

CITOPATOLOŠKA DIAGNOSTIKA PATOLOŠKIH SPREMENB V DOJKI

Izr. prof. dr. Veronika Kloboves Prevodnik, dr. med.

Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za citopatologijo

Izvleček

Citopatološka preiskava je ekonomična, hitra in zanesljiva diagnostična metoda za opredelitev patoloških sprememb v dojki. Vzorce za preiskavo pridobimo z aspiracijsko biopsijo s tanko iglo (ABTI), skarifikatom ali brisom. Diagnozo večinoma postavimo s pregledom vzorcev s svetlobnim mikroskopom. V zapletenih primerih in za določitev napovednih dejavnikov, ki so pomembni za načrtovanje zdravljenja, uporabljamo tudi dodatne metode, predvsem imunocitokemične reakcije za določitev statusa hormonskih receptorjev in fluorescenčno hibridizacijo *in situ* (FISH) za določitev pomnožitve onkogenega HER2.

Uvod

Citopatološko preiskavo dojke uporabljamo za opredelitev neneoplastičnih in neoplastičnih procesov. Klinično se običajno kažejo kot zatrdline v dojki. Večina zatrdlin nastane zaradi cist in drugih fibrocističnih sprememb, vnetij ter benignih neoplazem, kot sta fibroadenom in papilom. Le manjši del zatrdlin nastane zaradi malignih neoplazem, ki so večinoma epitelijskega izvora (žlezni rak dojk). Z neoplazmami, ki vzniknejo iz maščobnega, vezivnega in žilnega tkiva dojke, se redko srečamo (lipom, filodni tumor, fibromiksosarkom, liposarkom, angiosarkom...). Zatrdline v dojki lahko nastanejo tudi zaradi zasevkov različnih karcinomov, melanoma, levkemij in primarnih ali sekundarnih limfomov (1,2).

Bolezenske spremembe v dojki glede na klinično sliko razdelimo na tipne in netipne. Tipne spremembe bolnice opazijo same ali pa jih odkrije slučajno zdravnik pri pregledu dojk. Spremljajo jih lahko tudi drugi klinični znaki, kot so bolečina, izcedek iz prsne bradavice, pordelost kože, pomarančna koža, uvlečenost kože nad tumorjem ali uvlečena prsna bradavica. Večina tipnih sprememb je benignih in zdravljenje ni potrebno. Predvideva se, da je le 10 % tipnih sprememb malignih, v preostalih primerih pa gre za fibrocistične spremembe in benigne neoplazme ali pa celo za normalno tkivo dojke. Zato za diagnostiko tipnih sprememb potrebujemo ekonomično, hitro in zanesljivo diagnostično metodo, ki je neobremenjujoča in prijazna do bolnikov, kar aspiracijska biopsija s tanko iglo (ABTI) nedvomno je. Kljub nekaterim omejitvam in razvoju sodobnih slikovnih in bioptičnih tehnik je ABTI še vedno varna in zanesljiva diagnostična metoda, če jo uporabljamo v okviru trojnega diagnostičnega pristopa, ki temelji na rezultatih kliničnega pregleda, slikovne diagnostike in mikroskopske analize citološkega vzorca (3). To potrjujejo tudi podatki v literaturi, saj sta občutljivost in specifičnost ABTI in debeloigelne biopsije za diagnostiko raka dojk iz tipnih sprememb primerljivi. Za netipne spremembe pa so rezultati debeloigelne biopsije precej boljši od ABTI (4-6).

Z debeloigelno biopsijo in histopatološkim pregledom lahko bolj zanesljivo opredelimo mamografsko odkrite patološke spremembe v dojki kot z ABTI. Mikrokalcinacij, proliferativnih in skleroznih sprememb v dojki z ABTI ni možno zanesljivo diagnosticirati, prav tako ni možno ločiti med *in situ* in invazivnim karcinomom (7). Zato se v skladu z Evropskimi smernicami za presejanje in diagnostiko raka dojk za diagnostiko netipnih sprememb v dojki uporabljamo debeloigelno biopsijo (8). Z biopsijo pridobimo stebriček tkiva, ki ga pošljemo na histopatološko preiskavo. Bolnice z netipnimi spremembami praviloma nimajo kliničnih znakov bolezni. Spremembe zato odkrijemo slučajno z mamografijo ali ultrazvočnim pregledom dojke ali pa v okviru presejalnega programa za raka dojk. ABTI za diagnosticiranje netipnih sprememb uporabljamo le za diagnostiko dodatnih tumorskih jeder pri ženskah, ki smo jim z debeloigelno biopsijo in histopatološko preiskavo že potrdili raka dojk (4,8)

