkowski KA. High-grade prostatic intraepithelial neoplasia and atypical small acinar proliferation: predictive value for cancer in current practice. *Am J Surg Pathol* 2005;29(9):1201-7.

129. Selman AE, Niemann TH, Fowler JM, Copeland LJ. Quality assurance of second opinion pathology in gynecologic oncology. *Obstet Gynecol* 1999;94(2):302-6.
130. Shah RB, Kunju LP, Shen R, LeBlanc M, Zhou M, Rubin MA. Usefulness of basal cell cocktail (34betaE12 + p63) in the diagnosis of atypical prostate glandular proliferations. *Am J Clin Pathol* 2004;122(4):517-23.
131. Skjorten FJ, Berner A, Harvei S, Robsahm TE, Tretli S. Prostatic intraepithelial neoplasia in surgical resections: relationship to coexistent adenocarcinoma and atypical adenomatous hyperplasia of the prostate. *Cancer* 1997;79(6):1172-9.
132. Srigley JR, Amin M, Boccon-Gibod L, Egevad L, Epstein JI, Humphrey PA, et al. Prognostic and predictive factors in prostate cancer: historical perspectives and recent international consensus initiatives. *Scand J Urol Nephrol Suppl* 2005(216):8-19.
133. Sved PD, Gomez P, Manoharan M, Kim SS, Soloway MS. Limitations of biopsy Gleason grade: implications for counseling patients with biopsy Gleason score 6 prostate cancer. *J Urol* 2004;172(1):98-102.
134. Tran T-AA, AG; Amin, MB; Nazeer, T; Ro, JY; Ross, JS; Jennings, TA. Utility of High-Molecular Cytokeratin 34[beta]E12 in Atypical Small Acinar Proliferations in Prostatic Needle Biopsies. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology* 1999;7(3):186.
135. Trotter MJ, Bruecks AK. Interpretation of skin biopsies by general pathologists: diagnostic discrepancy rate measured by blinded review. *Arch Pathol Lab Med* 2003;127(11):1489-92.
136. Van der Kwast TH, Lopes C, Martikainen PM, Pihl CG, Santonja C, Neetens I, et al. Report of the Pathology Committee: false-positive and false-negative diagnoses of prostate cancer. *BJU Int* 2003;92 Suppl 2:62-5.
137. Van der Kwast TH, Lopes C, Santonja C, Pihl CG, Neetens I, Martikainen P, et al. Guidelines for processing and reporting of prostatic needle biopsies. *J Clin Pathol* 2003;56(5):336-40.
138. Van der Kwast TH, Hoedemaeker RF, Schroder FH. [Diagnosis based on prostate needle biopsy: inadequate correlation between pathologic results and clinical course for individual prognosis]. *Ned Tijdschr Geneesk* 2005;149(18):972-6.
139. Varma M, Lee MW, Tamboli P, Zarbo RJ, Jimenez RE, Salles PG, et al. Morphologic criteria for the diagnosis of prostatic adenocarcinoma in needle biopsy specimens. A study of 250 consecutive cases in a routine surgical pathology practice. *Arch Pathol Lab Med* 2002;126(5):554-61.
140. Varma M, Jasani B. Diagnostic utility of immunohistochemistry in morphologically difficult prostate cancer: review of current literature. *Histopathol* 2005;47(1):1-16.

141. Wakely SL, Baxendine-Jones JA, Gallagher PJ, Mullee M, Pickering R. Aberrant diagnoses by individual surgical pathologists. *Am J Surg Pathol* 1998;22(1):77-82.
142. Weinstein MH, Signoretti S, Loda M. Diagnostic utility of immunohistochemical staining for p63, a sensitive marker of prostatic basal cells. *Mod Pathol* 2002;15(12):1302-8.
143. Weiss M. High-Grade Prostatic Intraepithelial Neoplasia. *Arch Pathol and Lab Med* 2000;125(3):440-442.
144. Wills ML, Hamper UM, Partin AW, Epstein JI. Incidence of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia in sextant needle biopsy specimens. *Urology* 1997;49(3):367-73.
145. Yanke BV, Gonen M, Scardino PT, Kattan MW. Validation of a nomogram for predicting positive repeat biopsy for prostate cancer. *J Urol* 2005;173(2):421-4.
146. Young NA, Mody DR, Davey DD. Misinterpretation of normal cellular elements in fine-needle aspiration biopsy specimens: observations from the College of American Pathologists Interlaboratory Comparison Program in Non-Gynecologic Cytopathology. *Arch Pathol Lab Med* 2002;126(6):670-5.
147. Zhou M, Epstein JI. The reporting of prostate cancer on needle biopsy: prognostic and therapeutic implications and the utility of diagnostic markers. *Pathol* 2003;35(6):472-9.
148. Zhou M, Aydin H, Kanane H, Epstein JI. How often does alpha-methylacyl-CoA-racemase contribute to resolving an atypical diagnosis on prostate needle biopsy beyond that provided by basal cell markers? *Am J Surg Pathol* 2004;28(2):239-43.

**10 ARTIGO EM PORTUGUÊS: AVALIAÇÃO DA VARIABILIDADE
INTEROBSERVADOR NO
DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO
EM BIÓPSIAS DE PRÓSTATA**

AVALIAÇÃO DA VARIABILIDADE INTEROBSERVADOR NO DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO EM BIÓPSIAS DE PRÓSTATA

Schumacher RCA*, Meurer L[§], Edelweiss MIE[£]

* Médica patologista, mestranda do Programa de Pós-graduação em Medicina: Cirurgia da UFRGS.

§ Professora substituta do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da UFRGS.

£ Professora adjunta do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da UFRGS.

Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e Programa de Pós-Graduação em Medicina: Cirurgia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

Correspondência para: Rita de Cássia A. Schumacher
Rua Mata Bacelar, 240/304
90540-15 – Porto Alegre, RS – Brasil
rschuma@terra.com.br
fone/fax: (51) 3231.7457

RESUMO

Introdução e objetivos: a punção-biópsia de próstata é a principal forma de diagnóstico do câncer de próstata. A introdução da dosagem sérica do PSA e os programas de rastreamento do câncer de próstata levaram à detecção de neoplasias subclínicas e de pequenas dimensões. A utilização da revisão cega de cortes histológicos no controle de qualidade dos exames permite a reavaliação, fornece a variabilidade interobservadores e possibilita a detecção de exames discrepantes, falsos negativos e positivos. Na próstata tal prática é justificável pela frequência de diagnósticos de incerteza e de neoplasias de pequenas dimensões, que tornam a interpretação do exame mais difícil e subjetiva. O objetivo deste estudo é avaliar a variabilidade interobservador em biópsias de próstata.

Material e métodos: dois patologistas revisaram separadamente 489 exames de biópsias de próstata. Os patologistas desconheciam o diagnóstico original e informações clínicas como valor do PSA, idade e toque retal, obtidos dos prontuários clínicos. A variabilidade interobservador foi quantificada através do índice Kappa.

Resultados: foram revisadas biópsias provenientes de 191 pacientes. A média de idade foi de 65,5 anos e a média do PSA de 14,26 ng/ml (mediana=8,4 ng/ml). A concordância geral entre o diagnóstico original e o final (pós-revisão) foi de 94,3% e o índice kappa foi de 0,86 (com intervalo de confiança de 95% entre 0,8 e 0,91). O índice kappa entre os revisores foi de 0,83. A concordância entre os grupos de diagnóstico foi de 94,6% (kappa 0,85) para os exames benignos; 100% (k 0,99) nos adenocarcinomas; 76,5% (k 0,67) nas ASAPs – proliferações de pequenos ácinos atípicos e 50% (k 0,3) nas NIPs – neoplasias intraepiteliais prostáticas de alto grau.

Conclusões: Este estudo mostrou a alta concordância interobservador nos diagnósticos benignos e adenocarcinomas. As maiores variações ocorreram nas lesões pré-malignas (NIP) e nos diagnósticos duvidosos, expressas por uma menor concordância interobservador e baixo índice kappa. A revisão cega de biópsias de próstata pode ser útil e deve ser recomendada nos casos duvidosos, onde há uma forte suspeita de neoplasia, uma vez que o diagnóstico de neoplasias pequenas e lesões pré-neoplásicas é de difícil interpretação e pode estar relacionada a uma maior variabilidade interobservador.

Palavras-chave: câncer de próstata, biópsia por agulha, controle de qualidade.

INTRODUÇÃO

A punção-biópsia de próstata é a principal forma de diagnóstico do câncer de próstata. Após a introdução da dosagem sérica do Antígeno Prostático Específico (PSA) e a possibilidade do rastreamento do câncer na população, através do exame ultrassonográfico com biópsia, houve um avanço no diagnóstico precoce das neoplasias de próstata, possibilitando a detecção da doença em estágios iniciais e subclínicos. Do ponto de vista da avaliação pelo patologista, contudo, isto significou um aumento no diagnóstico de processos benignos da próstata, neoplasias de pequenas dimensões, lesões pré-neoplásicas e outras condições que podem mimetizar características histológicas do adenocarcinoma e trazer dificuldade para a interpretação das biópsias por agulha .

O número elevado de casos com diagnósticos duvidosos e adenocarcinomas focais propiciou o surgimento de acrônimos como ASAP (proliferação de pequenos ácinos atípicos) e NIP (neoplasia intraepitelial prostática). Nos últimos anos a discussão dos seus significados em biópsias mostra a importância destes diagnósticos no seguimento dos pacientes (1,2).

Vários trabalhos mostram que a rebiópsia de pacientes com diagnóstico de ASAP acaba por revelar um adenocarcinoma em 21 a 49% dos casos. (1-7). A introdução de protocolos de biópsias sextantes estendidas, mais amplas, confirmam a importância e o valor preditivo do diagnóstico dos casos duvidosos (ASAP) (8).

Por outro lado, também houve uma tentativa de classificar melhor estas lesões com a utilização da imuno-histoquímica, inicialmente com a citoqueratina 34 β E12 e o p63 e posteriormente com a alfa-metil-coA-racemase (AMACR). Vários trabalhos demonstram a baixa sensibilidade e especificidade destes marcadores isoladamente e em coquetéis, evidenciando a necessidade de se aliar os critérios morfológicos e aspectos clínicos na decisão diagnóstica (9-13).

Outros trabalhos apontam as dificuldades diagnósticas e a variabilidade interobservador nos diagnósticos histopatológicos de biópsias de próstata e na graduação do Escore de Gleason (EG). A maior parte dos trabalhos enfoca as variabilidades nos padrões do EG nas biópsias e peças de prostatectomia (14-24). A variabilidade geral do diagnóstico histopatológico em biópsias é pouco estudada (17).

