

## Atipične žlezne celice, neopredeljene: rezultati revizije citoloških preparatov in tveganje CIN2+

Veronika Kloboves Prevodnik<sup>1</sup>, Simona Uhan Kastelic<sup>1</sup>, Živa Pohar Marinšek<sup>1</sup>, Tina Žagar<sup>2</sup>, Urška Ivanuš<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Oddelek za citopatologijo, Onkološki inštitut Ljubljana, Zaloška 2, Ljubljana

<sup>2</sup>Presejalni program in Register ZORA, Onkološki inštitut Ljubljana, Zaloška 2, Ljubljana

### Povzetek

#### Uvod

Morfološke značilnosti neneoplastičnih žlezni celic se lahko prekrivajo z značilnostmi neoplastično spremenjenih žlezni in ploščatih celic materničnega vratu. Zato na podlagi citopatološke ocene atipične žlezne celice, neopredeljene (AŽC-N) ne odkrijemo le predrakavih in/ali rakavih sprememb na žleznem epitelu materničnega vratu, ampak tudi spremembe na ploščatem epitelu. Ker velik delež presejalnih diagnoz AŽC-N predstavljajo neneoplastične spremembe smo želeli ugotoviti, kako sta se z leti spreminjala delež žensk s presejalno diagnozo AŽC-N in pozitivna napovedna vrednost za klinično pomembne lezije, CIN2+ in AIS+. Zanimalo nas je tudi, katere patološke spremembe smo v preteklosti napačno umeščali v kategorijo AŽC-N in koliko CIN2+ in AIS+ smo odkrili na podlagi teh ocen. S ponovnim pregledom BMV, smo zato želeli ugotoviti ali se je ocenjevanje patoloških sprememb na žlezni celicah izboljšalo.

#### Gradivo in metode

Iz Registra državnega programa ZORA smo dobili seznam preiskovank, pri katerih smo na Oddelku za citopatologijo OIL v pet-letnem obdobju od 2005 do 2009 ocenili, da so v BMV prisotne AŽC-N. Za vse BMV smo poiskali podatke o kontrolnih BMV, patohistoloških diagnozah in poteku bolezni, da smo postavili končne diagnoze, na podlagi katerih smo preverili pravilnost citopatoloških ocen. Vse BMV smo še enkrat pogledali in jih ocenili v skladu s klasifikacijo po Bethesda.

#### Rezultati

V obdobju 2005–2009 smo na OIL v primarnem presejanju 457 BMV ocenili kot AŽC-N, kar predstavlja 0,3 % vseh presejalnih diagnoz. Pogostnost AŽC-N se je v preiskovanem obdobju statistično značilno zmanjšala ( $p = 0,04$ ). 15,3 % žensk je imelo klinično pomembne lezije, 2,4 % žensk je imelo adenokarcinom in situ ali več (AIS+) in 12,9 % cervikalno intraepitelijsko neoplazijo 2 ali več (CIN2+). Pri ponovnem pregledu smo le 9,0 % BMV ponovno ocenili kot AŽC-N, med katerimi je bilo 12,1 % klinično pomembnih lezij (2,4 % AIS+ in 9,7 % CIN2+). Preostalih 91 % BMV s presejalno diagnozo AŽC-N smo ocenili kot patološke spremembe žlezni celic visoke stopnje (AŽC-VS; 5,0 %), patološke spremembe ploščatih celic nizke stopnje (PIL-NS; 2,2 %), patološke spremembe ploščatih celic visoke stopnje (PIL-VS; 10,5 %) in neneoplastične spremembe ali kot negativen BMV (73,3 %). Pravilnost ocen ponovnega pregleda je bila sledeča: AŽC-VS 15/23, PIL-NS 2/10, PIL-VS 39/48. Tako smo pri ponovnem pregledu pravilno prepoznali 87,1 % klinično pomembnih lezij. 12,9 % BMV pri ženskah s klinično pomembnimi lezijami smo ocenili kot negativne.

#### Zaključki

Citološka diagnostika žlezni sprememb materničnega vratu je težavna, kljub temu smo dosegli napredek s prehodom na klasifikacijo po Bethesda in z izboljšanjem citopatoloških ocen. Slednje smo dosegli z rednimi izobraževanji, jasnimi morfološkimi merili, standardiziranim ocenjevanjem in stalnim nadzorom kakovosti. Ženske s presejalno diagnozo AŽC-N so ogrožene s CIN2+ in AIS+, zato je smiselno pri njih opraviti kolposkopijo in abrazijo v skladu s sodobnimi ginekološkimi smernicami. Zaradi nizke PNV diagnoze AŽC-N bi bilo v prihodnosti smiselno proučiti varnost in učinkovitost triažiranja žensk z diagnozo AŽC-N s testom HPV ali z imunocitokemičnim barvanjem na p16/Ki-67 pred izvedbo invazivne diagnostike. V kolikor bi potrdili, da je tovrstna obravnava žensk v Sloveniji varna in učinkovita, bi bilo smiselno posodobiti smernice.

**Ključne besede:** bris materničnega vratu (BMV), atipične žlezne celice, neopredeljene (APC-N), klinično pomembne lezije, ponoven pregled brisov

## Uvod

Organizirano populacijsko presejanje z odvzemom in mikroskopskim pregledom brisa materničnega vratu (BMV, PAP-test) učinkovito zmanjšuje incidenco raka materničnega vratu (RMV) do 80 % (1). V Sloveniji se je incidenca RMV v prvih desetih letih po uvedbi državnega presejalnega programa ZORA zmanjšala za skoraj 50 % (2). PAP-test je učinkovit predvsem pri preprečevanju ploščatoceličnega RMV, žal pa je manj učinkovit pri preprečevanju invazivnega adenokarcinoma. V državah z dobro organiziranimi presejalnimi programi se praviloma večja delež adenokarcinomov med novoodkritimi RMV, predvsem na račun uspešnega odkrivanja in zdravljenja ploščatoceličnih sprememb visoke stopnje (CIN2+). Večanje incidence adenokarcinoma je opaziti predvsem pri mlajših ženskah (3,4). Občutljivost PAP-testa za odkrivanje žleznihih sprememb visoke stopnje (AIS+) je torej manjša od občutljivosti za odkrivanje ploščatoceličnih sprememb, vendar se rezultati študij zelo razlikujejo in kažejo, da je občutljivost med 29 % in 90 % (5). Poleg tega so številne študije pokazale, da se za citopatološko oceno atipične žlezne celice (AŽC) skrivajo spremembe na ploščatem epitelu in na veliko ogroženost žensk z diagnozo AŽC. Verjetnost, da imajo te ženske CIN 2+, je po podatkih tujih študij 13–80 % (6).