Odvzem vzorca za citopatološko preiskavo

ABTI je poseg, kjer s tanko iglo premera 0,7 mm (22 G), ki je vpeta v 10-ml brizgo, posesamo (aspiriramo) celice iz patoloških sprememb v dojki. Iz tako dobljenega vzorca naredimo razmaze na objektna stekla za pregled s svetlobnim mikroskopom. Iz ostanka vzorca lahko po potrebi naredimo suspenzijo celic za dodatne imunofenotipske in molekularnogenetske preiskave. Ostanek vzorca lahko pošljemo tudi na dodatne mikrobiološke preiskave. ABTI naredimo pod kontrolo očesa v ambulanti za citološke punkcije, če je sprememba tipna, ali pod kontrolo ultrazvoka (UZ), če sprememba ni tipna. Zdravstvenih zapletov po opravljeni ABTI praviloma ni ali pa so blagi in prehodni (krvavitev v podkožje, izjemoma vnetje). Resni zapleti so redki (huda bolečina, poškodba zaradi padca ob kolapsu, pnevmotoraks). Poseg je praviloma neboleč, podobno kot odvzem venske krvi, zato anestezija ni potrebna. Izvajamo ga ambulantno. Večinoma diagnozo postavimo v 24 urah, po potrebi pa tudi prej. Z ABTI hitro in zanesljivo opredelimo večino tipnih patoloških sprememb v dojki (1,4).

Vzorcev vseh patoloških sprememb v dojki ne moremo pridobiti z ABTI. Zato za kožne spremembe uporabljamo tehniko skarifikata in za izcedke iz prsne bradavice bris. Skarifikat je poseg, kjer z iglo postrgamo celice s površine spremembe na koži dojke. Poseg največkrat uporabljamo za opredelitev erozij, razjed in ekcematoidnih sprememb na prsni bradavici, ki nastanejo zaradi Pagetove bolezni, adenoma prsne bradavice ali vnetnih sprememb. Z mikroskopskim pregledom vzorca skarifikata zanesljivo diagnosticiramo neoplastične spremembe, vendar razlikovanje med Pagetovo boleznijo in adenomom prsne bradavice zaradi podobnosti v mikroskopski, morfološki sliki ni vedno možna (9). Bris je poseg, kjer na objektno steklo ujamemo kapljico izcedka, ki se na prsni bradavici pojavi spontano ali zaradi masaže dojke in stiskanja prsne bradavice. Iz kapljice, ki smo jo ujeli na objektno steklo, naredimo tanek enoslojni razmaz za pregled s svetlobnim mikroskopom. Odvzem brisa z vatrano palčko ni indiciran, ker se celice med nanašanjem na steklo izgubijo. Diagnostična vrednost pregleda izcedka je

majhna, ker izcedek najpogosteje nastane zaradi fizioloških sprememb, kot so menstruacija, nosečnosti ali dojenje. Zelo poredko je znak patoloških sprememb. Najpogosteje nastane zaradi intraduktalnih papilomov in fibrocističnih sprememb. Izcedek ima le 10 % bolnic z rakom dojk (10).