Alguns estudos demonstram o papel da “segunda opinião” na elucidação dos diagnósticos duvidosos e o seu impacto econômico e prognóstico (25,26). A revisão cega de biópsias de próstata pode mostrar onde se encontram as principais discrepâncias e falhas no diagnóstico do adenocarcinoma prostático, além de propiciar uma maior uniformidade dos exames e segurança nos diagnósticos duvidosos.

PACIENTES E MÉTODOS

Este é um estudo com delineamento transversal contemporâneo, onde foi revisada uma amostra aleatória com exames histológicos de biópsias de próstata realizados no Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre no

período de 1º de junho a 23 de dezembro de 2004. O número de exames estudados foi de 489 exames, provenientes de 191 pacientes.

Para estimar a concordância entre os observadores foi utilizado o índice kappa. Na interpretação do índice kappa, valores entre 0,81 e 1,0 significam muito boa concordância; valores entre 0,61 e 0,81 boa concordância; valores entre 0,41 e 0,60 moderada concordância e inferiores a 0,2, concordância muito fraca. Para estimar a concordância nos diagnósticos de adenocarcinoma do EG utilizou-se o índice kappa ponderado. Para as comparações os EG foram agrupados em três grupos: EG menor ou igual a 6, EG igual a 7 e EG maior que 7. Variações maiores que uma categoria foram consideradas graves na escala de ponderação (6,112). Para a análise da idade e PSA nos diferentes grupos foi realizada análise de variância (ANOVA, one way) e o teste de Kruskal Wallis, respectivamente. Os programas estatísticos utilizados foram o SPSS (Statistical Package for Social Science, versão 11.0 – Chicago, IL), Pepi (versão 3.0) e Stata (versão 7.0)

Os exames foram revisados por dois patologistas vinculados ao Serviço de Patologia (revisão intra-departamental). As biópsias foram examinadas independentemente, de forma totalmente cega, ou seja sem o conhecimento do diagnóstico original e informações clínicas como idade, PSA e toque retal. Posteriormente foram anexadas as informações clínicas e o diagnóstico original para confronto. Também foi pesquisado o resultado de biópsias posteriores nos casos de ASAP e NIP. Os exames com diagnósticos discrepantes entre os revisores e o diagnóstico original e discrepantes entre si foram revisados por um terceiro patologista para a realização de um consenso.

As lâminas de HE foram obtidas dos arquivos do Serviço de Patologia do HCPA, mantendo-se assim as mesmas condições técnicas para todos os observadores. Nos casos de diagnóstico de ASAP foi realizada a técnica de imunohistoquímica com a utilização do anticorpo monoclonal para citoqueratina de alto peso molecular, clone 34 β E12 (DAKO®-código MO630), camundongo anti-humano, na diluição 1/20 (1 microlitro de anticorpo/20 microlitros de tampão). As glândulas nitidamente benignas ao redor dos ácinos suspeitos foram utilizadas como controle interno. O perfil imunohistoquímico foi graduado em positivo (positividade contínua ou descontínua das células basais) e negativo (sem expressão do marcador).

Na revisão os patologistas tinham as seguintes opções de diagnóstico: negativo (incluindo as prostatites e outras entidades benignas), adenocarcinoma (adicionado do grau de Gleason), ASAP, NIP, ASAP + NIP e inadequado.

Os diagnósticos a partir das revisões foram classificados como: correto - o mesmo diagnóstico entre o diagnóstico original e os revisores; falso negativo - ASAP, NIP e adenocarcinoma não diagnosticados no exame original; falso positivo - ASAP, NIP e adenocarcinomas não confirmados pelos revisores; diagnóstico discrepante - variações no EG dos adenocarcinomas, discordâncias entre os revisores que não resultaram em mudança do diagnóstico, e inconclusivo - material inadequado para interpretação (ausência ou escassez de glândulas prostáticas).

RESULTADOS

Foram revisadas 489 biópsias de próstata, provenientes de 191 pacientes. A média de idade dos pacientes foi de 65,55 anos. O valor do PSA era conhecido em 151 pacientes, apresentando uma média de 14,26 ng/ml (mediana=8,4 ng/ml). Os exames insatisfatórios, por amostra inadequada, foram excluídos da análise (7 casos, 1,4%). No total 482 casos foram incluídos na análise da variabilidade interobservador. A concordância entre o diagnóstico original e o final foi de 94,3% e o índice kappa foi de 0,86 (com intervalo de confiança de 95% entre 0,8 e 0,91). A tabela 1 mostra a frequência dos diagnósticos e a variabilidade interobservador entre o diagnóstico original e o diagnóstico final (após revisão).

A concordância interobservador geral foi considerada muito boa. Avaliando-se separadamente os diagnósticos obteve-se um kappa de 0,85 para os exames benignos, 0,99 para os adenocarcinomas, 0,67 para as ASAPs e 0,3 para as NIPs. O índice de concordância foi considerado muito bom nos exames benignos e nos adenocarcinomas, bom nas ASAPs e fraco nas NIPs, conforme a interpretação do índice kappa.

A variabilidade interobservadores aos pares pode ser observada na tabela 2. Entre todos os observadores a variabilidade geral foi considerada de boa a muito boa. Entre os grupos de diagnósticos as maiores variações foram encontradas nas NIPs e ASAPs. Na NIP a concordância foi de fraca a moderada. Entre os dois revisores R1 e R2 houve moderada concordância na NIP. Na ASAP a concordância foi moderada a boa.

Um dos patologistas revisores (R2) também foi o patologista original em muitos exames, sendo possível então para este revisor determinar a variabilidade intraobservador, que foi muito boa nos exames benignos (k 0,94), adenocarcinomas (k 1,0) e ASAPs (k 0,85). Na NIP houve uma concordância intraobservador moderada (k 0,66).

Na análise de variância dos diferentes grupos de diagnósticos não houve diferença significativa na idade dos pacientes ($p = 0,408$). Na análise do PSA houve diferença entre os grupos ($p = 0,001$). Não houve diferença significativa entre o grupo de pacientes com adenocarcinoma e o grupo de pacientes com diagnóstico benigno ($p=0,06$), Houve diferença significativa entre o grupo ASAP e o grupo adenocarcinoma ($p=0,04$), porém o número de pacientes é pequeno neste grupo.

Adenocarcinomas

Na amostra obteve-se 87 exames com adenocarcinoma. Na avaliação do EG houve discrepância na graduação em 29 exames, dos 84 onde foram possíveis realizar as comparações. As maiores variações ocorreram na graduação do padrão 4.

A concordância no EG foi calculada usando-se o índice kappa ponderado. Esta análise foi possível em 84 exames dentre os 87 casos de adenocarcinoma. Em três exames pelo menos um observador não concordou com o diagnóstico de adenocarcinoma, não sendo possível avaliar a concordância do EG. Houve uma concordância geral boa no EG entre os observadores. Na tabela 3 observa-se o

índice kappa geral para cada observador e o índice kappa ponderado para cada categoria de EG.

Em oito casos onde o diagnóstico inicial era negativo foi encontrado um foco de ASAP negativa na imuno-histoquímica (figura 1 e 2). De todos os casos de ASAP diagnosticados originalmente, em dois não foi realizada a imuno-histoquímica por tratarem-se de focos muito pequenos que foram julgados impróprios pelo patologista original. O exame imuno-histoquímico foi realizado em 27 focos de lesões suspeitas. Em um caso de carcinoma foi feita a imuno-histoquímica para confirmar o diagnóstico e em outro caso, onde havia concomitantemente ASAP e carcinoma na mesma lâmina foi feita a reação para determinar o padrão imuno-histoquímico no foco de ASAP.

DISCUSSÃO

A variabilidade interobservador é amplamente estudada em anatomia patológica, onde muitas vezes os critérios diagnósticos não são claramente definidos ou dependem da avaliação subjetiva do patologista. Na próstata muitos relatos tratam da variabilidade interobservador no EG e poucos trabalhos abordam este tema com um enfoque no diagnóstico em biópsias. Recentemente o EG foi adaptado com o intuito de uniformizar e diminuir as variações do seu emprego (ISUP- 2005) (27).

Lessels e colaboradores demonstraram a variabilidade interobservador em uma amostra de 100 lâminas revisadas por 12 patologistas, das quais 53 eram

benignas, 46 malignas e uma suspeita. No estudo de Lessels o índice kappa foi de 0,86 nos exames benignos e 0,91 nos adenocarcinomas. Neste estudo houve uma concordância interobservador muito boa nos diagnósticos benignos e malignos nas biópsias de próstata (17).

No nosso estudo o índice kappa para os exames benignos foi de 0,85 (n=372) e para os malignos foi de 0,99 (n=87). Os nossos resultados são semelhantes ao estudo anterior, confirmando a concordância muito boa na avaliação destes diagnósticos.

Para a NIP a concordância interobservador tem sido pouco descrita. Epstein e colaboradores determinaram a variabilidade no diagnóstico da NIP de baixo e alto grau em um estudo realizado em uma época em que ainda era usada a graduação das NIPs em grau 1, 2 e 3, mostrando uma concordância fraca entre os observadores com um kappa de 0,33 (n=25). No nosso estudo foi encontrado um índice kappa de 0,3 para as NIPs, onde todos os casos tratavam-se de NIPs de alto grau, e mesmo assim houve uma concordância fraca entre os observadores.

No nosso trabalho houve uma concordância menor entre os observadores nas NIPs e ASAPs, confirmando a maior subjetividade e possibilidade de discordância entre estes diagnósticos. Contudo, o número pequeno de casos e o intervalo de confiança amplo do índice kappa dão pouco poder aos resultados nestas duas situações. Na maioria dos trabalhos onde utilizou-se o índice kappa como medida de variabilidade, não fica explicitado o intervalo de confiança e em alguns o número de

exames comparados também é pequeno, impedindo uma avaliação mais precisa da variabilidade da NIP e ASAP em biópsias (28,14,17).

Chan e colaboradores também determinam o grau de concordância em biópsias de próstatas enviadas a um uropatologista para uma segunda opinião. Neste estudo o grau de concordância na NIP foi de 75% e nos suspeitos (ASAP) 36,8% (11).