Na podlagi klasifikacije po Bethesda, ki jo uporabljamo tudi v Sloveniji, AŽC razdelimo na dve diagnostični kategoriji: atipične žlezne celice, neopredeljene (AŽC-N) in atipične žlezne celice, verjetno neoplastične (AŽC-VN) (7). AŽC so v presejalnem brisu le redko prisotne, po podatkih v tuji in slovenski literaturi ima tako presejalno diagnozo le okoli 0,05–2,5 % žensk (6). Pri ženskah pri katerih v presejalnem brisu najdemo AŽC, je citopatološka ocena AŽC-N pri 79–88 %, AŽC-VN pa pri 12–21%. (8,9). Čeprav je diagnoza AŽC-VN redkejša, pa so te ženske pomembno bolj ogrožene s CIN2+ in AIS+ kot ženske z AŽC-N in sicer ima po podatkih iz tuje literature ob presejalni diagnozi AŽC-VN CIN2+ in AIS+ okoli 67–74 % žensk v primerjavi s presejalno diagnozo AŽC-N, kjer ima CIN2+ in AIS+ okoli 20–33 % žensk (8-10).

Citopatološka ocena atipične AŽC-N je v klasifikaciji po Bethesda diagnostična entiteta, kamor uvrščamo tiste spremembe na žleznihih celicah, ki nimajo jasnih značilnosti neoplastičnih ali reaktivnih celic (7). Poleg tega se morfološke značilnosti celičnih skupin, ocenjenih kot AŽC-N lahko prekrivajo z atipijami ploščatih celic. Zato na podlagi citopatološke ocene AŽC-N odkrijemo kar nekaj predrakavih in/ali rakavih sprememb na žleznem in/ali ploščatem epitelu materničnega vratu (AIS+, CIN2+) (8-10). V svetu potekajo številne raziskave, ki skušajo v

skupini žensk s citopatološko oceno AŽC-N odkriti tiste, ki imajo ali bo pri njih nastal AIS+ ali CIN2+. Raziskave potekajo tako na področju izboljšanja citoloških diagnostičnih meril za opredelitev atipij žleznihih celic v BMV (11-13), kot tudi na področju iskanja bioloških označevalcev s katerimi bi v BMV poiskali celice s predrakavimi in rakavimi spremembami (14-15).

V Sloveniji je bilo do sedaj narejenih malo raziskav o diagnostičnem pomenu citopatološke ocene AŽC-N (16-18). Pred začetkom uporabe nove klasifikacije, ki je bila usklajena s klasifikacijo po Bethesda v letu 2006, smo v Sloveniji opažali velik delež citopatoloških ocen AŽC-N. Beležili so jo vsi laboratoriji, ki so bili vključeni v državni program zgodnjega odkrivanja predrakavih in rakavih sprememb na materničnem vratu (DP ZORA). V obdobju 2003–2012 se je delež citopatoloških ocen AŽC-N v Sloveniji zmanjšal z 1,3 % na 0,1 % (18) in je bil povsem primerljiv s podatki iz literature, kjer je bil ocenjen na 0,05–2,5 % (6). Zaradi težavnosti citopatološke diagnostike pri žleznihih celicah in velikih razlik med rezultati tujih raziskav smo se na Oddelku za citopatologijo Onkološkega inštituta Ljubljana (OIL) odločili, da analiziramo lastne rezultate.

Namen naše raziskave je bil ugotoviti, kako sta se z leti spreminjala delež žensk s presejalno diagnozo AŽC-N in pozitivna napovedna vrednost za klinično pomembne lezije, CIN2+ in AIS+. Zanimalo nas je tudi, katere patološke spremembe smo v preteklosti napačno umeščali v kategorijo AŽC-N in koliko CIN2+ in AIS+ smo odkrili na podlagi teh ocen. S ponovnim pregledom BMV smo zato želeli ugotoviti ali se je ocenjevanje patoloških sprememb na žleznihih celicah izboljšalo.

## Gradivo in metode

Iz centralnega presejalnega registra DP ZORA smo dobili seznam vseh presejalnih BMV, ki smo jih pregledali na Oddelku za citopatologijo OIL v 5-letnem obdobju od 2005 do 2009. Za vse preiskovanke, ki so imele presejalno diagnozo AŽC-N, smo pridobili tudi podatke o kontrolnih BMV, histoloških izvidih in o poteku bolezni iz različnih virov: Register ZORA, Oddelek za patomorfologijo Ginekološke klinike Univerzitetnega kliničnega centra v Ljubljani in računalniška podatkovna baza Webdoctor na OIL. Podatke o poteku bolezni smo zbirali od januarja 2005 do aprila 2012.

Ker smo v primarnem presejanju leta 2005 uporabljali klasifikacijo po Papanicolaou, od 2006 do 2009 pa klasifikacijo prirejeno po zgledu klasifikacije po Bethesda, smo najprej uskladjali citopatološke ocene s klasifikacijo po Bethesda, ki jo uporabljamo

danes (tabela 1). Predpostavili smo, da je citopatološka ocena AŽC-N v klasifikaciji po Bethesda enaka oceni atipične žlezne celice v klasifikaciji po Papanicolaou in v klasifikaciji prirejeni po zgledu klasifikacije po Bethesda, saj so bili diagnostični morfološki kriteriji v vseh treh klasifikacijah podobni.

**Tabela 1.** Citopatološke ocene za AŽC-N, ki smo jih uporabljali v klasifikaciji po Papanicolaou, v klasifikaciji prirejeni po zgledu klasifikacije po Bethesda, ter v klasifikaciji po Bethesda, ki jo uporabljamo danes.

Legenda: AŽC-N: atipične žlezne celice, neopredeljene

Klasifikacija po Papanicolaou	Klasifikacija prirejena po zgledu klasifikacije po Bethesda	Klasifikacija po Bethesda
Atipične žlezne celice (PAPII)	Atipične žlezne celice	AŽC-N

Vse BMV, ki smo jih v primarnem presejanju ocenjeni kot AŽC-N, smo poiskali v arhivu oddelka za citopatologijo OIL, jih še enkrat pregledali in ocenili v skladu s klasifikacijo po Bethesda. BMV sta ocenila en presejalec in en citopatolog. Zaradi lažje analize rezultatov smo citopatološke ocene, ponovnega pregleda BMV razdelili v 4 skupine (tabela 2).

