

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

PATRICIJA PERNAT

**POGOSTOST IN KLINIČNI POMEN ATIPIČNIH ŽLEZNIH CELIC V BRISIH
MATERNIČNEGA VRATU PREGLEDANIH NA ODDELKU ZA PATOLOGIJO
UNIVERZITETNEGA KLINIČNEGA CENTRA MARIBOR**

**FREQUENCY AND CLINICAL SIGNIFICANCE OF ATYPICAL GLANDULAR
CELLS IN THE CERVICAL SMEARS EXAMINED AT THE DEPARTMENT OF
PATHOLOGY, UNIVERSITY CLINICAL CENTRE MARIBOR**

LABORATORIJSKA BIOMEDICINA

Ljubljana, 2015

Magistrsko nalogo sem opravljala na Oddelku za patologijo, v Laboratoriju za pregledovanje BMV, UKC Maribor, pod mentorstvom prof. dr. Joška Osredkarja, spec. med. biokem., višji svetnik in somentorstvom prim. doc. dr. Alenke Repše Fokter, dr. med., spec. citopatologije.

ZAHVALA

Iskrena hvala mentorju in somentorici za vse sugestije pri usmerjanju naloge. Hvala Vam za ves trud.

Za strokovno vodenje, nasvete in pomoč pri izdelavi magistrske naloge se iskreno zahvaljujem somentorici prim. doc. dr. Alenki Repše Fokter, dr. med., spec. citopatologije. Zahvalo pa dolgujem tudi svoji družini, ki mi je ves čas stala ob strani, me podpirala in spodbujala.

Zahvalila bi se rada tudi vsem tistim, ki so mi kakorkoli pomagali pri izdelavi naloge, ga. Mojci Florjančič, DP ZORA ter mojim sodelavkam v Laboratoriju za pregledovanje BMV, UKC Maribor, za vse nasvete in pomoč pri izdelavi naloge. HVALA.

IZJAVA

Izjavljam, da sem magistrsko delo samostojno izdelala pod mentorstvom prof. dr. Joška Osredkarja, spec. med. biokem., višji svetnik in somentorstvom prim. doc. dr. Alenke Repše Fokter, dr. med., spec. citopatologije.

Mentor magistrske naloge: prof. dr. Joško Osredkar, spec. med. biokem., višji svetnik

Somentorica magistrske naloge: prim. doc. dr. Alenka Repše Fokter, dr. med., spec. citopatologije.

Predsednik magistrske komisije: izr. prof. dr. Iztok Grabnar

Član magistrske komisije: doc. dr. Bojan Doljak

KAZALO VSEBINE

1. UVOD	1
1. 1 INCIDENCA IN UMRLJIVOST ZA RAKOM NA MATERNIČNEM VRATU.....	1
1.2 DRŽAVNI PROGRAM ZGODNJEGA ODKRIVANJA PREDRAKAVIH SPREMEMB MATERNIČNEGA VRATU – ZORA	2
1. 3 CITOLOŠKA KLASIFIKACIJA SPREMEMB NA MATERNIČNEM VRATU PO BETHESDI	3
1.3.1 NENEOPLASTIČNO SPREMENJENE ŽLEZNE CELICE	6
1.3.2 PATOLOŠKO SPREMENJENE ŽLEZNE CELICE V BRISIH MATERNIČNEGA VRATU.....	7
1. 4 POMEN HISTOLOŠKE DIAGNOSTIKE IN HISTOLOŠKA KLASIFIKACIJA RAKAVIH IN PREDRAKAVIH SPREMEMB NA MATERNIČNEM VRATU.....	10
1.4.1 HISTOLOŠKA KLASIFIKACIJA SPREMEMB NA PLOŠČATEM EPITELU	10
1.4.2 HISTOLOŠKA KLASIFIKACIJA SPREMEMB NA ŽLEZNEM EPITELU.....	11
1.5 OBRAVNAVA PREISKOVANK Z ATIPIČNIMI ŽLEZNIMI CELICAMI	15
1.5.1 KOLPOSKOPIJA IN BIOPSIJA.....	16
2. NAMEN DELA	17
2.1 DELOVNE HIPOTEZE.....	18
3. MATERIALI IN METODE	19
3.1 BRISI MATERNIČNEGA VRATU ZA CITOLOŠKI PREGLED	19
3.1.1 ODVZEM BMV.....	19
3. 1. 2 FIKSACIJA BMV.....	19
3. 1. 3 BARVANJE BMV.....	20
3. 1. 4 OCENJEVANJE BMV	20
3.2 PREISKOVANKE	21
3.3 PRIMARNO PRESEJANJE	22
3.4 OPREDELITEV KLINIČNO POMEMBNIH IN MANJ POMEMBNIH DIAGNOZ	22
3.5 USKLAJENOST CITOPATOLOŠKIH OCEN S SEDANJO KLASIFIKACIJO	23
3.6 SKLADNOST CITOLOŠKIH OCEN S HISTOLOŠKO DIAGNOZO.....	24
3.7 STATISTIČNE METODE.....	24
4. REZULTATI	25
4.1 POGOSTOST PATOLOŠKO SPREMENJENIH ŽLEZNIH CELIC.....	25
4.2 ZANESLJIVOST CITOLOGIJE PRI ODKRIVANJU ŽLEZNIH SPREMEMB V BMV	28