No nosso estudo a concordância interobservador nas ASAPs foi de 76,5% (kappa 0,67). Esta diferença entre os dados da literatura e os nossos pode ser explicada pelo tipo e tamanho da amostra do nosso estudo. Todos os nossos casos eram provenientes de um mesmo serviço diferentemente do trabalho de Chan, onde os exames eram provenientes de diversos locais, possivelmente com variações maiores na forma de relatar os diagnósticos suspeitos, e além disso compreenderam um número bem maior de casos suspeitos. Com o número de casos estudados no nosso trabalho não é possível afirmar que a variabilidade não possa ser maior neste diagnóstico, conforme podemos observar pelo intervalo de confiança do índice kappa (0,5-0,86).

Um outro aspecto importante no nosso trabalho foi a forma de revisão e amostras. Todos os casos foram avaliados de forma cega incluindo os casos negativos, positivos e duvidosos aleatoriamente, possibilitando ao revisor uma avaliação isenta. Em muitos trabalhos os patologistas revisores sabiam o tipo de amostra que estavam avaliando. Além disso, no nosso trabalho o patologista revisor possuía todas as lâminas do mesmo caso e a partir delas realizava o diagnóstico,

diferentemente de muitos trabalhos, onde as zonas para serem avaliadas pelos observadores eram marcadas ou selecionadas previamente. A forma como fizemos as revisões se aproxima mais de uma situação real de revisão de lâminas.

As variações no diagnóstico nos EG é mais bem estudada. A grande motivação e esforços no sentido de compreendê-lo devem-se as implicações prognósticas. O EG é o fator prognóstico mais importante no câncer de próstata e correlaciona-se com diversas variáveis como volume tumoral, status das margens nas prostatectomias, recorrência, PSA e marcadores moleculares. Diversos trabalhos estudam as diferenças na graduação do EG, seja em peças de prostatectomia, ou comparações entre o grau da biópsia e da peça radical, demonstrando a falta de reprodutibilidade interobservador (10,16,18).

Alguns estudos mostram a variabilidade interobservador no EG em biópsias, variando o índice kappa de 0,47 a 0,68 dentro dos vários grupos de diagnósticos. Nas biópsias há uma tendência de subgraduar a neoplasia, principalmente de grau 7 para 6, onde a zona de tumor com padrão 4 é pequena e duvidosa (9,12,13,15,19,29). Outros trabalhos comparando as biópsias sextantes e estendidas demonstram uma maior acurácia na graduação do EG nas biópsias mais amplas (30).

Alsbrook e colaboradores demonstraram o índice kappa em biópsias de próstata em uma amostra de 46 casos, que foram revisadas por dez patologistas diferentes. O índice kappa neste estudo foi de 0,56 a 0,7, considerada uma boa concordância. As maiores variações ocorreram entre os padrões 4 e 5 e nos carcinomas bem diferenciados com padrão 1 e 2, demonstrando a dificuldade no

diagnóstico dessas neoplasias, principalmente tratando-se de focos tumorais pequenos (9).

O trabalho de Glaessgen e colaboradores também revela uma maior variabilidade na graduação dos padrões mais elevados, correlacionando as discrepâncias com o número de fragmentos envolvidos. Especificamente demonstra a variabilidade do padrão 4 quando este apresenta arranjos cribriformes e fusão de glândulas (15).

Nguyen e colaboradores estudaram o impacto da revisão de biópsias de próstata que continham adenocarcinoma. Neste estudo o EG mudou em um grau em 44% dos casos e foi mais comum o aumento do EG na revisão (81% dos casos), determinando um aumento na categoria de risco intermediário a alto em 8,2 % dos pacientes (31).

No nosso trabalho o índice kappa geral para a graduação do EG variou de 0,72 a 0,83 entre os observadores, considerada boa a muito boa. Os índices mais baixos foram encontrados no grau 7 (kappa 0,59 a 0,66) e maior que sete (kappa 0,66 a 0,79) com moderada a boa concordância. No nosso trabalho não obtivemos nenhum caso de EG total 4 ou menor que 4.

A imuno-histoquímica no diagnóstico de focos suspeitos tem mostrado uma sensibilidade baixa na diferenciação do adenocarcinoma e processos benignos, como é demonstrado em diversos trabalhos onde utilizam-se marcadores para células basais e outros marcadores tumorais como a AMACR. As principais dificuldades no

diagnóstico imuno-histoquímico relacionam-se com a irregularidade com que os marcadores para células basais coram as glândulas normais e de outros processos não neoplásicos (10-13).

No nosso trabalho encontramos algumas dificuldades neste sentido. Os exames inconclusivos na imuno-histoquímica representaram focos suspeitos negativos para a 34 β E12 que apresentavam glândulas benignas adjacentes também negativas (controle interno negativo). Este tipo de padrão imuno-histoquímico é relatado por outros autores e dificulta a interpretação do exame (13). Um outro problema encontrado com a técnica de imuno-histoquímica foi a representação do foco suspeito na lâmina processada.

Na avaliação dos falsos positivos e negativos em biópsias de próstata alguns trabalhos demonstram sua ocorrência. Van der Kwast e colaboradores em um estudo colaborativo europeu mostram a freqüência de falsos negativos em 4% dos exames de biópsia de próstata previamente diagnosticados como benignos e 0,36% de falsos positivos. Este estudo atribuiu os achados principalmente a pequenos focos de tumor que não foram detectados pelo patologista ou supervalorizados nos falsos positivos. Outro estudo de Kronz e colaboradores revela uma freqüência de 2,7% de falsos negativos (26,32).

A variabilidade interobservador nos diagnósticos histopatológicos de biópsias de próstata foi considerada muito boa nos diagnósticos benignos e nos adenocarcinomas. Na avaliação diagnóstica dos casos suspeitos (ASAP) e das NIPs

a variabilidade interobservador foi maior, considerada boa nas ASAPs e fraca nas NIPs, refletindo a maior dificuldade no diagnóstico destes casos.

Na avaliação diagnóstica os falsos negativos e positivos representaram os casos onde há maior variabilidade, ASAPs e NIPs. As maiores discrepâncias diagnósticas foram encontradas na forma de graduar o EG. Tais resultados mostram a importância da revisão cega na detecção de lesões pequenas, em diagnósticos polêmicos e na graduação de neoplasias de grau limítrofe.

REFERÊNCIAS

1. Billis A. Follow up of high grade prostatic intraepithelial neoplasia and atypical small acinar proliferation in a highly screened patient population. *Int Braz J Urol* 2003;29(2):172-3.
2. Herawi M, Parwani AV, Irie J, Epstein JI. Small glandular proliferations on needle biopsies: most common benign mimickers of prostatic adenocarcinoma sent in for expert second opinion. *Am J Surg Pathol* 2005;29(7):874-80.
3. Hoedemaeker RF, Van der Kwast TH, Schroder FH. The clinical significance of a small focus of well-differentiated carcinoma at prostate biopsy. *BJU Int* 2003;92 Suppl 2:92-6.
4. Iczkowski KA, Chen HM, Yang XJ, Beach RA. Prostate cancer diagnosed after initial biopsy with atypical small acinar proliferation suspicious for malignancy is similar to cancer found on initial biopsy. *Urol* 2002;60(5):851-4.
5. Leite KR, Mitteldorf CA, Camara-Lopes LH. Repeat prostate biopsies following diagnoses of prostate intraepithelial neoplasia and atypical small gland proliferation. *Int Braz J Urol* 2005;31(2):131-6.
6. Moore CK, Karikehalli S, Nazeer T, Fisher HA, Kaufman RP, Jr., Mian BM. Prognostic significance of high grade prostatic intraepithelial neoplasia and atypical small acinar proliferation in the contemporary era. *J Urol* 2005;173(1):70-2.
7. Srigley JR, Amin M, Boccon-Gibod L, Egevad L, Epstein JI, Humphrey PA, et al. Prognostic and predictive factors in prostate cancer: historical perspectives and recent international consensus initiatives. *Scand J Urol Nephrol Suppl* 2005(216):8-19.
8. Scattoni V, Roscigno M, Freschi M, Deho F, Raber M, Briganti A, et al. Atypical small acinar proliferation (ASAP) on extended prostatic biopsies: predictive factors of cancer detection on repeat biopsies. *Arch Ital Urol Androl* 2005;77(1):31-6.
9. Fleshman RL, MacLennan GT. Immunohistochemical markers in the diagnosis of prostate cancer. *J Urol* 2005;173(5):1759.
10. Halushka MK, Kahane H, Epstein JI. Negative 34betaE12 staining in a small focus of atypical glands on prostate needle biopsy: a follow-up study of 332 cases. *Hum Pathol* 2004;35(1):43-6.
11. Hameed O, Sublett J, Humphrey PA. Immunohistochemical stains for p63 and alpha-methylacyl-CoA racemase, versus a cocktail comprising both, in the diagnosis of prostatic carcinoma: a comparison of the immunohistochemical

- staining of 430 foci in radical prostatectomy and needle biopsy tissues. *Am J Surg Pathol* 2005;29(5):579-87.
12. Jiang Z, Li C, Fischer A, Dresser K, Woda BA. Using an AMACR (P504S)/34betaE12/p63 cocktail for the detection of small focal prostate carcinoma in needle biopsy specimens. *Am J Clin Pathol* 2005;123(2):231-6.
 13. Varma M, Jasani B. Diagnostic utility of immunohistochemistry in morphologically difficult prostate cancer: review of current literature. *Histopathology* 2005;47(1):1-16.
 14. Allsbrook WC, Jr., Mangold KA, Johnson MH, Lane RB, Lane CG, Amin MB, et al. Interobserver reproducibility of Gleason grading of prostatic carcinoma: urologic pathologists. *Hum Pathol* 2001;32(1):74-80.
 15. Carlson GD, Calvanese CB, Kahane H, Epstein JI. Accuracy of biopsy Gleason scores from a large uropathology laboratory: use of a diagnostic protocol to minimize observer variability. *Urology* 1998;51(4):525-9.
 16. Chan TY, Epstein JI. Patient and urologist driven second opinion of prostate needle biopsies. *J Urol* 2005;174(4 Pt 1):1390-4.
 17. Coard KC, Freeman VL. Gleason grading of prostate cancer: level of concordance between pathologists at the University Hospital of the West Indies. *Am J Clin Pathol* 2004;122(3):373-6.
 18. De la Taille A, Viellefond A, Berger N, Boucher E, De Fromont M, Fondimare A, et al. Evaluation of the interobserver reproducibility of Gleason grading of prostatic adenocarcinoma using tissue microarrays. *Hum Pathol* 2003;34(5):444-9.
 19. Epstein JI, Grignon DJ, Humphrey PA, McNeal JE, Sesterhenn IA, Troncoso P, et al. Interobserver reproducibility in the diagnosis of prostatic intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol* 1995;19(8):873-86.
 20. Glaessgen A, Hamberg H, Pihl CG, Sundelin B, Nilsson B, Egevad L. Interobserver reproducibility of percent Gleason grade 4/5 in prostate biopsies. *J Urol* 2004;171(2 Pt 1):664-7.
 21. Glaessgen A, Hamberg H, Pihl CG, Sundelin B, Nilsson B, Egevad L. Interobserver reproducibility of modified Gleason score in radical prostatectomy specimens. *Virchows Arch* 2004;445(1):17-21.
 22. Lessells AM, Burnett RA, Howatson SR, Lang S, Lee FD, McLaren KM, et al. Observer variability in the histopathological reporting of needle biopsy specimens of the prostate. *Hum Pathol* 1997;28(6):646-9.
 23. Montironi R, Mazzuccheli R, Scarpelli M, Lopez-Beltran A, Fellegara G, Algaba F. Gleason grading of prostate cancer in needle biopsies or radical prostatectomy specimens: contemporary approach, current clinical significance and sources of pathology discrepancies. *BJU Int* 2005;95(8):1146-52.