**Tabela 2.** Skupine citopatoloških ocen ponovnega pregleda BMV.

Legenda: AŽC-VN: atipične žlezne celice, verjetno neoplastične, AIS: adenokarcinom in situ, A-CA: invazivni adenokarcinom, APC-N: atipične ploščate celice neopredeljene, PIL-NS: ploščatocelična intraepitelijska neoplazija nizke stopnje, APC-VS: atipične ploščate celice verjetno neoplastične, PIL-VS: ploščatocelična intraepitelijska neoplazija visoke stopnje, PL-CA: ploščatocelični karcinom

Citopatološka ocena ponovnega pregleda BMV	Skupina
AŽC-N	AŽC-N
AŽC-VN AIS A-CA	Patološko spremenjene žlezne celice visoke stopnje
APC-N PIL-NS	Patološko spremenjene ploščate celice nizke stopnje
APC-VS PIL-VS PL-CA	Patološko spremenjene ploščate celice visoke stopnje

V primarnem presejanju smo delež presejalnih diagnoz AŽC-N izračunali iz podatkov o številu BMV s presejalno diagnozo AŽC-N in številu vseh BMV, ki smo jih v citopatološkem laboratoriju OIL pregle-

dali v obdobju 2005–2009. Pri ponovnem pregledu BMV smo deleže citopatoloških ocen (AŽC-N, patološko spremenjene žlezne celice visoke stopnje, patološko spremenjene ploščate celice nizke stopnje, patološko spremenjene ploščate celice visoke stopnje) izračunali iz podatkov o številu BMV s temi ocenami in številu vseh BMV, ki smo jih ponovno pregledali.

Pravilnost citopatoloških ocen in ogroženost žensk s CIN2+ in AIS+ smo preverili s pomočjo podatkov o rezultatih histološke preiskave in kliničnega poteka bolezni. Zato smo za vsako citopatološko ocenodoločili končno diagnozo. Končna diagnoza je bila histopatološka diagnoza ali citopatološka ocena z dnjega kontrolnega pregleda BMV v povezavi s kliničnimi podatki o preiskovanki. Končne diagnoze smo razdelili na skupino klinično pomembnih lezij (CIN2+ in AIS+) in na skupino klinično nepomembnih lezij (brez CIN2+ in brez AIS+). V skupino CIN2+ smo vključili naslednje histopatološke diagnoze: CIN2, CIN3, ploščatocelični karcinom, v kategorijo AIS+ pa adenokarcinom in situ in invazivni adenokarcinom. Primerjali smo rezultate primarnega presejanja z rezultati poponovnega pregleda BMV.

Za statistične analize smo uporabili programom SPSS. Za prikaz rezultatov ocene AŽC-N v primarnem in ponovnem pregledu BMV ter končnih diagnoz smo uporabili metode opisne statistike. Za izračun trendov spreminjanja ocen patoloških sprememb na žleznih celicah, CIN2+ in AIS+ v opazovanem obdobju, smo uporabili linearno regresijo.

Raziskavo je odobrila Komisija za medicinsko etiko pri Ministrstvu za zdravje Republike Slovenije (št.110/01/14).

## Rezultati

V obdobju od 2005–2009 smo na Oddelku za citopatologijo OIL pregledali 139.096 BMV. Za 573 (0,4 %) BMV smo v primarnem presejanju ocenili, da vsebujejo patološko spremenjene žlezne celice, 457 BMV (0,3 %) smo ocenili kot AŽC-N. Povprečna starost preiskovank je bila 57,6 let. Najmlajša preiskovanka je imela 20 let, najstarejša pa 84 let. Povprečno spremljanje preiskovank je bilo 68 mesecev, z razponom od 36 do 84 mesecev. Histološka preiskava je bila narejena pri 149 od 457 (32,6 %) preiskovankah in pokazala 70 (15,3 %) klinično pomembnih lezij. Povprečen čas med citopatološko oceno AŽC-N in histološko diagnozo je bil 10 mesecev, razpon od 0 do 58 mesecev. Za klinično pomembne lezije je bil ta čas 11,2 meseca, razpon 0–58 mesecev.

### a. Rezultati v primarnem presejanju

Delež žensk s presejalno diagnozo AŽC-N se je v 5-letnem obdobju statistično značilno zmanjšal iz 0,7 % na 0,2 % ( $p=0,04$ ), najbolj v obdobju 2005–2007, po tem obdobju se je delež ustalil nekoliko pod 0,2 % (slika 1).

Pri 457 ženskah s presejalno diagnozo AŽC-N je bilo odkritih 70 klinično pomembnih lezij (PNV 15,3 %), od tega CIN2 ali CIN3 pri 11,4 % (52/457), ploščatocelični karcinom pri 1,5 % (7/457), AIS pri 0,4 % (2/457) in invazivni adenokarcinom pri 2,0 % (9/457) žensk. Med vzorci s presejalno diagnozo AŽC-N se je pogostnost CIN2+ v ocenjevalnem obdobju statistično značilno zmanjšala ( $p=0,05$ ), pogostnost histološke diagnoze AIS+ pa ne (slika 2).

### b. Rezultati pri ponovnem pregledu BMV

Pri ponovnem pregledu BMV je bilo 9,0 % (41/457) BMV ponovno ocenjenih kot AŽC-N. Preostale BMV smo pri ponovnem pregledu ocenili drugače: 5,0 % (23/457) kot patološke spremembe na žleznih celicah visoke stopnje, 2,2 % (10/457) kot patološke spremembe na ploščatih celicah nizke stopnje, 10,5 % (48/457) kot patološke spremembe na ploščatih celicah visoke stopnje in 73,3 % (335/457) kot neneoplastične spremembe ali kot negativen BMV (slika 3). Pogostnost citopatoloških ocen AŽC-N se pri ponovnem pregledu v petletnem obdobju ni značilno razlikovala (slika 1).