4.3 POGOSTOST KLINIČNO POMEMBNIH IN KLINIČNO MANJ POMEMBNIH DIAGNOZ	33
4.4 VPLIV STAROSTI PREISKOVANK NA SPREMEMBE ŽLEZNIH CELIC.....	34
5. DISKUSIJA	37
5.1 POGOSTOST PATOLOŠKO SPREMENJENIH ŽLEZNIH CELIC.....	37
5.1.1 ATIPIČNE ŽLEZNE CELICE.....	38
5.2 PRIMERJAVA CITOLOŠKIH DIAGNOZ S HISTOLOŠKO PREISKAVO.....	39
5.2.1 HISTOLOŠKE DIAGNOZE PRI PREISKOVANKAH Z AŽC-N V BMV.....	39
5.2.2 HISTOLOŠKE DIAGNOZE PRI PREISKOVANKAH S HUDO ATIPIJO ŽLEZNIH CELIC/AIS.....	41
5.2.3 HISTOLOŠKE DIAGNOZE PRI PREISKOVANKAH S INVAZIVNIM ADENOKARCINOMOM.....	42
5.3 KLINIČNI POMEN PATOLOŠKO SPREMENJENIH ŽLEZNIH CELIC	44
5.4 VPLIV STAROSTI PREISKOVANK NA PREDRAKAVE IN RAKAVE SPREMEMBE PLOŠČATIH IN ŽLEZNIH CELIC V BRISIH MATERNIČNEGA VRATU.....	46
6. SKLEP.....	48
7. LITERATURA	49

KAZALO SLIK

Slika 1: Loparček po Ayeru (A) in krtačka za odvzem BMV (B).....	19
Slika 2: Ploščati in žlezni epitel (Papanicolaou, 40x)	20
Slika 3: Transformacijska cona cerviksa	21
Slika 4: Delež vseh patoloških sprememb na žleznih celicah (AŽC-N, AŽC-VN/AIS, A-CA) v posameznem opazovanem obdobju.....	26
Slika 5: Trend pogostosti ocen atipične žlezne celice, hudo atipične žlezne celice/AIS, invazivnega adenokarcinoma in vse patološko spremenjene žlezne celice v obdobju od 2008 do 2012.....	26
Slika 6: Primerjava našega deleža BMV s patološko spremenjenimi žleznimi celicami s slovenskim povprečjem, s SB Celje in OI Ljubljana.	27
Slika 7: Negativni histološki izvidi pri preiskovankah s citološko diagnozo AŽC-N.....	30
Slika 8: Delež histološko dokazanih žleznih sprememb v posameznem opazovanem obdobju (p=0,0022).....	32
Slika 9: Delež histološko dokazanih patoloških sprememb na ploščatem in žlezem epitelu pri preiskovankah s patološko spremenjenimi žleznimi celicami v BMV.	32