24. Oyama T, Allsbrook WC, Jr., Kurokawa K, Matsuda H, Segawa A, Sano T, et al. A comparison of interobserver reproducibility of Gleason grading of prostatic carcinoma in Japan and the United States. *Arch Pathol Lab Med* 2005;129(8):1004-10.
25. Novis DA, Zarbo RJ, Valenstein PA. Diagnostic uncertainty expressed in prostate needle biopsies. A College of American Pathologists Q-probes Study of 15,753 prostate needle biopsies in 332 institutions. *Arch Pathol Lab Med* 1999;123(8):687-92.
26. Van der Kwast TH, Lopes C, Martikainen PM, Pihl CG, Santonja C, Neetens I, et al. Report of the Pathology Committee: false-positive and false-negative diagnoses of prostate cancer. *BJU Int* 2003;92 Suppl 2:62-5.
27. Epstein JI, Allsbrook WC, Jr., Amin MB, Egevad LL. The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2005;29(9):1228-42.
28. Amin MBB, DG; Epstein, JI; Grignon, DJ; Humphrey, P; Ro, JY;. Interobserver Reproducibility in The Diagnosis of Small Foci of Prostatic Adenocarcinoma in Needle Biopsies. *Laboratory Investigation* 1998;78(1):76.
29. Renshaw AA, Schultz D, Cote K, Loffredo M, Ziembra DE, D'Amico AV. Accurate Gleason grading of prostatic adenocarcinoma in prostate needle biopsies by general pathologists. *Arch Pathol Lab Med* 2003;127(8):1007-8.
30. Coogan CL, Latchamsetty KC, Greenfield J, Corman JM, Lynch B, Porter CR. Increasing the number of biopsy cores improves the concordance of biopsy Gleason score to prostatectomy Gleason score. *BJU Int* 2005;96(3):324-7.
31. Nguyen PL, Schultz D, Renshaw AA, Vollmer RT, Welch WR, Cote K, et al. The impact of pathology review on treatment recommendations for patients with adenocarcinoma of the prostate. *Urol Oncol* 2004;22(4):295-9.
32. Kronz JD, Milord R, Wilentz R, Weir EG, Schreiner SR, Epstein JI. Lesions missed on prostate biopsies in cases sent in for consultation. *Prostate* 2003;54(4):310-4.

Tabela 1 - Variabilidade interobservador geral no diagnóstico histopatológico em biópsias de próstata, entre o diagnóstico original e o final estimada pelo índice kappa (n= 482)

| Diagnóstico | Diagnóstico original (%) | Diagnóstico Final (%) | Concordância (%) | Índice kappa (IC)* |
|----------------|--------------------------|-----------------------|------------------|---------------------|
| Benigno | 77,2 (n=372) | 74,5 (n=359) | 94,6 | 0,85 (0,79-0,90) |
| Adenocarcinoma | 18,0 (n=87) | 18,5 (n=89) | 100 | 0,99 (0,97-1,0) |
| ASAP | 3,5 (n=17) | 4,4 (n=21) | 76,5 | 0,67 (0,5-0,85) |
| NIP | 1,2 (n=6) | 2,7 (n=13) | 50,0 | 0,3 (0,03-0,58) |

* IC= intervalo de confiança

Tabela 2 - Variabilidade interobservador no diagnóstico histopatológico em biópsias de próstata, estimada pelo índice kappa

| | geral | adenocarcinoma | NIP | ASAP | benigno |
|------------------------------|-------|----------------|------|------|---------|
| R1 x original | 0,79 | 0,93 | 0,2 | 0,48 | 0,81 |
| R2 x original | 0,88 | 0,97 | 0,32 | 0,75 | 0,89 |
| R2 x R2 (intraobservador) | 0,94 | 1,0 | 0,66 | 0,85 | 0,94 |
| R1 x R2 | 0,83 | 0,92 | 0,47 | 0,59 | 0,87 |
| Original x final | 0,86 | 0,99 | 0,3 | 0,67 | 0,85 |

R1 = revisor 1; R2 = revisor 2; original = diagnóstico original;
final = diagnóstico final (pós-revisão)

Tabela 3 - Variabilidade interobservador no Escore de Gleason (EG) em biópsias de próstata com adenocarcinoma, estimada pelo índice de kappa (n= 84)

| | Kappa geral ponderado | EG ≤ 6 Kappa (IC)* | EG 7 | EG > 7 |
|---------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|
| R1 x original | 0,77 (0,67 – 0,88) | 0,81 (0,68 – 0,93) | 0,59 (0,4 – 0,79) | 0,73 (0,57- 0,89) |
| R2 x original | 0,83 (0,73- 0,92) | 0,86 (0,75-0,97) | 0,66 (0,47-0,84) | 0,79 (0,64-0,98) |
| R1 x R2 | 0,72 (0,59-0,85) | 0,76 (0,62-0,9) | 0,64 (0,46-0,83) | 0,66 (0,47-0,85) |

* IC= intervalo de confiança. R1 = revisor 1; R2 = revisor 2; original = diagnóstico original.

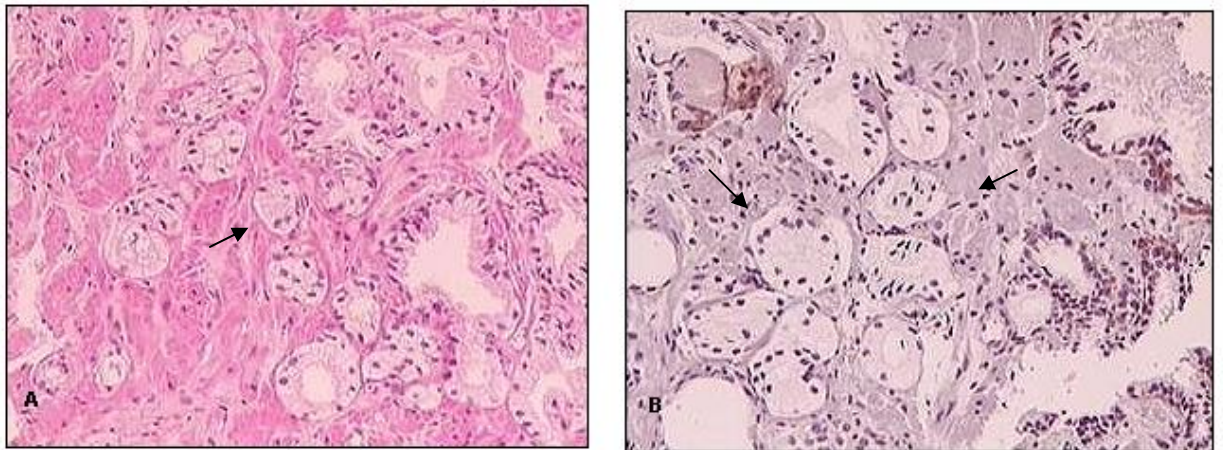


Fig. 1 A: ASAP (seta) (HE, 100x); B: ASAP negativa para 34βE12 (setas) (imuno-histoquímica, 100 x).

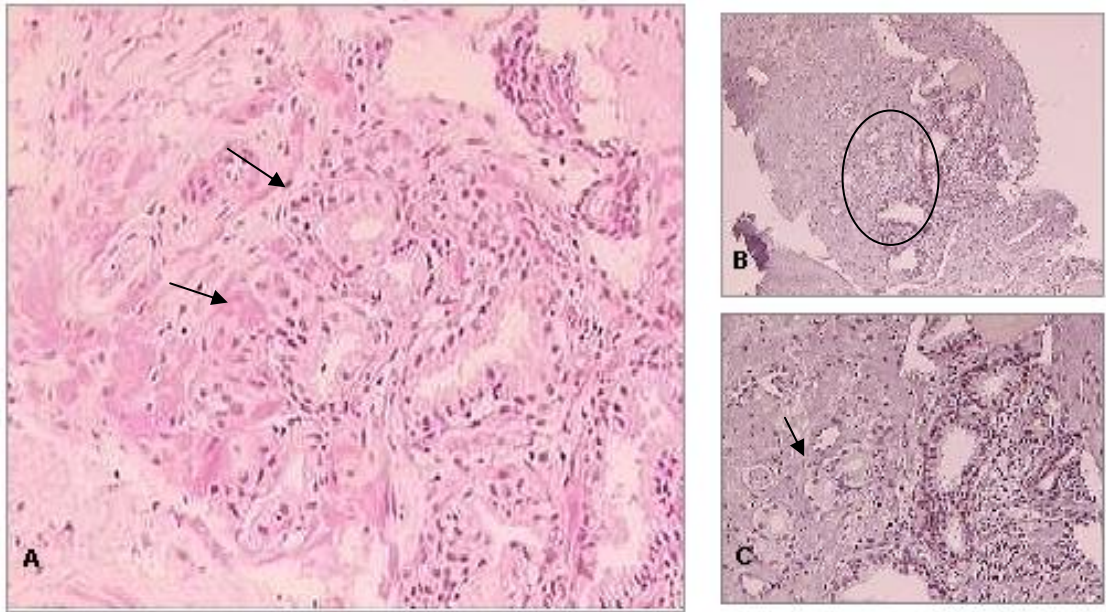


Fig. 2 A: ASAP (setas) (HE,100x); B e C: ASAP negativa para 34 β E12 (círculo e seta) (imuno-histoquímica, 50 e 100x)

**11 ARTIGO EM INGLÊS: INTEROBSERVER VARIABILITY IN
HISTOPATHOLOGICAL DIAGNOSIS IN
PROSTATE BIOPSIES**

**INTEROBSERVER VARIABILITY IN HISTOPATHOLOGICAL DIAGNOSIS IN
PROSTATE BIOPSIES**

Rita CA Schumacher*; Luíse Meurer[§]; Maria Isabel Edelweiss[£]

* Pathologist; master's student of the Graduate Program of Medicine: Surgery, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

[§] Substitute professor, Department of Pathology of the School of Medicine, UFRGS.