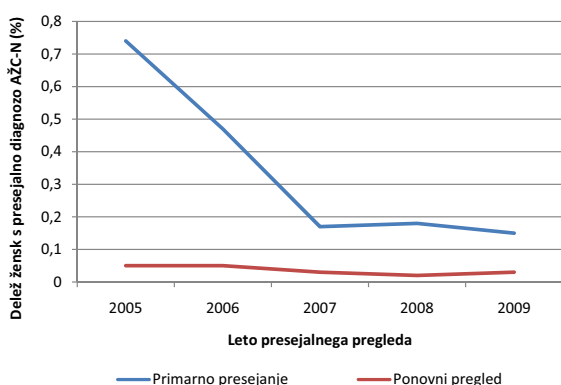
Pri 41 ženskah s ponovno diagnozo AŽC-N je bilo odkritih 5 od 70 klinično pomembnih lezij (PNV

12,1 % oziroma 5/41), od tega AIS+ pri 2,4 % (1/41) in CIN2+ pri 9,7 % (4/41) ženskah. 68,0 % (15/23) klinično pomembnih lezij smo odkrili na podlagi citopatološke ocene patološko spremenjene žlezne celice visoke stopnje, 20,0 % (2/10) na podlagi ocene spremembe ploščatih celic nizke stopnje in 81,3 % (39/48) na podlagi ocene spremembe ploščatih celic visoke stopnje. Pri 9 ženskah klinično pomembnih lezij pri ponovnem pregledu nismo odkrili (slika 3).

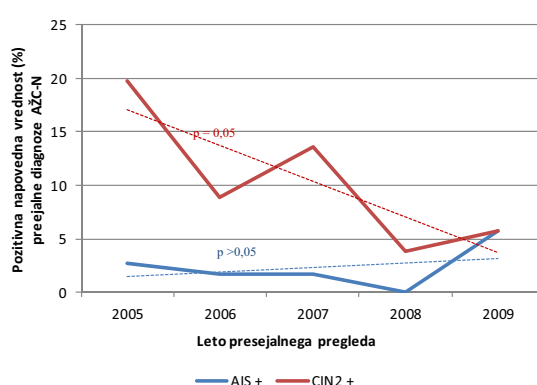
Med 70 klinično pomembnimi lezijami smo pri ponovnem pregledu na podlagi citopatoloških ocen AŽC-N in patološko spremenjene žlezne celice visoke stopnje odkrili tako CIN2+ kot AIS+, na podlagi citopatoloških ocen patološke spremembe na ploščatih celicah nizke in visoke stopnje pa samo CIN2+. Podobno kot v primarnem presejanju smo tudi pri ponovnem pregledu BMV na podlagi citopatološke ocene AŽC-N odkrili več CIN2+ kot AIS+ (9,7 % in 2,4 %), na podlagi citopatoloških ocen patološko spremenjene žlezne celice visoke stopnje pa nasprotno več AIS+ kot CIN2+ (39,1 % in 26,1 %) (slika 4).

### Razprava

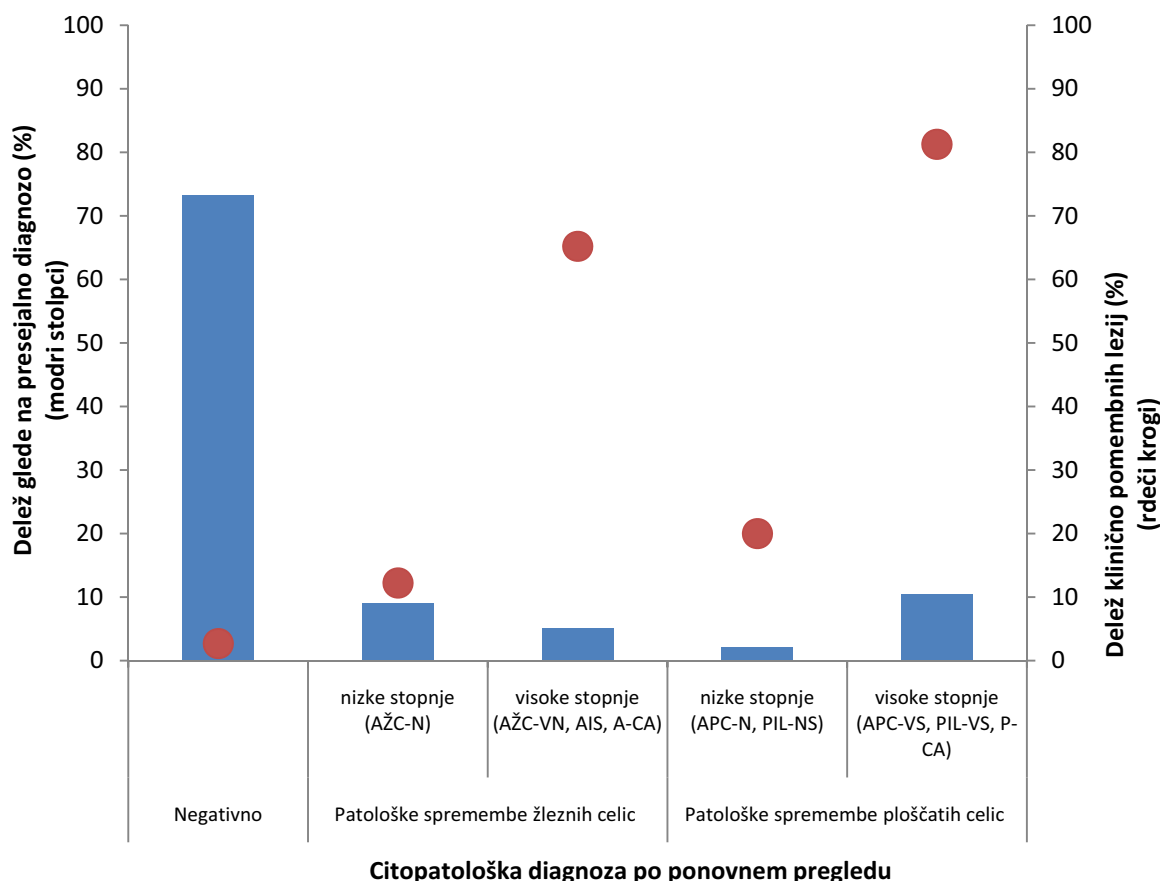
V raziskavi smo pričakovano ugotovili, da se je v opazovalnem obdobju 2005–2009 delež žensk s presejalno diagnozo AŽC-N v citopatološkem laboratoriju OIL zmanjševal. Pozitivna napovedna vrednost (PNV) presejalne diagnoze AŽC-N za CIN2+ se je v omenjenem obdobju zmanjšala, PNV za AIS+ se z leti ni bistveno spreminjala. V primarnem presejanju smo na podlagi ocene AŽC-N odkrili 15,3 %