Zanesljivost citopatološke diagnostike raka dojk in domet preiskave

Občutljivost in specifičnost citopatološke preiskave za odkrivanje raka dojk iz tipnih sprememb se gibljeta od 77 do 97 % ter od 92 in 99 % (5-6). Na Onkološkem inštitutu Ljubljana imamo s citopatološko preiskavo raka dojk dolgoletne izkušnje. Z vsakodnevnimi konzultacijami, diskusijo sumljivih in pozitivnih primerov na večglavem diskusijskem mikroskopu in korelacijo rezultatov s histološko preiskavo zagotavljamo visoko zanesljivost citopatološke diagnostike raka dojk (pozitivna napovedna vrednost je več kot 99-%). V skladu z mednarodnimi smernicami zanesljivost citopatološke diagnostike raka dojk lahko merimo tudi z izračunom tveganja za malignost (angl. risk of malignancy, ROM) za posamezno diagnostično kategorijo. Za nediagnostične, benigne in atipične vzorce mora biti ROM čim manjši, za suspektne in maligne pa čim večji (tabela 1). ROM za nediagnostične vzorce ne sme presegati 4,8 %, za benigne 4,3 % in za atipične 15,7 %, za suspektne in maligne vzorce pa ne sme biti manjši od 84 % in od 99,9 % (11). Podatkov za Slovenijo žal še nimamo.

Zanesljivost citopatološke preiskave je odvisna predvsem od izkušenosti zdravnika, ki ABTI opravi, in izkušenosti patologa, ki pregleduje vzorce. Rezultati so najboljši, če vzorce za citopatološko preiskavo odvzame in interpretira patolog, ki je specializiran za delo na področju citopatologije dojke. Prednost takega načina dela je, da patolog po opravljeni ABTI ob bolniku s svetlobnim mikroskopom preveri ustreznost vzorca za citopatološko preiskavo (angl. rapid on site evaluation ROSE), po potrebi ABTI ponovi, odvzame material za dodatne preiskave ali za določitev napovednih dejavnikov, ki so pomembni za načrtovanje zdravljenja (4). Tak način dela zmanjša delež nediagnostičnih vzorcev in omogoča optimalno pripravo vzorcev za pregled s svetlobnim mikroskopom in dodatne imunofenotipske in

molekularne preiskave. Kakovost izvedbe ABTI patoloških sprememb v dojki merimo z deležem nediagnostičnih vzorcev, to so vzorci, ki niso primerni za citopatološko preiskavo in postavitev diagnoze zato ni možna. V skladu z mednarodnimi smernicami delež nediagnostičnih vzorcev ne sme presegati 5 % (11). V Sloveniji se temu standardu približujemo le v posameznih centrih, med katerimi je tudi Onkološki inštitut Ljubljana. Zato bi bilo treba na državni ravni organizirati delavnice za vse, ki izvajajo ABTI, da bi zmanjšali delež nediagnostičnih vzorcev in se približali mednarodnemu standardu.

S citopatološko preiskavo zanesljivo opredelimo večino tipnih sprememb, ki nastanejo zaradi vnetij, maščobne nekroze, duktalnih ektazij, fibrocističnih sprememb, benignih neoplazem (fibroadenom, papilom, mioepiteliom, lipom) ter primarnih in sekundarnih malignih neoplazem (Tabela 1). Za neoplazme lahko večinoma določimo izvor (epitelijske, mehkotkivne in hematolimfoidne neoplazme) in biološki potencial (benigno, maligno). Glavna omejitev preiskave je, da razlikovanje med *in situ* in invazivnim rakom ter različnimi histološkimi tipi rakov ni možno. Prav tako za večino benignih lezij specifična diagnoza ni možna (1,2). Čeprav je ABTI diagnostična metoda, ima pri izpraznitvenih punkcijah enostavnih in vnetnih cist tudi terapevtski pomen, ker bolečina, napetost in neprijeten občutek izginejo.

Interpretacija citopatoloških vzorcev

Za opredelitev patoloških procesov v dojki običajno zadostuje mikroskopski pregled celičnih vzorcev, ki so pobarvani po Giemsi in Papanicolaou. Pri sumu na zasevke karcinomov iz drugih organov, hematolimfoidne neoplazme, melanom ali sarkom pa so za zanesljivo diagnozo potrebne dodatne metode. Največkrat uporabljamo imunocitokemične reakcije za opredelitev izvora maligne neoplazme in imunofenotipizacijo s pretočnim citometrom v diagnostiki limfomov in levkemij. Z dodatnimi metodami določimo tudi napovedne dejavnike, ki so pomembni za načrtovanje zdravljenja. Estrogenske in progesteronske receptorje določimo z imunocitokemičnimi reakcijami, pomnožitev onkogenega *HER2* pa z metodo fluorescenčne hibridizacije *in situ* (FISH). Vzorci, ki jih pridobimo z ABTI, so primerni tudi za druge

molekularnogentske preiskave, med drugim tudi večgenetsko testiranje, ki se v zadnjem času hitro razvija in prihaja v redno diagnostiko.