[£] Associate professor, Department of Pathology of the School of Medicine, UFRGS.

Division of Pathology of Hospital de Clínicas de Porto Alegre and Graduate Program of Medicine: Surgery, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.

Correspondence to: Rita de Cássia A. Schumacher
Rua Mata Bacelar, 240/304
90540.15 – Porto Alegre, RS – Brasil
rschuma@terra.com.br
phone/fax: 55-51-32317457

ABSTRACT

Introduction: prostate needle biopsy is the standard procedure for the diagnosis of prostate cancer. The introduction of PSA screening and other screening methods has allowed for the detection of subclinical and minimal carcinomas of the prostate. The blind review of slides for the quality control of exams permits reassessment, provides interobserver variability and allows the detection of discrepant exam results, false negatives and false positives. This practice is justified in case of the prostate, due to the frequently uncertain diagnoses and due to the presence of focal carcinoma, which render the interpretation of exam results more difficult and less objective. The aim of this study is to assess the interobserver variability in prostate biopsies carried out at a teaching hospital.

Materials and Methods: two pathologists individually reviewed 489 prostate biopsies. Both pathologists were blinded to the original diagnosis and to clinical data such as PSA levels, age, and digital rectal examination status. Interobserver variability was measured using the kappa coefficient.

Results: a total of 489 biopsies of 191 patients were reviewed. Mean patient age was 65.5 years, and PSA levels averaged 14.26 ng/ml (median:8,4ng/ml). Overall agreement between the original and final diagnoses was 94.3% with a kappa of 0.86 (95%CI between 0.8 and 0.91). The interobserver kappa value was 0.83. Agreement among diagnostic groups was 94.6% (kappa = 0.85) for benign exams; 100% (kappa = 0.99) for adenocarcinomas; 76.5% (kappa = 0.67) for atypical small acinar proliferations (ASAP) and 50% (kappa = 0.3) for high-grade prostatic intraepithelial neoplasias (HGPIN).

Conclusions: The blind review of prostate biopsies can be useful and is recommended in uncertain cases highly suspicious of malignancy, since the diagnosis of minimal carcinoma and preneoplastic lesions is difficult and is related to a larger interobserver variability.

Key words: prostate cancer, needle biopsy, quality control.

INTRODUCTION

Transrectal ultrasound-guided prostate needle biopsy is the standard method for the diagnosis of prostate cancer. After the introduction of PSA screening and the possibility to screen cancer in the general population, there was some improvement in the early diagnosis of prostate carcinoma, with detection of the disease at early and subclinical stages. However, from the pathologist point of view, this translated into improved diagnosis of benign prostate tumors, minimal carcinoma, preneoplastic lesions and other conditions that may mimic adenocarcinoma and hinder the interpretation of biopsy results.

The large number of suspected cases and of focal adenocarcinomas has led to the coinage of terms such as ASAP (Atypical Small Acinar Proliferation) and HGPIN (High Grade Prostatic Intraepithelial Neoplasia). In the last few years, the debate over their meanings in biopsies has shown how important these diagnoses are to the follow-up of patients. Several studies have found a predictive value for adenocarcinoma in repeat biopsies of patients with previous diagnosis of ASAP and HGPIN (1-7). The introduction of protocols for extended biopsies corroborates the importance and predictive value of the diagnosis of uncertain cases (8).

On the other hand, an attempt has been made to better classify these lesions by using immunohistochemistry, initially with cytokeratin 34 β E12 and p63, and later, with alpha methylacyl-CoA racemase (AMACR). Several studies have shown the sensitivity and specificity of these markers either in isolation or in cocktails, indicating

the need to combine morphological criteria and clinical aspects in a diagnostic decision (9-13).

Other studies have pointed out diagnostic difficulties and interobserver variability in the histopathological diagnoses of prostate biopsies and in the Gleason grading system. Most studies focus on the variability of Gleason scores in biopsies and in prostatectomy specimens (14-24). Nevertheless, there is a paucity of studies on the general variability of the histopathological diagnosis in biopsies (17).

Other studies have stressed the role of a “second opinion” in the clarification of uncertain cases and its economic and prognostic impact (25,26). The blind review of prostate biopsies can show where the major discrepancies and failures regarding the diagnosis of prostatic adenocarcinoma lie, in addition to providing standardized exams and safer diagnosis of uncertain cases.

MATERIALS AND METHODS

This is a contemporaneous cross-sectional study that reviewed a random sample of prostate biopsies carried out at the Division of Pathology of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) from June 1st to December 23rd 2004. A total of 489 biopsies of 191 patients were reviewed.

The kappa coefficient was used to determine interobserver agreement. According to this coefficient, values between 0.81 and 1.0 correspond to very good

agreement; values ranging from 0.61 to 0.81 stand for good agreement; values between 0.41 and 0.60 mean moderate agreement; values between 0,2 and 0,4 mean poor and values below 0.2 represent very poor agreement. The weighted kappa coefficient was used to estimate the agreement between Gleason grades of adenocarcinomas. For the sake of comparison, Gleason grades were categorized into three groups: less than or equal to 6, equal to 7 and greater than 7. Variations greater than one grade were regarded as severe in the weighting scale. The differences in PSA levels and age in the different groups were assessed using the one-way ANOVA, with Kruskal Wallis test. The SPSS (Statistical Package for Social Science, version 11.0 – Chicago, IL), Pepe (version 3.0) and Stata (version 7.0) were used for the statistical analysis.

The exams were reviewed by two pathologists from the Division of Pathology (intradepartmental review). The biopsies were analyzed in an independent and blinded fashion, i.e., the pathologists did not have access to the original diagnosis and to clinical data such as age, PSA levels and digital rectal examination status. The clinical data and original diagnosis were later appended for comparison. The results of subsequent biopsies in cases of ASAP and HGPIN were also analyzed. Exams with different results between observers and the original diagnosis, and between the original and final diagnoses, were revised by a third pathologist, so that a consensus could be reached.

H&E slides were obtained from the files of the Division of Pathology of HCPA; thus, all observers worked under the same technical conditions. In the cases of ASAP diagnosis, an immunohistochemical analysis was conducted using monoclonal

antibody to high molecular weight cytokeratin, clone 34 β E12 (DAKO®-code MO630), mouse anti-human, dilution 1/20 (1 microliter of antibody/20 microliters of buffer). Clearly benign glands around the suspected acini were used as internal control. The immunohistochemical profile was classified as positive (continuous or discontinuous positivity of basal cells) and negative (no marker expression).

The pathologists had the following diagnostic options: negative (including prostatitis and other benign conditions), adenocarcinoma (plus- Gleason Score), ASAP, HGPIN, ASAP + HGPIN and inappropriate.

The diagnoses based on the reviews were classified as: correct - the diagnosis matched the original one and that made by the observers; false negative - ASAP, HGPIN and adenocarcinoma not diagnosed on the original exam; false positive- ASAP, HGPIN and adenocarcinomas not confirmed by the observers; discrepant diagnosis – differences in Gleason score and disagreement between observers that did not lead to a change in diagnosis, and inconclusive – inadequate material for interpretation (absence or shortage of prostate glands).

RESULTS

A total of 489 prostate biopsies of 191 patients were reviewed. Mean patient age was 65.55 years. PSA levels were known in 151 patients, with a mean value of 14.26 ng/ml (median=8,4 ng/ml). Exams with unsatisfactory results, due to inappropriate sampling, were excluded from the analysis (7 cases, 1.4%). A total of 482 cases were included in the analysis of interobserver variability. Agreement

between the original and final diagnoses was 94.3% and the kappa coefficient was 0.86 (with a 95%CI between 0.8 and 0.91). Table 1 shows the frequency of diagnoses and the interobserver variability between the original and final diagnoses.

There was a very good overall interobserver agreement. By assessing the diagnoses separately, we obtained a kappa of 0.85 for benign exams, 0.99 for adenocarcinomas, 0.67 for ASAP and 0.3 for HGPIN. Agreement was very good for benign exams and adenocarcinomas, good for ASAP and poor for HGPIN, according to the interpretation of the kappa coefficient.

The interobserver variability with paired measurements is shown in Table 2. Among all observers, overall variability was good to very good. In the diagnostic groups, the largest variations were those observed in HGPIN and ASAP. In HGPIN, there was weak to moderate agreement. R1 and R2 showed moderate agreement in the case of HGPIN. In the case of ASAP, there was moderate to good agreement.

One of the reviewers (R2) was also the original pathologist in several exams, and therefore it was possible for this reviewer to determine the intraobserver variability, which was very good in benign exams, adenocarcinomas and ASAP. In the case of HGPIN, there was a moderate intraobserver variability.

No significant difference was observed in patient age in the analysis of variance of different diagnostic groups ($p = 0.408$). The PSA screening revealed some difference between groups ($p = 0.001$). There was a significant difference between the group of patients with adenocarcinoma and the group of patients with a

benign diagnosis ($p=0.06$). Significant difference was also found between the ASAP and adenocarcinoma groups ($p=0.04$), but the number of patients is quite small in ASAP group.

Adenocarcinomas

There were 87 exams whose results indicated adenocarcinoma. Gleason scores showed discrepancy in 29 out of 84 exams in which comparisons were possible. Most variations occurred in grade 4.

Agreement regarding Gleason score was calculated using the weighted kappa coefficient. This analysis was possible in 84 of 87 cases of adenocarcinoma. In three exams, at least one observer did not agree with the diagnosis of adenocarcinoma, and in this case, the agreement of Gleason scores could not be evaluated. There was a good overall agreement regarding Gleason scores between observers. Table 3 shows the overall kappa coefficient for each observer and the weighted kappa coefficient for each category in Gleason score.

In eight cases in which the initial diagnosis was negative, the immunohistochemical analysis revealed a focus of negative ASAP (Figures 1 and 2). The immunohistochemical analysis was performed in 27 foci of suspected lesions. This analysis was carried out in one case of carcinoma in order to confirm the diagnosis, and in another case, in which ASAP and carcinoma were concomitantly found on the same slide, a reaction was carried out to determine the immunohistochemical pattern of the focus of ASAP.