**Slika 1.** Delež žensk (v odstotkih) s citopatološko oceno AŽC-N v primarnem presejanju (modra črta) in po ponovnem pregledu BMV (rdeča črta) po koledarskih letih. V primarnem presejanju se je v obdobju 2005–2009 delež žensk s primarno oceno AŽC-N zmanjšal z 0,7 % na 0,2 %. Pri ponovnem pregledu BMV je bil delež citopatoloških ocen AŽC-N v vseh petih koledarskih letih podoben. Legenda: AŽC-N: atipične žlezne celice neopredeljene



**Slika 2.** Pozitivna napovedna vrednost (v odstotkih) presejalne diagnoze AŽC-N za CIN2+ (rdeča črta) in AIS+ (modra črta) v posameznem koledarskem letu. Prekinjena črta označuje 5-letni trend. Legenda: AŽC-N: atipične žlezne celice neopredeljene, AIS+: adenokarcinom in situ in invazivni adenokarcinom, CIN: cervikalna intraepitelijska neoplazija, CIN2+: CIN2, CIN3 in invazivni ploščatocelični karcinom.



**Slika 3.** Citopatološke ocene ponovnega pregleda brisov 457 žensk s presejalno diagnozo AŽC-N (modri stolpci, leva os) in delež klinično pomembnih lezij (CIN2+ in AIS+ skupaj) pri posamezni revidirani citopatološki diagnozi (rdeči krogi, desna os).

Legenda: AŽC-N: atipične žlezne celice neopredeljene AŽC-VN: atipične žlezne celice, verjetno neoplastične, AIS: adenokarcinom in situ, A-CA: invazivni adenokarcinom, APC-N: atipične ploščate celice neopredeljene, PIL-NS: ploščatocelična intraepitelijska neoplazija nizke stopnje, APC-VS: atipične ploščate celice verjetno neoplastične, PIL-VS: ploščatocelična intraepitelijska neoplazija visoke stopnje, PL-CA: ploščatocelični karcinom.

klinično pomembnih lezij (12,9 % CIN2+ in 2,4 % AIS+). 84,7 % BMV ocenjenih kot AŽC-N je vsebovalo neneoplastične ali reaktivne spremembe. Rezultati ponovnega pregleda so bili natančnejši od rezultatov primarnega presejanja. Pri ponovnem pregledu brisov s presejalno diagnozo AŽC-N smo jih 71,3 % pravilno ocenili kot negativne, 87,1 % klinično pomembnih lezij smo prepoznali kot BMV s predrakavimi in/ali rakavimi spremembami, čeprav nismo vseh pravilno opredelili glede tipa celic.

#### a. Delež žensk s presejalno diagnozo AŽC-N

V obdobju od 2005–2009 je bil delež citopatoloških ocen AŽC-N na OIL povprečno 0,3 % in se je iz začetnih 0,7 % znižal na 0,2 %. O podobnih rezultatih je poročala tudi Planinc A. (16), ki je ugotovila, da se je pogostnost citopatološke ocene AŽC-N v Splošni bolnišnici Celje v obdobju 2003 do 2008 zmanjšala iz 1,5 % na 0,1 %, povprečna vrednost

za celotno opazovalno obdobje pa je bila 0,4%. Na Inštitutu za patologijo na Medicinski fakulteti v Ljubljani so analizirali ocenjevanje BMV v letu 2008. Delež ocene AŽC-N v primerjavi z vsemi ocenami je bil na Medicinski fakulteti enak kot na OIL, in sicer 0,2 % (16,17). Rezultati vseh treh študij se ujemajo s slovenskim povprečjem (18) in so skladni s podatki v literaturi, kjer se delež citopatoloških ocen AŽC-N giblje od 0,05 % do 2,1 % (6).

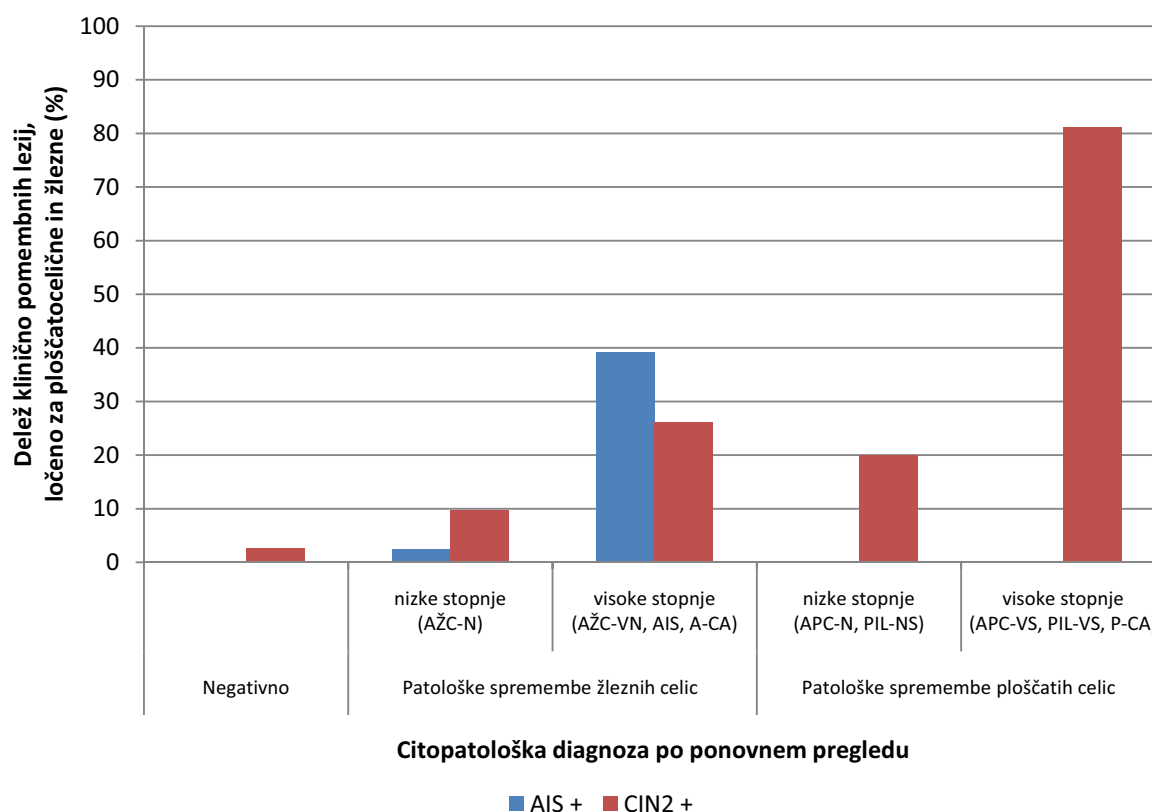
Zmanjšanje deleža žensk s presejalno diagnozo AŽC-N v Sloveniji sovпада z opustitvijo klasifikacije po Papanicolaou in uvedbo nove klasifikacije, prirejene po zgledu klasifikacije po Bethesda. Delež citopatoloških ocen AŽC-N je bil zato največji prav v prvem letu naše raziskave, ko smo v Sloveniji še vedno uporabljali klasifikacijo po Papanicolaou in smo v diagnostično kategorijo AŽC-N poleg atipičnih žleznih celic uvrščali tudi žlezne celice z neneoplastičnimi spremembami, predvsem reaktivno