Citopatološke ocene in izvid

Za poročanje o rezultatih citopatološke preiskave dojke uporabljamo slovenske smernice za diagnostiko in zdravljenje raka dojke (4), ki so usklajene z mednarodnimi smernicami (The International Academy of Cytology Yokohama System for Reporting Breast Fine-Needle Aspiration Byopsy Cytopathology) (11). Za vse patološke spremembe podamo opisne ocene, ki jih razdelimo v kategorije od C1 do C5. Kategorija C1 pomeni neuporabno – material ni diagnostičen, kategorija C2 benigno, kategorija C3 benigno z atipijo epitela, kategorija C4 sumljivo za malignom in kategorija C5 maligno (tabela 1). Vzorec je neuporaben (C1), če vsebuje manj kot 7 skupin dobro ohranjenih duktalnih celic (4,11). Slabo tipne spremembe, ki jih z ABTI ne zadenemo, hemoragični, nekrotični ali cistično degenerirani tumorji, tumorji z obilno vezivno stromo in maloštevilnimi neoplastičnimi celicami so najpogostejši razlogi za neuporabne vzorce. Po podatkih v literaturi se v diagnostični kategoriji (C1) skriva do 27 % malignih neoplazem (5), zato je v teh primerih nujna ponovna ABTI (4, 5). Benigno (C2) uporabljamo za benigne procese in benigne neoplazme (tabela1). Če je le mogoče, postavimo specifično diagnozo. Benigno z atipijo epitela (C3) je diagnostična kategorija, ki jo uporabljamo takrat, ko v citoloških vzorcih najdemo blago celično in jedrno atipijo, ki je verjetno neneoplastična ali pa gre za papilarno proliferacijo duktalnih celic ali papilom. V teh primerih je potrebna nadaljnja diagnostika (mamografija, UZ), morebitna ponovna ABTI, debeloigenlna biopsija ali kirurška biopsija (4). Diagnostično kategorijo suspektno za malignom (C4) uporabljamo v primerih, ko so v vzorcu maloštevilne, najverjetneje maligne celice. Ker obstaja velika verjetnost, da smo tumor pri ABTI slabo zadeli, je indicirana ponovna ABTI. Kategorijo suspektno uporabljamo tudi, ko so v vzorcu številne skupine celic, ki imajo znake malignosti slabo izražene, ali pri papilarnih neoplazmah, ker v citopatologiji ne obstajajo jasni kriteriji za razlikovanje papiloma od dobro diferenciranega papilarnega karcinoma. V teh primerih ponovna ABTI ni indicirana, ker dokončna diagnoza iz citološkega

vzorca ni možna. Potrebno je napraviti debeloigelnno biopsijo ali kirurško biopsijo (4). Diagnostična kategorija maligno (C5) je rezervirana le za primere, kjer so izpolnjeni vsi diagnostični kriteriji za postavitev diagnoze raka dojke ali druge maligne neoplazme. Diagnoza je zanesljiva, indicirana je obravnava in zdravljenje skladu s smernicami (4).