There was overall agreement between the original and final diagnoses (n=429) in 87.7% of the exams. These exams included 352 benign biopsies, 59 with adenocarcinoma, where there was also overall agreement regarding Gleason score, 11 cases of ASAP, 2 cases of HGPIN and five unsatisfactory cases. The false negative exams revealed 8 cases of ASAP, 1 positive exam and 10 cases of HGPIN. The only undiagnosed positive case was that of a patient diagnosed with carcinoma at the biopsy of the contralateral side, which did not interfere with the patient's final diagnosis. The other case found was diagnosed ASAP originally. The false positive exams showed three foci of ASAP which were not confirmed by histology and by immunohistochemistry. All of these suspected foci had atrophic glands at other sites. The misdiagnosed cases of HGPIN corresponded to low-grade PIN and to the seminal vesicle region. Discrepant exam results constituted 7.2% of the sample and represent the cases in which at least one of the observers did not agree with the final diagnosis, or did not agree with the Gleason score.

DISCUSSION

Interobserver variability is widely studied in pathological anatomy, where diagnostic criteria often are not clearly defined or depend on the pathologist's subjective assessment. With regard to the prostate, several studies deal with interobserver variability in the Gleason score and few approach this topic by focusing on biopsy-based diagnosis. Recently, the Gleason grading system was adapted in order to standardize its use and reduce variations in its use (ISUP 2005) (27).

Lessels et al. demonstrated interobserver variability in a sample of 100 slides

reviewed by 12 pathologists, of which 53 were negative, 46 were malignant and one corresponded to a suspected case. In the study by Lessels, the kappa coefficient was 0.86 in negative exams and 0.91 in the positive ones. In that study, there was a very good interobserver agreement regarding benign and malignant diagnoses based on prostate biopsies (17).

In our study, the kappa coefficient for negative exams was 0.85 (n=372) and 0.99 (n=87) for the positive ones. Our results are similar to those obtained in the previous study, confirming the very good agreement regarding the assessment of these diagnoses.

In the case of HGPIN, interobserver agreement has been seldom described. Epstein et al. determined the variability in the diagnosis of low-grade and high-grade PIN in a study carried out at a time in which PIN was categorized into levels 1, 2, and 3, showing poor agreement between observers with a kappa of 0.33 (n=25). In our study, we obtained a kappa of 0.3 for HGPIN, where all cases concerned high-grade PIN, and even so, there was poor agreement between observers.

In our study, there was a weaker agreement between observers regarding HGPIN and ASAP, which confirms the more subjective nature and possible discrepancy between the diagnoses. However, the small number of cases and the wide confidence interval of the kappa coefficient indicate the poor power of results in these two situations. In most of the studies that used the kappa coefficient as a measure of variability, the confidence interval is not clear, and in some cases, the number of exams compared is also small, not allowing for a more accurate

assessment of the variability of HGPIN and ASAP in the biopsies (14,17, 28).

Chan et al. also determined the level of agreement in prostate biopsies sent in to a urologic pathologist for a second opinion. In that study, the agreement regarding HGPIN amounted to 75%, whereas it was 36.8% (11) for the suspected cases (ASAP).

In our study, interobserver agreement was 76.5% for ASAP (kappa of 0.67). This difference between literature data and our data can be explained by the type and size of our sample. All of our cases were from the same service, unlike the study by Chan, in which exams were obtained from different places, with possibly larger variations regarding the report of suspected diagnoses, also including a larger number of suspected cases. Based on the cases analyzed in our study, it is not possible to affirm that variability may not be larger in this diagnosis, as can be observed through the confidence interval of the kappa coefficient (0.5-0.86).

Another important aspect in our study is concerned with the type of review and sampling. All cases were assessed in a blinded fashion, including the benign cases, adenocarcinomas and uncertain cases, randomly, allowing the reviewer to conduct an impartial assessment. In many studies, pathologists knew the type of sample they were dealing with. On top of that, the pathologist had all the slides belonging to the same case and he/she made the diagnosis based on them, unlike other studies in which the zones to be assessed by observers were marked off or selected previously. Our method of analysis is closer to a real slide review situation.

Discrepancies in diagnosis regarding Gleason scores have been more widely studied. This occurs due to prognostic implications. The Gleason score is the most important prognostic factor for prostate cancer and is correlated with several variables such as tumor volume, resection margin status in prostatectomies, recurrence, PSA levels, and molecular markers. Several studies assess the differences in Gleason grading of prostatic carcinoma, either using prostatectomy specimens or comparisons between the level of biopsy and the radical prostatectomy specimen, indicating lack of interobserver reproducibility. Such studies focus on the difficulties in establishing a diagnosis based on biopsies, mainly on account of representativeness of the carcinoma and the subjective nature of the classification of threshold patterns, sometimes with overlapping of patterns (10,16,18).

Several studies have demonstrated interobserver variability in Gleason scores in biopsies, with a kappa ranging from 0.47 to 0.68 in different diagnostic groups. In biopsies, there is a tendency to undergrade carcinoma, especially from grade 7 to grade 6, where the zone with a pattern 4 tumor is small and uncertain (9,12,13,15,19,29). Other studies comparing sextant and extended biopsies have shown a higher accuracy in Gleason grading system in the case of more extensive biopsies (30).

Alsbrook et al. determined the kappa coefficient in prostate biopsies in a sample of 46 cases, which were reviewed by ten pathologists. The kappa coefficient in that study ranged from 0.56 to 0.7, which represents a good level of agreement. The largest variations occurred between patterns 4 and 5 and in well-differentiated carcinomas with patterns 1 and 2, which show how difficult it is to establish the

diagnosis of these carcinomas, especially regarding the foci of small tumor (9).

The study by Glaessgen et al. also shows a greater variability in the classification of higher patterns, correlating the discrepancies with the number of fragments involved. It specifically demonstrates the variability of pattern 4 when a cribriform or fusion arrangement is present (15).

Nguyen et al. studied the impact of the review of prostate biopsies indicating adenocarcinoma. In their study, Gleason grade changed by one level in 44% of the cases and the increase in Gleason grade was more common in the review (81% of the cases), determining an increase from the intermediate risk category to a high-risk category in 8.2 % of patients (31).

In our study, the overall kappa coefficient for Gleason grade ranged from 0.72 to 0.83 between observers, which is considered good to very good. The lowest scores were observed in grade 7 (kappa 0.59 to 0.66) and greater than 7 (kappa 0.66 to 0.79) with moderate to good agreement. In our study, we did not have any case with Gleason 4 or less than 4. This owes especially to the rare nature of this diagnosis in biopsies and to the recommendations to avoid the diagnosis of these carcinomas in biopsies.

Immunohistochemistry for the diagnosis of suspected foci has shown low sensitivity in the differentiation of adenocarcinoma and benign processes, as demonstrated in several studies in which basal cell markers and other types of tumor markers (e.g.: AMACR) are used. The major difficulties regarding the

immunohistochemical diagnosis concern the irregular staining of normal cells and of other non-neoplastic processes by basal cell markers (10-13).

In our study, we found some difficulties in this regard. Inconclusive immunohistochemical analyses represented negative suspected foci for 34 β E12 that had adjacent benign glands that were also negative (negative internal control). This type of immunohistochemical pattern has been reported by other authors and hinders the interpretation of results (13). Another problem with immunohistochemistry is the representation of the suspected focus on the immunohistochemical slide. In some exams, the paraffin block became damaged, preventing the visualization of the suspected focus on the slide, and in other exams, the suspected site was quite different from the original focus. These situations highlight the necessity to use morphological criteria in the interpretation of immunohistochemical findings.

Some studies show the existence of false positives and false negatives in prostate biopsies. Van der Kwast et al., in a collaborative European study, show a 4% frequency of false negatives in prostate biopsies previously diagnosed as benign and a 0.36% frequency of false positives. The results of their study were mainly ascribed to small tumor foci that had not been detected by the pathologist or which had been overestimated in false positives. The study by Kronz et al. reveals a 2.7% frequency of false negatives (26,32).

Interobserver variability in histopathological diagnoses using prostate biopsies was very good for benign diagnoses and adenocarcinomas. In the diagnostic assessment of suspected cases (ASAP) and of HGPIN, interobserver variability was

greater, regarded as moderate in ASAP and poor in HGPIN, indicating major difficulty in diagnosing these cases. In the diagnostic assessment, false negatives and false positives represented the cases with greater variability, ASAP and HGPIN. The largest discrepancies were concerned with Gleason grading system. Such results show the importance of the blind review to the detection of small lesions in controversial diagnoses and in the grading of carcinomas at a threshold level. Also, in benign exams in which neoplasia is highly suspected, the blind review can be useful, since the diagnosis of minimal carcinoma and preneoplastic lesions is not easily established and is related to a greater interobserver variability and to a higher frequency of false negatives.

REFERENCES

1. Billis A: Follow up of high grade prostatic intraepithelial neoplasia and atypical small acinar proliferation in a highly screened patient population. *Int Braz J Urol.* 2003;29(2):172-3.
2. Herawi M, Parwani AV, Irie J, Epstein JI: Small glandular proliferations on needle biopsies: most common benign mimickers of prostatic adenocarcinoma sent in for expert second opinion. *Am. J Surg. Pathol.* 2005;29(7):874-80.
3. Hoedemaeker RF, Van der Kwast TH, Schroder FH: The clinical significance of a small focus of well-differentiated carcinoma at prostate biopsy. *BJU Int.* 2003;92 Suppl 2:92-6.
4. Iczkowski KA, Chen HM, Yang XJ, Beach RA: Prostate cancer diagnosed after initial biopsy with atypical small acinar proliferation suspicious for malignancy is similar to cancer found on initial biopsy. *Urology* 2002;60(5):851-4.
5. Leite KR, Mitteldorf CA, Camara-Lopes LH: Repeat prostate biopsies following diagnoses of prostate intraepithelial neoplasia and atypical small gland proliferation. *Int. Braz. J Urol.* 2005;31(2):131-6.
6. Moore CK, Karikehalli S, Nazeer T, Fisher HA, Kaufman RP, Jr., Mian BM: Prognostic significance of high grade prostatic intraepithelial neoplasia and atypical small acinar proliferation in the contemporary era. *J Urol.* 2005;173(1):70-2.
7. Srigley JR, Amin M, Boccon-Gibod L, Egevad L, Epstein JI, Humphrey PA, et al: Prognostic and predictive factors in prostate cancer: historical perspectives and recent international consensus initiatives. *Scand. J Urol. Nephrol. Suppl.* 2005;(216):8-19.
8. Scattoni V, Roscigno M, Freschi M, Deho F, Raber M, Briganti A, et al: Atypical small acinar proliferation (ASAP) on extended prostatic biopsies: predictive factors of cancer detection on repeat biopsies. *Arch. Ital. Urol. Androl.* 2005;77(1):31-6.
9. Fleshman RL, MacLennan GT: Immunohistochemical markers in the diagnosis of prostate cancer. *J Urol.* 2005;173(5):1759.
10. Halushka MK, Kahane H, Epstein JI: Negative 34betaE12 staining in a small focus of atypical glands on prostate needle biopsy: a follow-up study of 332 cases. *Hum. Pathol.* 2004;35(1):43-6.
11. Hameed O, Sublett J, Humphrey PA: Immunohistochemical stains for p63 and alpha-methylacyl-CoA racemase, versus a cocktail comprising both, in the diagnosis of prostatic carcinoma: a comparison of the immunohistochemical