spremenjene žlezne celice. Te ugotovitve so tudi v skladu s podatki v literaturi. V letih 1992 in 1993 sta bili objavljeni dve raziskavi, ki sta pokazali, da je pogostnost citopatološke ocene AŽC odvisna od tega, ali so v to diagnostično kategorijo vključene tudi reaktivne spremembe na žleznih celicah. Goff s sodelavci (19) je poročal, da je bila pogostnost atipije endocervikalnih žleznih celic brez upoštevanja reaktivnih sprememb 0,46 %. Nasu s sodelavci (20) pa je poročal, da je bila pogostnost reaktivne žlezne atipije v kombinaciji z blago atipijo žleznih celic kar 2,5 %.

Pri ponovnem pregledu brisov s presejalno diagnozo AŽC-N smo le 9 % vseh brisov ocenili enako. Največja razlika med presejalno in ponovno diagnozo je bila pri brisih iz obdobja 2005–2007, ujemanje se je z leti povečevalo (slika 1). Ti rezultati potrjujejo že omenjeno trditev, da je bil upad deleža presejalnih diagnoz AŽC-N v začetnem delu opazovalnega obdobja predvsem posledica prehoda na klasifikacijo po Bethesda. V končnem delu opazovanega obdobja je bil delež diagnoz AŽC-N ponovnega pregleda še vedno manjši kot v primar-

nem presejanju, kar je posledica boljše kakovosti citopatologije. 12,7 % brisov s presejalno diagnozo AŽC-N smo pri ponovnem pregledu pravilno ocenjenili kot spremembe na ploščatem epitelu. Zaradi dosledne uporabe diagnostičnih meril klasifikacije po Bethesda in dobrim prepoznavanjem reaktivnih in neneoplastičnih sprememb, ki posnemajo atipijo žleznih celic, smo 71,3 % brisov pravilno ocenili kot negativne. Pravilna ocena negativnih BMV v preteklosti bi ženske usmerila v tri letno primarno presejanje in tako zmanjšala obremenitev žensk in zdravstvenega sistema z dodatnimi diagnostičnimi pregledi in posegi. Izboljšanje kakovosti citopatološke diagnostike žleznih celic lahko najverjetneje pripišemo tudi vse večji skrbi za zagotavljanje in nadzor kakovosti citologije ob uvedbi programa ZORA. V sodelovanju citopatologinj, članic programskega sveta ZORA in drugih strokovnih sodelavcev, je bil izdelan pravilnik za zagotavljanje in nadzor kakovosti citopatologije, vzpostavljena je bila šola za presejalce, standardiziran citopatološki izvid z navodili za ocenjevanje brisov in centralna registracija citopatoloških in histopatoloških izvidov, kar omogoča reden interni



**Slika 4.** Odstotek klinično pomembnih lezij, ločeno za ploščatocelične (CIN2+, rdeča barva) in žlezne (AIS+, modra barva), glede na citopatološko diagnozo po ponovnem pregledu brisov.

Legenda: AŽC-N: atipične žlezne celice neopredeljene AŽC-VN: atipične žlezne celice, verjetno neoplastične, AIS: adenokarcinom in situ, A-CA: invazivni adenokarcinom, APC-N: atipične ploščate celice neopredeljene, PIL-NS: ploščatocelična intraepiteljska neoplazija nizke stopnje, APC-VS: atipične ploščate celice verjetno neoplastične, PIL-VS: ploščatocelična intraepiteljska neoplazija visoke stopnje, PL-CA: ploščatocelični karcinom.

nadzor kakovosti dela citopatoloških laboratorijev. Redne letne revizije BMV bolnic z RMV omogočajo identifikacijo težavnih citopatoloških diagnoz in ciljana izobraževanja.

V literaturi smo našli dve podobno zasnovani raziskavi kot je bila naša, kjer so avtorji primerjali rezultate primarnega presejanja BMV ocenjenih kot AŽC z rezultati ponovnega pregleda. V raziskavi, ki jo je objavil Lee s sodelavci (21) je BMV s citopatološko oceno AŽC ponovno pregledalo 5 neodvisnih preiskovalcev. Delež popolnega ujemanja prvotne in revidirane citopatološke diagnoze se je med ocenjevalci razlikoval od 14,7 % do 65,4 %. 2,9 %–33,6 % BMV so pri ponovnem pregledu BMV ocenili kot PIL-VS, 31,6 %–55,1 % pa kot neneoplastične spremembe ali kot negativen BMV. Nasprotno pa je Tam s sodelavci (10) v svoji raziskavi vse BMV s presejalno oceno AŽC ponovno ocenil kot AŽC vendar so dokončne diagnoze pokazale, da v 69 % BMV ni bilo neoplastičnih sprememb, 10 % neoplastičnih sprememb pa je bilo na ploščatem epitelu.