Tabela 1. Razvrstitev opisnih citopatoloških ocen v pet diagnostičnih kategorij (C1-C5)

Opisne citopatološke ocene	Diagnostične kategorije	Tveganje za malignost (angl. Risk of malignancy, ROM), %*
Neuporabno – material ni diagnostičen: manj kot 7 skupin dobro ohranjenih duktalnih celic, vzorec nepregleden zaradi krvi in vnetja...	Neuporabno – material ni diagnostičen (C1)	2,6-4,8
Vnetje, absces, duktalna ektazija, maščobna nekroza, cista, fibrocistične spremembe, fibradenom, hamartom, mioepiteliom, lipom	Benigno (C2)	1,4-2,3
Celična in jedrna atipija, papilarna proliferacija, papilom	Benigno z atipijo epitela (C3)	13,0-15,7
Papilarne neoplazme, sumljive celice za karcinom, filodni tumor, limfom, levkemija, sarkom, melanom...	Sumljivo za malignom (C4)	84,6-97,1
Karcinom, limfom, sarkom, melanom...	Maligno (5)	99,9-100

*... povzeto po "The International Academy of Cytology Yokohama System for Reporting Breast-Fine-Needle Aspiration Biopsy Cytopathology" (*Acta Cytopathologica* 2019;63:257-73).

Prediktivni dejavniki

Z ABTI pridobimo svež, nefiksiran vzorec, ki je primeren za vse vrste imunofenotipskih in molekularnih preiskav, ki se uporabljajo tudi v histologiji. Na Oddelku za citopatologijo Onkološkem inštitutu Ljubljana imamo z določanjem estrogenskih in progesteronskih receptorjev na citoloških vzorcih dolgoletne izkušnje. Rezultati na citoloških vzorcih so povsem skladni z rezultati na histoloških vzorcih. Pripravljamo tudi vzorce za določitev pomnožitve onkogenega *HER2* z metodo FISH, ki jo naredijo na Oddelku za patologijo. V primarni diagnostiki raka dojke se hormonski receptorji in status onkogenega *HER2* določajo na bioptičnih vzorcih tumorja dojke s histopatološko preiskavo. Na citoloških vzorcih jih naredimo le izjemoma, kadar tkiva za histopatološko preiskavo ni možno pridobiti ali če se pri starejših, oslabelih bolnicah odločimo le za hormonsko zdravljenje (4). Pri ponovitvi raka dojke je hormonske receptorje in status onkogenega *HER2* treba ponovno določiti, ker je izražanje hormonskih receptorjev lahko drugačno kot v primarnem tumorju. Tudi status onkogenega *HER2* je ob ponovitvi bolezni lahko drugačen kot v primarnem tumorju (12). Določamo jih na citoloških vzorcih, ker je odvzem vzorca z ABTI v primerjavi z debeloigelnno biopsijo in kirurško biopsijo manj invaziven poseg, ki bolnika manj obremeni, resni zapleti posega pa so izjemno redki.

Druge indikacije za citopatološko preiskavo pri bolnicah z rakom dojke

Citopatološke preiskave ne uporabljamo le v primarni diagnostiki tipnih sprememb v dojki, ampak tudi za oceno razširjenosti raka dojke, napoved uspešnosti zdravljenja in potrditev ponovitve maligne bolezni. Ocena razširjenosti raka dojke je odločilna za načrtovanje specifičnega onkološkega zdravljenja. Zasevke raka v pazdušne bezgavke lahko diagnosticiramo s prostoročno ali UZ-vodeno ABTI pred operacijo ali s pregledom odtisa prve drenažne bezgavke med operacijo. Če je izvid pozitiven, bo kirurg med

operacijo raka dojke odstranil tudi pazdušne bezgavke (4). Ob sumu na progres bolezni med zdravljenjem lahko z ABTI preverimo ali se je tumor povečal zaradi tumorske rasti, nekroze, vnetja ali krvavitve. Pri sumu na ponovitev raka dojke s citopatološko preiskavo potrdimo ali ovržemo klinični sum na ponovitev bolezni in določimo napovedne dejavnike (4).