- staining of 430 foci in radical prostatectomy and needle biopsy tissues. *Am. J Surg. Pathol.* 2005;29(5):579-87.
12. Jiang Z, Li C, Fischer A, Dresser K, Woda BA: Using an AMACR (P504S)/34betaE12/p63 cocktail for the detection of small focal prostate carcinoma in needle biopsy specimens. *Am. J Clin. Pathol.* 2005;123(2):231-6.
 13. Varma M, Jasani B: Diagnostic utility of immunohistochemistry in morphologically difficult prostate cancer: review of current literature. *Histopathology* 2005;47(1):1-16.
 14. Allsbrook WC, Jr., Mangold KA, Johnson MH, Lane RB, Lane CG, Amin MB, et al: Interobserver reproducibility of Gleason grading of prostatic carcinoma: urologic pathologists. *Hum. Pathol.* 2001;32(1):74-80.
 15. Carlson GD, Calvanese CB, Kahane H, Epstein JI: Accuracy of biopsy Gleason scores from a large uropathology laboratory: use of a diagnostic protocol to minimize observer variability. *Urology* 1998;51(4):525-9.
 16. Chan TY, Epstein JI: Patient and urologist driven second opinion of prostate needle biopsies. *J Urol.* 2005;174(4 Pt 1):1390-4; discussion 1394; author reply 1394.
 17. Coard KC, Freeman VL: Gleason grading of prostate cancer: level of concordance between pathologists at the University Hospital of the West Indies. *Am. J Clin. Pathol.* 2004;122(3):373-6.
 18. De la Taille A, Viellefond A, Berger N, Boucher E, De Fromont M, Fondimare A, et al: Evaluation of the interobserver reproducibility of Gleason grading of prostatic adenocarcinoma using tissue microarrays. *Hum. Pathol.* 2003;34(5):444-9.
 19. Epstein JI, Grignon DJ, Humphrey PA, McNeal JE, Sesterhenn IA, Troncoso P, et al: Interobserver reproducibility in the diagnosis of prostatic intraepithelial neoplasia. *Am. J Surg. Pathol.* 1995;19(8):873-86.
 20. Glaessgen A, Hamberg H, Pihl CG, Sundelin B, Nilsson B, Egevad L: Interobserver reproducibility of percent Gleason grade 4/5 in prostate biopsies. *J Urol.* 2004;171(2 Pt 1):664-7.
 21. Glaessgen A, Hamberg H, Pihl CG, Sundelin B, Nilsson B, Egevad L: Interobserver reproducibility of modified Gleason score in radical prostatectomy specimens. *Virchows Arch.* 2004;445(1):17-21.
 22. Lessells AM, Burnett RA, Howatson SR, Lang S, Lee FD, McLaren KM, et al: Observer variability in the histopathological reporting of needle biopsy specimens of the prostate. *Hum. Pathol.* 1997;28(6):646-9.
 23. Montironi R, Mazzuccheli R, Scarpelli M, Lopez-Beltran A, Fellegara G, Algaba F: Gleason grading of prostate cancer in needle biopsies or radical prostatectomy specimens: contemporary approach, current clinical significance and sources of pathology discrepancies. *BJU Int.* 2005;95(8):1146-52.

24. Oyama T, Allsbrook WC, Jr., Kurokawa K, Matsuda H, Segawa A, Sano T, et al: A comparison of interobserver reproducibility of Gleason grading of prostatic carcinoma in Japan and the United States. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2005;129(8):1004-10.
25. Novis DA, Zarbo RJ, Valenstein PA: Diagnostic uncertainty expressed in prostate needle biopsies. A College of American Pathologists Q-probes Study of 15,753 prostate needle biopsies in 332 institutions. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 1999;123(8):687-92.
26. Van der Kwast TH, Lopes C, Martikainen PM, Pihl CG, Santonja C, Neetens I, et al: Report of the Pathology Committee: false-positive and false-negative diagnoses of prostate cancer. *BJU Int.* 2003;92 Suppl 2:62-5.
27. Epstein JI, Allsbrook WC, Jr., Amin MB, Egevad LL: The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *Am. J Surg. Pathol.* 2005;29(9):1228-42.
28. Amin MBB, Epstein JI, Grignon DJ, Humphrey P, Ro JY: Interobserver Reproducibility in The Diagnosis of Small Foci of Prostatic Adenocarcinoma in Needle Biopsies. *Laboratory Investigation* 1998;78(1):76.
29. Renshaw AA, Schultz D, Cote K, Loffredo M, Ziembra DE, D'Amico AV: Accurate Gleason grading of prostatic adenocarcinoma in prostate needle biopsies by general pathologists. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2003;127(8):1007-8.
30. Coogan CL, Latchamsetty KC, Greenfield J, Corman JM, Lynch B, Porter CR: Increasing the number of biopsy cores improves the concordance of biopsy Gleason score to prostatectomy Gleason score. *BJU Int.* 2005;96(3):324-7.
31. Nguyen PL, Schultz D, Renshaw AA, Vollmer RT, Welch WR, Cote K, et al: The impact of pathology review on treatment recommendations for patients with adenocarcinoma of the prostate. *Urol. Oncol.* 2004;22(4):295-9.
32. Kronz JD, Milord R, Wilentz R, Weir EG, Schreiner SR, Epstein JI: Lesions missed on prostate biopsies in cases sent in for consultation. *Prostate* 2003;54(4):310-4.

Table 1. Overall interobserver variability in the histopathological diagnosis in prostate biopsies, between the original and final diagnoses

| Diagnosis | Original diagnosis (%) | Final diagnosis (%) | Agreement (%) | Kappa coefficient (CI)* |
|----------------|------------------------|---------------------|---------------|-------------------------|
| Benign | 77.2 (n=372) | 74.5 (n=359) | 94.6 | 0.85 (0.79-0.90) |
| Adenocarcinoma | 18.0 (n=87) | 18.5 (n=89) | 100 | 0.99 (0.97-1.0) |
| ASAP | 3.5 (n=17) | 4.4 (n=21) | 76.5 | 0.67 (0.5-0.85) |
| HGPIN | 1.2 (n=6) | 2.7 (n=13) | 50.0 | 0.3 (0.03-0.58) |

* CI= confidence interval

Table 2. Interobserver variability in the histopathological diagnosis in prostate biopsies, estimated by the kappa coefficient

| | General | adenocarcinoma | HGPIN | ASAP | negative |
|----------------------------|---------|----------------|-------|------|----------|
| R1 x original | 0.79 | 0.93 | 0.2 | 0.48 | 0.81 |
| R2 x original | 0.88 | 0.97 | 0.32 | 0.75 | 0.89 |
| R2 x R2 (intraobserver) | 0.94 | 1.0 | 0.66 | 0.85 | 0.94 |
| R1 x R2 | 0.83 | 0.92 | 0.47 | 0.59 | 0.87 |
| Original x final | 0.86 | 0.99 | 0.3 | 0.67 | 0.85 |

R1 = reviewer 1; R2 = reviewer 2; original = original diagnosis; final = final diagnosis (after the review)

Table 3. Interobserver variability regarding Gleason grading for prostate biopsies with adenocarcinoma, estimated by the kappa coefficient (n= 84)

| | Weighted overall kappa coefficient | Gleason score ≤ 6 Kappa (CI)* | Gleason score 7 | Gleason score > 7 |
|---------------|------------------------------------|----------------------------------|---------------------|---------------------|
| R1 x original | 0.77 (0.67-0.88) | 0.81 (0.68-0.93) | 0.59 (0.4-0.79) | 0.73 (0.57-0.89) |
| R2 x original | 0.83 (0.73- 0.92) | 0.86 (0.75-0.97) | 0.66 (0.47-0.84) | 0.79 (0.64-0.98) |
| R1 x R2 | 0.72 (0.59-0.85) | 0.76 (0.62-0.9) | 0.64 (0.46-0.83) | 0.66 (0.47-0.85) |

* CI= confidence interval. R1 = reviewer 1; R2 = reviewer 2; original = original diagnosis.

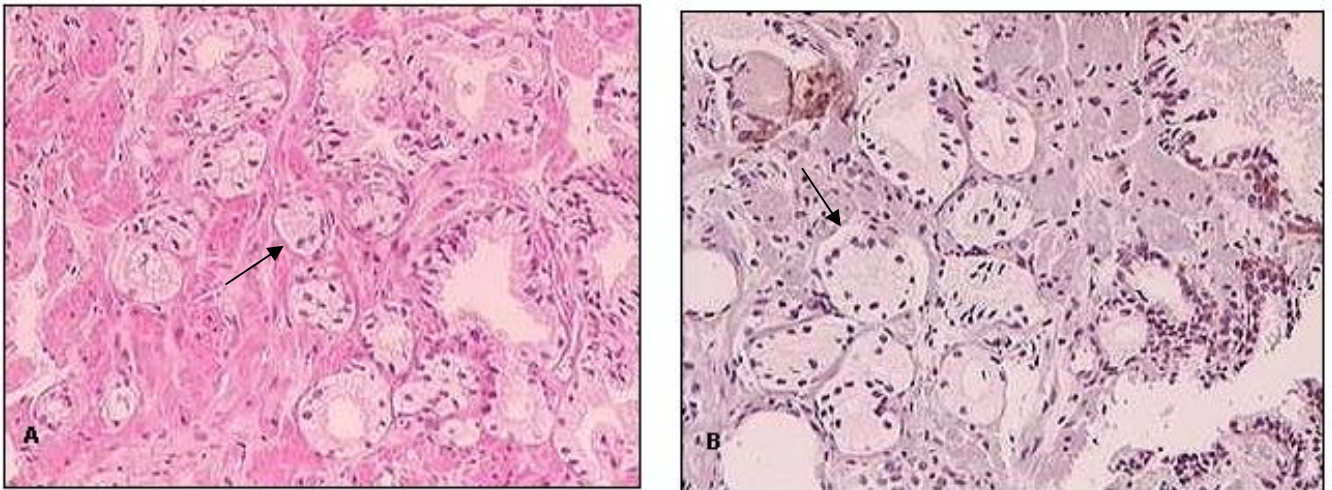


Fig.1 A: ASAP (arrow) (H&E 100x); B: ASAP negative for 34βE12 (arrow) (immunohistochemistry, 100 x).