#### **b. Tveganje CIN2+ in AIS+ pri ženskah s presejalno diagnozo AŽC-N**

Pozitivna napovedna vrednost (PNV) CIN2+ pri ženskah s presejalno diagnozo AŽC-N se je zmanjševala z leti opazovalnega obdobja. Tak rezultat je odraz postopnega izboljševanja prepoznave sprememb na ploščatem epitelu kar je zagotovo posledica že omenjene izobraževalne dejavnosti okviru DP ZORA. V prepoznavi neoplastičnih sprememb na žlezem epitelu ni bilo opaziti podobnega napredka, saj se PNV AIS+ pri ženskah s presejalno diagnozo AŽC-N z leti ni bistveno spreminjala. Primerjava PNV klinično pomembnih lezij (CIN2+ in AIS+) pri ženskah z diagnozo AŽC-N med ponovnim pregledom in primarnim presejanjem je pokazala podoben rezultat (12,1 % in 15,3 %). Rezultat je bil primerljiv tudi s podatki podobnih slovenskih in tujih raziskav. Raziskavi v Splošni bolnišnici Celje in na Inštitutu za patologijo Medicinske fakultete v Ljubljani sta pokazali primerljiv delež žensk s presejalno diagnozo AŽC-N v zadnjih letih (okoli 0,1 % in 0,2 %) in visoko ogroženost teh žensk: CIN2+ in AIS+ sta bila prisotna pri 10,3 % in 14,3 % vseh žensk s presejalno diagnozo AŽC-N, oziroma pri 40,9 % in 44,0 % žensk s presejalno diagnozo AŽC-N, ki so imele opravljeno biopsijo. Ti rezultati so v skladu s podatki v literaturi. Rezultati različnih študij so pokazali, da na podlagi citopatološke ocene AŽC-N odkrijemo od 20–33 % predrakavih in/ali rakavih sprememb (8–10). V naši raziskavi in v obeh zgoraj omenjenih slovenskih raziskavah smo s presejalno diagnozo AŽC-N odkrili večji delež predrakavih in/ali rakavih sprememb na ploščatem epitelu kot na žlezem. Na OIL je bil ta delež 82 %, v Splošni bol-

nišnici Celje 86 % in na Medicinski fakulteti v Ljubljani 64 % (16–17). Slovenski rezultati so primerljivi rezultatom tujih študij s podobno raziskovalno zasnovi, pri kateri je PNV AŽC-N preračunana na vse ženske s presejalno diagnozo AŽC-N in ne le na tiste, ki so imele biopsijo in histološko preiskavo (8–10). Če PNV izračunamo le v podskupini žensk, ki so imele zaradi presejalne diagnoze AŽC-N histološko preiskavo, je odstotek žensk s CIN2+ in AIS+ večji, ker so ginekologi s kolposkopijo praviloma že izločili večino žensk z majhnim tveganjem CIN2+ in AIS+ in pri njih niso opravili posega.

Iz podatkov v literaturi in tudi iz vsakdanje prakse vemo, da je razlikovanje med predrakavimi in/ali rakavimi spremembami na žlezem in ploščatem epitelu zelo zahtevno. Patološko spremenjene ploščate in žlezne celice so si zelo podobne in morfološka merila, ki jih uporabljamo za njihovo razlikovanje, so nezanesljiva. Zato je včasih nemogoče ločiti, ali gre za predrakave in/ali rakave spremembe na žlezem ali na ploščatem epitelu (11–13). To potrjujejo tudi rezultati študij, ki so pokazale, da so v kategoriji AŽC že prisotne predrakave in/ali rakave spremembe na ploščatem epitelu pri 13–80 % (6). Za boljše razlikovanje med predrakavimi in/ali rakavimi spremembami na žlezem in ploščatem epitelu je zato potrebno uporabljati sodobne morfološka diagnostična merila, ki so priporočena v klasifikaciji po Bethesda (7). Z uporabo teh meril se razlikovanje med predrakavimi in/ali rakavimi spremembami na žlezem epitelu lahko izboljša (21), kar so pokazali tudi rezultati naše raziskave.

Pri ponovnem pregledu BMV s presejalno diagnozo AŽC-N smo prepoznali 87,1 % klinično pomembnih lezij. Pri devetih ženskah, pri katerih so bile na podlagi presejalne diagnoze AŽC-N odkrite klinično pomembne lezije CIN2+, je ponovni pregled njihove BMV ocenil kot negativne (9/335; 2,7 %). Menimo, da so bile te lezije v primarnem presejanju odkrite naključno in da v njih ni bilo patološko spremenjenih celic. Vendar je potrebno upoštevati, da diagnoze ponovnega pregleda slone le na ocenah enega presejalca in enega citopatologa. Ker podatki iz literature navajajo razlike v citopatoloških ocenah različnih preiskovalcev (21), dopuščamo možnost, da ocene ponovnega pregleda pri omenjenih devetih ženskah niso pravilne.

Slovenske smernice za celostno obravnavo žensk s predrakavimi in rakavimi spremembami predvidevajo, da je potrebno pri ženskah s presejalno diagnozo AŽC-N napraviti kolposkopski pregled ter abrazijo cervikalnega kanala, pri neopredeljeni krvavitvi ali starosti 35 let ali več pa frakcionirano abrazijo (22). Raziskave na OIL, SB Celje in Medicinski fakulteti v Ljubljani so pokazale, da se le

približno ena tretjina žensk s presejalno diagnozo AŽC-N obravnava v skladu s smernicami, kar lahko povzroči, da so klinično pomembne lezije spregledane. Ker smo ugotovili, da je bil čas od presejalne diagnoze AŽC-N do histološke diagnoze v povprečju 10 mesecev (razpon od 0 do 58 mesecev), je prihajalo tudi do zakasnitve pri potrditvi nekaterih klinično pomembnih diagnoz. Nezanemarljivo pa je dejstvo, da dosledna obravnava v skladu s smernicami vodi v številne nepotrebne preiskave, saj je odstotek klinično pomembnih lezij med presejalno diagnozo AŽC-N nizek. Ker se v diagnozi AŽC-N skriva visok odstotek negativnih brisov, bi bilo potrebno obravnavo žensk s to diagnozo izboljšati z uporabo dodatnih triažnih testov. V večini primerov CIN2+ in AIS+ so v tkivih prisotni onkogeni HPV virusi (23), proteina p16 in Ki67 pa sta v teh tkivih prekomerno izražena (14,15). Zato bi bila test HPV in imunocitokemično barvanje na p16 in Ki67 primerna dodatna triažna testa, kar so potrdile že nekatere raziskave (24–26). Vsekakor pa je pred odločitvijo o spremembi smernic potrebno najprej napraviti raziskave na populaciji naših žensk, ki bi pokazale, kateri triažni test bi bil najboljši.