KAZALO TABEL

Tabela I: Incidenca in incidenčna stopnja RMV od leta 2003 do 2012	2
Tabela II: Citološka klasifikacija BMV po Bethesda	5
Tabela III: Histološka klasifikacija ploščatih tumorjev in predrakavih sprememb materničnega vratu-WHO klasifikacija.	11
Tabela IV: Histološka klasifikacija žlezni tumorjev in predrakavih sprememb materničnega vratu, ki jo je izdala WHO.....	15
Tabela V: Razdelitev histoloških izvidov na klinično pomembne in manj pomembne diagnoze....	23
Tabela VI: Usklajene citopatološke ocene, ki smo jih uporabljali za ocenjevanje patološko spremenjenih žlezni celic od 2008 do 2012	23
Tabela VII: Število in delež patološko spremenjenih žlezni celic v obdobju od 2008 do 2012.....	25
Tabela VIII: Delež BMV s patološko spremenjenimi žlezni celicami v Sloveniji, UKC Maribor, SB Celje in na OI Ljubljana.	27
Tabela IX: Število in delež BMV z žlezni spremembami in s histološkim izvidom med leti 2008 in 2012.....	28
Tabela X: Histopatološke diagnoze pri preiskovankah s citološko diagnozo AŽC-N v BMV.....	29
Tabela XI: Histopatološke diagnoze pri preiskovankah s citološko diagnozo AŽC-VN/AIS.	30
Tabela XII: Histopatološke diagnoze pri preiskovankah s citološko diagnozo adenokarcinom.	31
Tabela XIII: Število in delež histološko dokazanih patoloških žlezni sprememb.....	31
Tabela XIV: Klinično pomembne in manj pomembne histološke diagnoze pri preiskovankah z AŽC-N.....	33
Tabela XV: Klinično pomembne in manj pomembne histološke diagnoze pri preiskovankah z AŽC-VN/AIS ter A-CA.	33
Tabela XVI: Maligni tumorji pri preiskovankah s patološko spremenjenimi žlezni celicami.....	34
Tabela XVII: Povprečna starost preiskovank s klinično pomembnimi in manj pomembnimi histološkimi diagnozami	35
Tabela XVIII: Povprečna starost preiskovank s klinično pomembnimi histološkimi diagnozami. .	35
Tabela XIX: Povprečna starost preiskovank s spremembami na ploščatih in žlezni celicah.....	36

POVZETEK

Uvod:

S citološkim pregledom brisa materničnega vratu (BMV) odkrivamo predrakave in rakave spremembe na materničnem vratu ter spremljamo preiskovanke, ki so zaradi takih sprememb že bile zdravljene. V Sloveniji pri citološkem pregledu BMV uporabljamo klasifikacijo po Bethesda, ki med drugim vsebuje tudi diagnostično kategorijo »atipične žlezne celice«. Večino bolezenskih sprememb v BMV odkrijemo na ploščatih celicah, zato imajo citologi v prepoznavanju le-teh ustrezno znanje in bogatejše izkušnje kot pri ocenjevanju sprememb na žlezni celicah.

Namen dela:

Z retrospektivno analizo citoloških izvidov BMV smo želeli ugotoviti 1. zanesljivost citologije pri odkrivanju predrakavih in/ali rakavih sprememb na žlezni epitelu, 2. ugotoviti, kakšen je bil delež citopatoloških ocen atipične žlezne celice, huda atipija žlezni celic/adenokarcinom in situ in invazivni adenokarcinom ter 3. ugotoviti vpliv starosti žensk na spremembe žlezni celic v Laboratoriju za pregledovanje BMV Oddelka za patologijo v UKC Maribor v letih od 2008 do vključno 2012. Pri preiskovankah, ki so imele na osnovi citološkega izvida (atipične žlezne celice, huda atipija žlezni celic, adenokarcinom) opravljeno patohistološko preiskavo, smo analizirali histološke izvide, rezultate primerjali s citološkimi izvidi in v primerih neujemanja skušali ugotoviti vzroke le-tega.

Materiali in metode:

Iz Registra državnega programa ZORA smo dobili seznam 594 preiskovank pri katerih smo na Oddelku za citopatologijo UKC Maribor v pet-letnem obdobju od 2008 do 2012 ocenili, da so v brisih materničnega vratu prisotne patološko spremenjene žlezne celice (atipične žlezne celice, huda atipija žlezni celic/adenokarcinom in situ ali invazivni adenokarcinom). Nato smo opredelili delež BMV s citopatološko oceno atipične žlezne celice, neopredeljene, atipične žlezne celice, verjetno neoplastične in invazivni adenokarcinom.

Pri preiskovankah brez histološkega izvida smo analizirali kontrolne brise, ki so sledili citopatološki oceni atipične žlezne celice. Preiskovanke z znanim histološkim izvidom smo razdelili na tiste, ki niso imele klinično pomembnih patoloških sprememb in tiste, pri katerih so bile spremembe tako hude, da je bilo potrebno nadaljnje zdravljenje. Opredelili

pa smo tudi vpliv starosti preiskovank na klinično pomembne in klinično manj pomembne diagnoze.

Rezultati:

V obdobju od leta 2008 do 2012 smo na Oddelku za patologijo, v Laboratoriju za pregledovanje BMV, UKC Maribor pri presejanju BMV le v 0,46 % vzorcev ocenili patološko spremenjene žlezne celice. Pogostost patološko spremenjenih žlezni celic se je v tem obdobju statistično značilno zmanjšala iz 0,69 % na 0,33 % ($p < 0,0001$). Delež histološko dokazanih patoloških sprememb na žlezni celicah je v petletnem opazovanem obdobju naraščal, in sicer iz 8,5 % na 23,4 % ($p = 0,0022$).