Napotitev na citopatološko preiskavo

Bolnice s tipnimi spremembami v dojki napotimo na ABTI v najbližjo citološko ambulantno, kjer bo izkušen citopatolog odvzel vzorec z citopatološko preiskavo. Takoj po posegu bo preveril ustreznost vzorca za citopatološko preiskavo, poseg po potrebi ponovil in odvzel material za dodatne imunofenotipske in molekularne preiskave. V Sloveniji največ ABTI tipnih sprememb v dojki naredimo v citološki ambulanti na Onkološkem inštitutu Ljubljana. Za punkcijo se je treba naročiti po telefonu (01 5879 080) vsak delovni dan med 10. in 12. uro. Bolniku je treba izdati napotnico s stopnjo nujnosti zelo hitro. Čakalna doba na poseg je največ 14 delovnih dni. V ambulanti za citološke punkcije UZ-vodenih punkcij ne opravljamo, zato je pri napotitvi bolnikov treba paziti, da je napotitev pravilna. UZ-vodene punkcije izvajajo na zato usposobljenih oddelkih za radiologijo. Bolniki se morajo za UZ-vodeno punkcijo naročiti na oddelku za radiologijo.

Literatura

1. Pinamonti M, Zanconaty. Breast cytopathology. Assessing the value of FNAC in the diagnosis of breast lesions. Basel: Krager S, 2017
2. Tse G, Hoon Tan P, Schmitt F. Fine Needle aspiration of the breast. Atlas of cyto-histologic correlation. Berlin Heidelberg: Springer –Verlag, 2013.
3. Kocjan G, Bourgain C, Fassina A, Hagmar B, Herbert A, Kapila K, Kardun-Skelin I, Kloboves-Prevodnik V, Kirshnamurthy S, Koutselini HMAjak B, Onal B, Pohar- Marinsek Z, Shabalova I, Smith J, Tani E, Vielh P, Wiener H, Schenk U, Schmitt F. The role of breast FNAC in diagnosis and clinical management: a survey of current practice. *Cytopathology* 2008; 19(5): 271-8.

4. Blatnik A, Perhavec A, Gazić B, Vidergar Kralj B, Matos E, Ratoša I, Žgajnar J, Hertl K, Hočevar M, Krajc M, Bešič N, Borštnar S, Paulin Košir S, Marinko T, Klopčič U. Smernice diagnostike in zdravljenja raka dojk. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana, 2021 (<https://www.onko-i.si/priporocila>).
5. Yu JH, Wei W, Liu JL. Diagnostic value of fine-needle aspiration biopsy of breast mass: a systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer* 2012; 12:41.
6. Wang M, He X, Chang Y, Sun G, Thabane L. A sensitivity and specificity comparison of fine needle aspiration cytology and core needle biopsy in evaluation of suspicious breast lesions: A systematic review and meta-analysis. *The breast* 2017; 31: 157-166.
7. Nassar A. Core Needle Biopsy Versus Fine Needle Aspiration Biopsy in Breast-A Historical Perspective and Opportunities in the Modern Era. *Diagn Cytopathology* 2011; 39(5):380-8.
8. European Guidelines for Breast Cancer Screening and Diagnosis. European comission 2022 <https://healthcare-quality.jrc.ec.europa.eu/ecibc/european-breast-cancer-guidelines>
9. Gupta RK, Simpson J, Dowle C. The role of cytology in the diagnosis of Paget's disease of the nipple. *Pathology* 1996; 28(3), 248-50.
10. Us-Krašovec M, Pogačnik A. Kaj je patološki izcedek iz dojke? Kaj naj s tem simptomom storimo? *Onkologija* 1997: 1 (1); 25-26.
11. Field AS, Raymond WA, Rickard M, Arnold L, Brachtel EF, Chaiwun B, Chen L, Di Bonito L, Kurtycz DFI, Lee AHS, Lim E, Ljung BM, Michelow P, Osamura RY, Pinamonti M, Sauer T, Segara D, Tse G, Vielh P, Chong PY, Schmitt F. The International Academy of Cytology Yokohama System for Reporting Breast Fine Needle Aspiration Breast Cytopathology. *Acta Cytol* 2019; 63(4): 257-73.
12. Rossi S, Basso M, Strippoli A, Dadduzio V, Cerchiaro E, Barile R, D'Argento E, Cassano A, Schinzari G, Barone C. Hormone Receptor Status and HER2 Expression in Primary Breast Cancer Compared With Synchronous Axillary Metastases or Recurrent Metastatic Disease. *Clin Breast Cancer* 2015; 15 (5): 307-12.