## Zaključki

Citološka diagnostika žleznih sprememb materničnega vratu je težavna. Kljub temu smo v Sloveniji pri ocenjevanju žleznih sprememb dosegli napredek s prehodom na klasifikacijo po Bethesda in z izboljšanjem citopatoloških ocen. Slednje nam je uspelo s pomočjo rednih izobraževanj, s standardiziranim ocenjevanjem in s stalnim nadzorom kakovosti presejanja. Ženske s presejalno diagnozo AŽC-N so ogrožene s CIN2+ in AIS+, zato je smiselno pri njih opraviti kolposkopijo in abrazijo v skladu s sodobnimi ginekološkimi smernicami. Zaradi nizke PNV diagnoze AŽC-N bi bilo v prihodnosti smiselno proučiti varnost in učinkovitost triažiranja žensk z diagnozo AŽC-N s testom HPV ali z imunocitokemičnim barvanjem na p16/Ki-67 pred izvedbo invazivne diagnostike. V kolikor bi potrdili, da je tovrstna obravnava žensk v Sloveniji varna in učinkovita, bi bilo smiselno posodobiti smernice.

## Literatura

- IARC. Cervix cancer screening. IARC handbooks of cancer prevention. Vol. 10. Lyon (France): IARC Press; 2004.
- <http://zora.onko-i.si/>
- Paloma A, Moreno V, Xavier F. International trends in the incidence of cervical cancer: Iadenocarcinoma and adenocarcinoma cell carcinomas. *Int.J.Cancer* 1998; 75: 536–545.
- Bray F, Carstensen B, Moller H, Zappa M, Primicžakelj M, Lawrence G, Hakama M, Weiderpass E. Incidence trends of adenocarcinoma of the cervix in 13 European countries. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005; 14(9): 2191–2199.
- Geldenhuis L, Murray ML. Sensitivity and specificity of the Pap smear for glandular lesions of the cervix and endometrium. *ActaCytolo* 2007; 51(1): 47–50.
- Holanda Marques JP, Bandeira Costa L, Souza E Pinto AP, Lima AF, Leite Duarte ME, Fernandes Barbosa AP, Medeiros PL. Atypical glandular cells and cervical cancer: systematic review. *Rev Assoc Med Bras* 2011; 57(2): 229–233.
- Solomon D, Nayar R. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology, 2nd Edition, New York, Springer-Verlag, 2004.
- DeSimone CP, Day ME, Tovar MM. Rate of pathology from atypical glandular cell Pap tests classified by the Bethesda 2001 nomenclature. *ObstetGynecol* 2006; 107(6): 1285–1291.
- Lai CR, Hsu CY, Tsay SH, Li AF. Clinical significance of atypical glandular cells by the 2001 Bethesda System in cytohistologic correlation. *Acta Cytology* 2008; 52(5): 563–567.
- Tam KF, Cheung AN, Liu KL, Ng TY, Pun TC, Chan YM, Wong LC, Ng AW, Ngan HY. A retrospective review on atypical glandular cells of undetermined significance (AGUS) using the Bethesda 2001 classification. *Gynecol Oncol*. 2003; 91(3): 603–607.
- Raab SS, Isacson C, Layfield LJ, Level JC, Slagel DD, Thomas PA. Atypical glandular cells of undetermined significance. Cytologic criteria to separate clinically significant from benign lesions. *Am J Clin Pathol* 1995; 104(5): 574–582.
- Rabelo-Santos SH, Derchain F, et al. Endocervical glandular cells abnormalities in conventional cervical smears: evaluation of the performance of cytomorphological criteria and HPV testing in predicting neoplasia. *Cytopathology* 2008; 19: 34–43.
- Renshaw A, Mody DR, Wang E, Haja J, Colgan TJ. Hyperchromatic crowded groups in cervical cytology-differing appearances and interpretations in conventional and ThinPrep preparations: a study from the Collega of American Pathologists Interlaboratory Comparison Program in Cervicovaginal Cytology. *Arch Pathol Lab Med* 2006; 130(3): 332–336.
- Wentzensen n, KnebelDoeberitz K. Biomarkers in cervical cancer screening. *Disease Markers* 2007; 23: 315–330.
- Brown CA; Bogers J, Sahebali S, Depuydt CE, De Prins F, Malinowski DP. Role of protein biomarkers in the detection of high grade disease in cervical cancer screening programs. *J Oncol* 2012; 2012: 289315. doi: 10.1155/2012/289315. Epub 2012 Feb 28.
- Planinc A, Fokter-Repše A, Golouh R. Follow-up of females with atypical glandular cells on Pap smears. *Acta Medico-Botecnica* 2012; 5(2): 33–39.
- Žerovnik V: Atipične žlezne celice v brisih materničnega vratu. Diplomsko delo, Ljubljana, 2012.
- Maja Primicžakelj, Urška Ivanuš. Deset let delovanja programa ZORA. Zbornik predavanj, 4. izobraževalni dan programa ZORA–ZORA 2013; 7–11.
- Goff BA, Atanasoff P, Brown E, Muntz HG, Bell DA, Rice LW. Endocervical glandular atypia in Papanicolaou smears. *ObstetGynecol* 1992; 79: 101–104



20. Nasu I, Meurer W, Fu YS. Endocervical glandular atypia and adenocarcinoma: a correlation of cytology and histology. *J Gyn Pathol* 1993; 12: 208–218.
21. Lee KR, Darragh TM, Joste NE, Krane JF, Sherman ME, Hurley LB. Atypical glandular cells of undetermined significance (AGUS): Interobserver reproducibility in cervical smears and corresponding thin-layer preparations. *Am J ClinPathol* 2002; 117: 96–112.
22. Uršič Vrščaj M, et.al. Smernice za celostno obravnavo žensk s predrakavimi spremembami materničnega vratu. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana, 2011.
23. Walboomers JM<sup>1</sup>, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, Snijders PJ, Peto J, Meijer CJ, Muñoz N. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 1999; 189(1): 12–19.
24. Krane JF<sup>1</sup>, Lee KR, Sun D, Yuan L, Crum CP. Atypical glandular cells of undetermined significance. Outcome predictions based on human papillomavirus testing. *Am J ClinPathol.* 2004; 121(1): 87–92.
25. Zeferino LC<sup>1</sup>, Rabelo-Santos SH, Villa LL, Sarian LO, Costa MC, do Amaral Westin MC, de Ângelo-Andrade LA, Derchain S. Value of HPV-DNA test in women with cytological diagnosis of atypical glandular cells (AGC). *Eur J ObstetGynecolReprod Biol.* 2011; 159(1): 160–164.
26. Nieh S, Chen SF, Chu TY, Lai HC, Fu E. Expression of p16INK4A in Pap smears containing atypical glandular cells from the uterine cervix. *ActaCytol.* 2004; 48(2): 173–180.