Pri 30 % preiskovank, ki so imele bris ocenjen kot patološko spremenjene žlezne celice, je histološka preiskava potrdila predrakave/rakave spremembe na ploščatem epitelu. Pri preiskovankah s citološko oceno atipične žlezne celice, neopredeljene in opravljeno tkivno biopsijo smo odkrili klinično pomembne spremembe v 23,8 %, pri preiskovankah s citološko oceno atipične žlezne celice, verjetno neoplastične/adenokarcinom in situ, invazivni adenokarcinom pa kar v 82,3 %. Povprečna starost preiskovank s histološko potrjenimi žlezni spremembami je bila 57,7 let, preiskovank s ploščatoceličnimi spremembami pa 43,6 let. Razlika v letih je statistično značilna ($p < 0,001$).

Zaključki:

Pogostost patološko spremenjenih žlezni celic se je v pet-letnem obdobju statistično značilno zmanjšala. Zanesljivost odkrivanja predrakavih in/ali rakavih sprememb na žlezni celicah je bila na začetku opazovanega obdobja relativno nizka nato pa je z leti naraščala. Med BMV, ki so bili citološko ocenjeni kot atipične žlezne celice različnih stopenj smo našli večji delež histološko dokazanih patoloških sprememb na ploščatem epitelu kot na žlezni epitelu. V BMV s patološko spremenjenimi žlezni celicami smo s histološko preiskavo našli velik delež klinično pomembnih diagnoz, kar je pomembno za nadaljnjo obravnavo preiskovank. Ugotovili smo, da starost ne vpliva na razvoj klinično pomembnih in manj pomembnih diagnoz. Spremembe na žlezni celicah so se pogosteje pojavljale pri starejših preiskovankah, spremembe na ploščatih celicah pa pri mlajših preiskovankah.

SEZNAM OKRAJŠAV

A-CA	invazivni adenokarcinom
AIS	adenokarcinom in situ
APC-N	atipične ploščate celice, neopredeljene
APC-VS	atipične ploščate celice, pri katerih ne moremo izključiti PIL-VS
AŽC-N	atipične žlezne celice, neopredeljene
AŽC-VN	atipične žlezne celice, verjetno neoplastične
BMV	bris materničnega vratu
CIN 1	cervikalna intraepitelijska neoplazija nizke stopnje
CIN 2, 3	cervikalna intraepitelijska neoplazija visoke stopnje
H-CGIN	cervikalna žlezna intraepitelijska neoplazija visoke stopnje
HPV	humani papiloma virus
L-CGIN	cervikalna žlezna intraepitelijska neoplazija nizke stopnje
P-CA	ploščatocelični karcinom
PIL-NS	ploščatocelična intraepitelijska lezija nizke stopnje
PIL-VS	ploščatocelična intraepitelijska lezija visoke stopnje
PSŽC	patološko spremenjene žlezne celice
RMV	rak materničnega vratu
WHO	World Health Organization

1. UVOD

1.1 INCIDENCA RAKA MATERNIČNEGA VRATU

Rak materničnega vratu (RMV) je posledica okužbe s humanim papiloma virusom (HPV), ki lahko zdrave celice transformira v maligne. Te spremembe celic navadno potekajo počasi in postopoma več let. V tem času se zdrave celice najprej transformirajo v predrakave, katere se ne vraščajo v sosednja tkiva, ne metastazirajo in se še delijo nadzorovano. Če pa teh predrakavih celic ne zdravimo, se iz njih lahko postopoma razvije RMV. Človeški papilomavirusi so heterogena skupina virusov, ki so povezani z nastankom številnih benignih in malignih tumorjev ploščatega epitela. Dvanajst onkogenih genotipov HPV je odgovornih za nastanek več kot 99 % raka materničnega vratu, 84 % raka zadnjika, 70 % raka nožnice, 47 % raka penisa, 40 % raka vulve ter 28 % raka ustnega dela žrela. Nasprotno je 12 neonkogenih genotipov HPV odgovornih za nastanek več kot 95 % genitalnih bradavic in ploščatoceličnih papilomov grla (1, 2, 3, 4, 5, 6).

RMV je bolezen, ki jo je mogoče s presejanjem najbolj učinkovito obvladati. Cilj presejanja je doseči zadosten delež pregledanosti žensk (vsaj 70 %) in redno pregledovanje BMV vsaka tri leta. Tako lahko zmanjšamo incidenco RMV do 80 % (7).