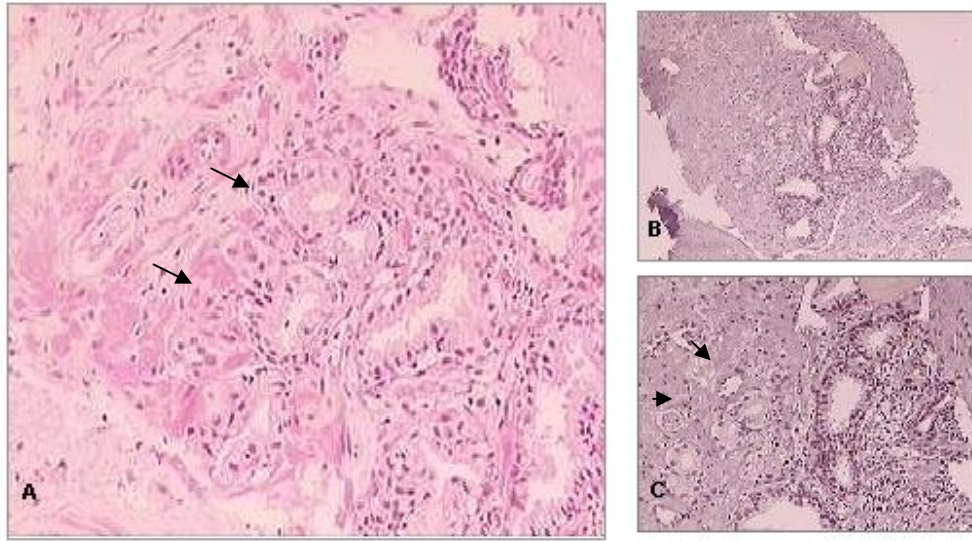


Fig.2 A: ASAP (arrows) (H&E 100x); B and C: ASAP negative for 34βE12 (arrows) (immunohistochemistry, 50 and 100x).

ANEXOS

ANEXO 1: Ficha de revisão de lâminas de biópsias de próstata**PROTOCOLO CONTROLE DE QUALIDADE EM BIÓPSIAS PROSTÁTICAS
SERVIÇO DE PATOLOGIA DO HCPA****FICHA DE REVISÃO**

EXAME:

DESIGNAÇÃO DAS FRAÇÕES:

1 – REVISOR: () I () II () III

2 – AMOSTRA: () ADEQUADA () INADEQUADA

OBS: _____

_____3 – DIAGNÓSTICO DE REVISÃO:

4 – IMUNO – HISTOQUÍMICA:

() SIM- DIAGNÓSTICO: _____

() NÃO

ANEXO 2: Ficha de avaliação diagnóstica pós-revisão de biópsias de próstata

SERVIÇO DE PATOLOGIA DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
PROTOCOLO – CONTROLE DE QUALIDADE EM BIÓPSIAS PROSTÁTICAS

| |
|--|
| Nº exame _____ |
| Número de materiais _____ |
| Prontuário _____ |
| Data ___ / ___ / _____ |
| Observador _____ |
| Idade _____ |
| História (0) Ausente → pule para diagnóstico (1) Presente |
| PSA _____ |
| Toque retal (0) Alterado (1) Normal |
| Eco (0) Alterado (1) Normal |
| Outros _____ |
| Diagnóstico: Mat1- _____ |
| Mat2- _____ |
| _____ |
| _____ |
| 1- Concordância entre os revisores: (0) Não (1) Sim |
| 2- 3ª opinião: (0) Não (1) Sim |
| 3- Imuno: (0) Não (1) Sim |
| Se sim: (0) Negativo CK (1) Positivo CK |
| 4 – qualidade da amostra: (0) inadequada (1)adequada |
| 5 - Diagnóstico Final: |
| 6 - Diagnóstico Original: |
| (1) Correto |
| (2) Falso Negativo |
| (3) Falso Positivo |
| (4) Diagnóstico Discrepante |
| (5) Inadequado |

ANEXO 3 : Significado e interpretação do índice kappa

O índice kappa é uma medida de concordância entre duas variáveis ou categorias homólogas. Assim pode ser utilizado para medir a concordância entre dois observadores, comparando-se as proporções observadas e as esperadas.

$$\text{Kappa} = \frac{P_o - P_e}{1 - P_e}$$

O nível de concordância dado pelo valor de kappa tem a seguinte interpretação:

- Valores entre 0,81 e 1,0: muito boa concordância
- Valores entre 0,61 e 0,80: boa concordância
- Valores entre 0,41 e 0,60: moderada concordância
- Valores entre 0,21 e 0,40: fraca concordância
- Valores menores que 0,2: concordância muito fraca

O valor de kappa igual a 1 representa concordância absoluta.

Na avaliação do Kappa ponderado atribui-se uma escala de gravidade nas variações entre as categorias. Variações em uma categoria recebem peso 0,5, variações maiores que uma categoria recebem peso 1, podendo-se assim estabelecer um critério de gravidade nas variações, e comparar as proporções.

ANEXO 4: Técnica da imuno-histoquímica

(Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. J Histochem Cytochem 1981;29:577)

Método da Estreptavidina-biotina-peroxidase (Strept ABC), conforme Hsu et al., adaptado pelo laboratório de patologia do Centro de Pesquisas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

1) Preparo das lâminas:

- mergulhar as lâminas em solução de detergente neutro Extran (Merk 7553) a 0,5% em água por 30 minutos;
- lavar em água corrente por 120 minutos para remoção do detergente;
- lavar as lâminas em água quente;
- secar na estufa;
- guardar as lâminas limpas, em caixas, para evitar contaminação por poeira.

Nota: manipular as lâminas com luvas para evitar a contaminação das mesmas pela oleosidade da pele.

2) Sinalização das lâminas:

- imersão das lâminas em acetona por 2 minutos;
- imersão em 3-aminopropiltrióxilano (APTS) a 4% por 2 minutos;
- imersão em acetona por 4 vezes;
- secar em estufa, deixar esfriar e guardar em caixas fechadas.

3) Cortes histológicos:

- As fitas de parafina obtidas no processo de corte pela microtomia são cuidadosamente colocadas em banho-maria histológico e os cortes depositados em lâminas previamente tratadas com APTS. As lâminas com os cortes são levadas à estufa, a 60° C e lá deixadas por 24 horas, para melhorar a adesão do tecido.

4) Preparação do corte histológico:

- xilol 60 °C por 15 minutos;
- xilol à temperatura ambiente por 15 minutos;
- etanol a 100% (3x) por 30 segundos cada;
- etanol 95% por 30 segundos;
- etanol 80% por 30 segundos;
- etanol 70% por 30 segundos;
- lavar em água corrente e destilada.

5) Bloqueio da Peroxidase Endógena:

- três banhos de 10 minutos cada com peróxido de hidrogênio a 3% em metanol;
- lavar por três minutos em água corrente;
- deixar um minuto em água destilada.

6) Recuperação Antigênica:

- colocar as lâminas no forno de microondas, em potência máxima, por 9 minutos (2x), imerso em tampão citrato 10 mM pH 6,0 e tampão EDTA 1 mM pH 8,0;
- deixar esfriar por sessenta minutos;

- lavar em água corrente e água destilada.
- 7) Bloqueio da Avidina Endógena:
- colocar por quinze minutos, em solução com clara de ovo e água destilada (clara de um ovo para duzentos ml de água destilada);
 - lavar em água corrente e destilada.
- 8) Bloqueio das Reações Inespecíficas:
- colocar em solução de leite desnatado a 5% em tampão fosfato salino (PBS), durante 30 minutos;
 - lavar em água corrente por 4 minutos e água destilada por 1 minuto;
 - colocar no PBS por 5 minutos.
- 9) Incubação com Anticorpo Primário:
- secar cuidadosamente as lâminas;
 - colocá-las em uma câmara úmida sobre uma esponja umedecida;
 - pingar 70-100 microlitros do anticorpo primário na diluição 1/20, sobre os cortes;
 - deixar incubando dentro da geladeira a 4 °C, por 16 horas;
 - interromper a reação, lavando cada lâmina delicadamente com um jato de solução tampão;
 - transferir para um recipiente, contendo tampão PBS, dando 3 banhos, de 5 minutos cada;
 - secar as lâminas.
- 10) Incubação com o Anticorpo Secundário:
- incubar com o anticorpo secundário, conjugado com a biotina (anti-Ig da espécie animal em que foi obtido o anticorpo específico), deixando 30 minutos, a 37 °C, na estufa e em câmara úmida;
 - interromper a reação, lavando cada lâmina delicadamente com um jato de solução tampão;
 - transferir as lâminas para um recipiente, contendo tampão PBS, dando três banhos de 5 minutos cada.
- 11)Complexo Avidina-Biotina-Peroxidase:
- pingar o complexo avidina-biotina-peroxidase, deixando na estufa a 37 °C, em câmara úmida, durante 30 minutos;
 - lavar cada lâmina delicadamente com um jato de solução tampão;
 - transferir as lâminas para um recipiente contendo tampão PBS, dando 3 banhos de 5 minutos cada.
- 12)Cromógeno:
- incubar as lâminas em solução substrato, o cromógeno (Diaminobenzidina-DAB- 60mg%) por 3 minutos a 37 °C no escuro;
 - lavar bem com água corrente e transferir para água destilada.
- 13)Contracorar:
- contracorar com hematoxilina de Harris por 2 minutos;
 - lavar em água corrente.
- 14)Montagem:
- desidratar as lâminas em etanol 50%, etanol 80%, etanol 95%, etanol 100% (3x) e xilol (3x);
 - colocar a lamínula sobre a Lâmina com Entellan (Merk 1.07961) para leitura em microscopia óptica e preservação da amostra.