V svetu je RMV četrti najpogostejši rak pri ženskah. V letu 2012 je v svetu za RMV zbolelo 14,0/100.000 žensk in umrlo 6,8/100.000 žensk. Incidenca RMV je najvišja v državah kot so Malezija, srednja in južna Amerika, Azija in srednja in južna Afrika (8). V Evropi je RMV sedmi najpogostejši rak pri ženskah. V Sloveniji je RMV 10. najpogostejši rak pri ženskah. Leta 2012 je v Sloveniji po zadnjih podatkih Registra raka Republike Slovenije zbolelo 118 žensk, kar pomeni, da se je incidenca zmanjšala za skoraj polovico (45 %) in sicer iz 211 zbolelih žensk leta 2003 na 118 zbolelih žensk leta 2012 (tabela I), kar je velik uspeh za Evropo. Prav tako se manjša tudi umrljivost za rakom na materničnem vratu. Umrljivost se v zadnjih letih povprečno zmanjšuje okoli 2 % na leto. Za RMV letno v Sloveniji umre okoli 40-50 žensk (9, 10, 11, 12).

Tabela I: Incidenca in incidenčna stopnja RMV od leta 2003 do 2012

LETO	INCIDENCA (število novih primerov)	Število novih primerov/100.000 (groba stopnja incidence)	Starostno standardizirana incidenčna stopnja (svetovni standard)
2012	118	11, 4	7, 7
2011	142	13, 7	9, 0
2010	142	13, 7	9, 4
2009	131	12, 7	8, 8
2008	130	12, 6	8, 8
2007	154	15, 0	10, 5
2006	162	15, 8	11, 3
2005	182	17, 8	12, 7
2004	198	19, 4	13, 7
2003	211	20, 7	15, 3

Najpogostejši histološki tip RMV je ploščatocelični karcinom, ki predstavlja kar 75% vseh RMV. Po podatkih International Agency for Research on Cancer se približno $\frac{3}{4}$ rakavih sprememb pojavlja na ploščatem epitelu, 10-15% rakavih sprememb na žlezem epitelu. Manj pogosti histološki tipi karcinomov so adenoskvamozni karcinomi, adenoidno cistični karcinomi, adenoidno bazalni karcinomi in nediferencirani karcinomi (13, 14).

V zadnjem desetletju v številnih državah po svetu, kot so Anglija, Avstralija, Norveška, Švedska, Japonska itd. opažajo povečano incidenco adenokarcinoma predvsem pri ženskah mlajših od 40 let (13).

1.2 DRŽAVNI PROGRAM ZGODNJEGA ODKRIVANJA PREDRAKAVIH SPREMENB MATERNIČNEGA VRATU – ZORA

Leta 2003 smo v Sloveniji vzpostavili organiziran presejalni državni program zgodnjega odkrivanja predrakavih/rakavih sprememb materničnega vratu (ZORA). Namen programa ZORA je v Sloveniji zmanjšati incidenco in umrljivost za rakom na materničnem vratu. Cilj programa je doseči, da bo vsaj 70 % žensk starih od 20 do 64 let enkrat na tri leta

prišlo na ginekološki pregled in odvzem brisa materničnega vratu. Od leta 2009-2012 je pri nas stopnja pregledanosti 71,3 % (7).

Na Onkološkem inštitutu Ljubljana je z uvedbo programa ZORA začel delovati tudi koordinacijski center s centralnim informacijskim sistemom, Register ZORA. Vsi podatki o izvidih brisov materničnega vratu in o izvidih histoloških biopsij se mesečno zbirajo v Registru ZORA. Register ZORA je povezan tudi s Centralnim registrom prebivalstva in Registrom prostorskih enot. Na ta način lahko Register ZORA spremlja stopnjo pregledanosti žensk starih med 20-64 let, ter prepoznavo tistih žensk, ki v zadnjih treh letih nimajo odvzetega BMV.

Pomembna naloga Registra ZORA je tudi priprava in izdaja strokovnih smernic za posamezna področja. Največ pozornosti je bilo na začetku posvečene citopatološki dejavnosti. V programu ZORA ima citologija najbolj dodelan sistem za zagotavljanje in nadzor kakovosti npr. enotna citološka napotnica, centralno zbiranje podatkov v Registru ZORA, standardni operativni postopki za delo v citopatoloških laboratorijih, revizije BMV tistih žensk, ki so na novo zbolele za RMV in redna izobraževanja (7).

1.3 CITOLOŠKA KLASIFIKACIJA SPREMEMB NA MATERNIČNEM VRATU PO BETHESDI

Glavni cilj ocenjevanja sprememb v BMV je odkriti spremembe, ki so predstopnja raka. Zato moramo dobro poznati spremembe, ki bi lahko brez zdravljenja vodile v rak materničnega vratu. Za dobro diagnostiko moramo uporabljati klasifikacijo, ki razlikuje benigne spremembe od patoloških.

Leta 2006 je bila na področju ginekološke citopatologije opuščena stara klasifikacija po Papanicolaou in sprejeta nova modificirana klasifikacija po Bethesda. V letu 2011 je bila v citologiji dokončno sprejeta izvorna klasifikacija po Bethesda 2001, ki jo uporabljajo tudi v ZDA in se vse bolj uveljavlja tudi v Evropi (tabela II). Razlog za uvedbo klasifikacije po Bethesda v Sloveniji je predvsem poenotenje in primerljivost rezultatov z mednarodnimi (15).

Po novi klasifikaciji po Bethesda BMV razdelimo v dve glavni skupini in sicer na **negativen bris** in **patološki bris**. V skupini **negativen bris** sta še podskupini normalen bris in neneoplastične spremembe (16, 17).

NEGATIVEN BRIS

Bris materničnega vratu ocenimo kot *normalen*, kadar je v njem prisotnih dovolj celic ploščatega epitela, endocervikalne žlezne celice in/ali metaplastične celice. V prvi polovici menstruacijskega cikla v BMV lahko najdemo tudi odluščene endometrijske celice.

Med *neneoplastične spremembe* prištevamo benigne spremembe celic, ki pa ne pomenijo povečanega tveganja za razvoj novotvorbe. V to skupino uvrščamo vnetje, folikularni cervicitis, regeneracijo, tubarno metaplazijo, endometrijske celice po 40. letu starosti, vpliv kemoterapije, hiper- in parakeratozo, žlezne celice po histerektomiji, mehanski vpliv materničnega vložka in drugo (16, 17).

PATOLOŠKI BRIS

Patološke spremembe na ploščatih celicah delimo v pet skupin: atipične ploščate celice, neopredeljene (APC-N); atipične ploščate celice, pri katerih ni mogoče izključiti ploščatocelične intraepitelijske lezije (PIL) visoke stopnje (APC-VS); blago diskariotične celice (PIL nizke stopnje); zmerno/hudo diskariotične celice (PIL visoke stopnje) in ploščatocelični karcinom (P-CA).

Patološke spremembe na žleznih celicah delimo v štiri skupine: atipične žlezne celice, neopredeljene (AŽC-N); atipične žlezne celice, verjetno neoplastične (AŽC-VN); endocervikalni adenokarcinom in situ (AIS) in adenokarcinom (A-CA). V primeru, da so v brisu prisotne atipične žlezne celice moramo določiti njihovo poreklo (endocervikalne, endometrijske, metastatske ali neopredeljene) (15, 17).

Tabela II: Citološka klasifikacija BMV po Bethesda

NEGATIVEN BRIS	
NORMALEN BRIS	NE-NEOPLASTIČNE SPREMEMBE
<i>Normalne ploščate celice</i>	<i>Vnetje</i>
<i>Normalne metaplastične celice</i>	<i>Regeneracija</i>
<i>Normalne endocervikalne celice</i>	<i>Hiper/parakeratoza</i>
<i>Normalne endometrijske celice</i>	<i>Mehanski vpliv IUD</i>
<i>Atrofija</i>	<i>Žlezne celice po histerektomiji</i>
	<i>Vpliv terapije</i>
	<i>Endometrijske celice po 40. letu starosti</i>
	<i>Tubarna metaplazija</i>
	<i>Folikularni cervicitis</i>
	<i>Drugo</i>
PATOLOŠKI BRIS	
PATOLOŠKE SPREMEMBE PLOŠČATIH CELIC	PATOLOŠKE SPREMEMBE ŽLEZNIH CELIC
<i>Atipične ploščate celice, neopredeljene</i>	<i>Atipične žlezne celice, neopredeljene</i>
<i>Atipične ploščate celice, ni mogoče izključiti PIL visoke stopnje</i>	<i>Atipične žlezne celice, verjetno neoplastične</i>
<i>PIL nizke stopnje (blago diskariotične celice)</i>	<i>Endocervikalni adenokarcinom in situ</i>
<i>PIL visoke stopnje (zmerno/hudo diskariotične celice)</i>	<i>Adenokarcinom</i>
<i>Ploščatocelični karcinom</i>	<i>Poreklo žleznih celic:</i>
	<i>Endocervikalne</i>
	<i>Endometrijske</i>
	<i>Metastatske</i>
	<i>Neopredeljene</i>

1.3.1 NENEOPLASTIČNO SPREMENJENE ŽLEZNE CELICE

Reaktivno spremenjene endocervikalne žlezne celice

V brisu se reaktivne endocervikalne žlezne celice pojavljajo v enoplastnih skupinah ali krpah, vendar z odsotnostjo prekrivanja jeder, stratifikacije in perjenja. Ohranjena je tudi polarnost celic. Prisotna so okroglo do ovalna jedra, ki so lahko povečana od 1-2 krat glede na normalno velikost jeder intermediarnih ploščatih celic. Občasno opazimo tudi večjedrnost. Prisotna je lahko blaga hiperkromazija jeder s fino granuliranim kromatinom in prominentnimi jedrci. Citoplazma je bleda, obilna in lahko vakuolizirana. Jedrno citoplazmatsko razmerje je ohranjeno. Reaktivne žlezne celice v brisu najpogosteje najdemo pri vnetju ali po poškodbi tkiva (15, 16, 18, 19).

Reaktivne spremembe žlezni celic pri materničnem vložku (IUD)

Maternični vložek zaradi mehanskega draženja povzroča izrazite reaktivne spremembe tako žleznega kot ploščatega epitela. Žlezne celice so lahko prisotne posamezno ali v skupinah, ponavadi od 5 do 15 celic. Ozadje brisa je čisto. Prisotne so posamezne celice s povečanimi jedri in visokim jedrnim citoplazmatskim razmerjem. V jedrih so lahko prisotni prominentni nukleoli. Citoplazma je pičla, vakuolizirana in pogosto vakuole v citoplazmi potisnejo jedra na rob celice in ustvarijo videz pečatnic. Razlikovanje med spremembami, ki so nastale zaradi materničnega vložka in adenokarcinomom je težko. Zato je pomembno, da je na napotnici napisan podatek o vstavljenem materničnem vložku (15, 16).

Tubarna metaplazija

Tubarna metaplazija je benigna, neneoplastična zamenjava normalnega endocervikalnega (ali endometrijskega) epitela s celicami s cilijami, sekretornimi celicami in peg celicami. Tubarna metaplazija je bolj izrazita v zgornji tretjini endocervikalnega kanala. Zaradi povečane uporabe krtačke za vzorčenje endocerviksa, tubarno metaplazijo v brisu dokaj pogosto najdemo. V BMV, ki vsebujejo tubarno metaplazijo najdemo endocervikalne celice v majhnih skupinah, ki so pogosto nagnetene. Jedra so povečana, okrogla ali ovalna, pleomorfna in pogosto hiperkromna. Kromatin je enakomerno porazdeljen in jedrca so pogosto nevidna. Jedrno citoplazmatsko razmerje je nekoliko porušeno v korist jedra.

Citoplazma je lahko drobno vakuolizirana. Značilna je tudi prisotnost cilij in/ali terminalne plošče, vendar posamezne celice s cilijami ne zadostujejo za določitev tubarne metaplazije (15, 16, 18).

Endometrijske žlezne celice po 40. letu starosti

Spontano odlučene endometrijske celice lahko normalno in pogosto vidimo v brisih, odvzetih med proliferativno fazo menstruacijskega cikla. Kadar pa endometrijske celice vidimo v brisu pri postmenopavzalnih ženskah ali izven proliferativne faze, so lahko znanilec endometrijskega karcinoma. Spontano odlučene endometrijske celice se pojavljajo običajno o obliki tridimenzionalnih kroglic, redkeje pa kot posamezne celice. Jedra endometrijskih celic so majhna, okrogla, približno tako velika kot jedra intermediarnih celic. Kromatin jeder je pogosto težko razločiti, jedrca so neopazna. Citoplazma je bazofilna, skopa in občasno vakuolizirana. Celične meje so slabo opredeljene (15).

Endometrijske celice lahko najdemo v BMV tudi, kadar je bris odvzet s krtačko iz spodnjega uterinega segmenta. Vzorec iz spodnjega uterinega segmenta je sestavljen iz endometrijskih stromalnih celic, endometrijskih žleznih celic, ki tvorijo tubule ali razvejane žleze, in iz histiocitov. Globoke stromalne celice imajo okrogla do ovalna jedra, obdana z zelo malo citoplazme (15, 16).

1.3.2 PATOLOŠKO SPREMENJENE ŽLEZNE CELICE V BRISIH MATERNIČNEGA VRATU

Pri pregledu brisa materničnega vratu včasih najdemo tudi žlezne celice z atipičnimi spremembami. Atipijo žleznega epitela določimo pri celicah, pri katerih so vidne spremembe na jedrih, ki so bolj izražene kot pri reaktivnih spremembah, vendar niso maligne. Atipične žlezne celice v BMV niso pogoste. Po podatkih iz literature so atipične žlezne celice prisotne v 0,1 - 2,5 % vseh brisov (20, 21, 22, 23). Glede na najnovejše podatke je delež odkritih patoloških sprememb (CIN 2, 3, AIS, ali invazivni karcinom) pri ženskah z atipičnimi žleznimi spremembami 9-38 % (24).

Čeprav AŽC ne pomenijo končne diagnoze bolezni, pa lahko pomenijo utemeljen sum na intraepitelijsko lezijo visoke stopnje ali celo karcinom vratu ali telesa maternice. Ob takem

izvidu mora zato ginekolog nadaljevati z diagnostičnimi posegi, ker bo le tako lahko izključil ali potrdil prisotnost pomembnih patoloških sprememb. Spremembe na žlezni celicah so redka sprememba v BMV, ki je zaradi visokega deleža klinično pomembnih diagnoz terapevtsko in prognozično pomembna.

V novi klasifikaciji poskušamo ob spremembah žlezni celic ugotoviti, ali so endocervikalne ali endometrijske. Benigne ali maligne endometrijske žlezne celice so v brisu redkost. Pojav teh celic v BMV je lahko kazalec napredovale endometrijske spremembe. V nekaterih študijah pa so patološke endometrijske celice in pa histiociti zgodnji napovedni dejavnik karcinoma še pred kliničnimi znaki (15).

Atipične žlezne celice, neopredeljene (AŽC-N)

Atipične žlezne celice kažejo jedro atipijo, ki presega očitne reaktivne ali reparativne spremembe, vendar celice nimajo lastnosti endocervikalnega adenokarcinoma in situ ali invazivnega adenokarcinoma. Celice se pojavljajo v skupinah ali trakovih, kjer se jedra nekoliko prekrivajo in nalagajo. Jedra so lahko povečana od 3 do 5 krat glede na jedra normalnih endocervikalnih celic. Jedra so lahko različnih oblik in velikosti. Pogosto je vidna blaga hiperkromazija, mitoze so redke. Citoplazma je lahko dokaj obilna, toda jedro citoplazmatsko razmerje je povečano. Celične meje so vidne (15, 16).

Atipične žlezne celice, verjetno neoplastične (AŽC-VN)

Tukaj morfologija atipičnih žlezni celic spominja na endocervikalni AIS, vendar niso izpolnjeni vsi morfološki kriteriji ali pa je spremenjenih celic premalo, da bi lahko postavili diagnozo AIS. Patološko spremenjene žlezne celice se pojavljajo v skupinah ali trakovih, kjer se jedra nalagajo in prekrivajo. Jedro citoplazmatsko razmerje je povečano v korist jedra, količina citoplazme je zmanjšana in celične meje so slabo opredeljene. Jedra so povečana, podolgovata, hiperkromna, jedrni kromatin je zrnat. Občasno lahko vidimo mitoze (15, 19).

Atipične endometrijske celice

Atipične endometrijske celice se pojavljajo v majhnih skupinah, navadno 5-10 celic na skupino. Njihova jedra pa so nekoliko povečana v primerjavi z normalnimi endometrijskimi celicami. Vidna je lahko blaga hiperkromazija in prisotni so lahko majhni nukleoli. Pičla citoplazma je navadno slabo omejena, vakuolizirana. V citoplazmi lahko

vidimo tudi fagocitirane granulocite. Za atipične endometrijske celice nimamo posebne kategorije, zato jih običajno uvrstimo v AŽC-N ali AŽC-VN in v rubriki »poreklo« označimo endometrijske celice (15, 16, 19).

Endocervikalni adenokarcinom in situ (AIS)

Endocervikalni adenokarcinom in situ je omejen na žleze, ni invazije v okolno stromo. V BMV moramo biti pozorni predvsem na urejanje celic. Celice se urejajo v krpe, neurejene tridimenzionalne skupine, trakove in niso več urejene v obliki satovja. Posamezne žlezne celice so izrazito visokoprizmatske. V številnih skupinah celic opazimo rozete, žlezne odprtine in perjenje. Citoplazma je bleda, pičla, lahko drobno vakuolizirana. Jedra so povečana, različno velika, hiperkromna, ovalna ali podolgovata in stratificirana. Značilen je enakomerno porazdeljen in grobo zrnat kromatin. Prisotne so mitoze in apoptotska telesca. Jedrca so običajno majhna ali neopazna. Jedrno citoplazmatsko razmerje je povečano v korist jedra. Ozadje brisa je tipično čisto, brez tumorske diateze ter vnetja (15, 19, 20).

Endocervikalni adenokarcinom (A-CA)

Adenokarcinom je karcinom z žlezno diferenciacijo, kateri že kaže lastnosti invazije. Pri A-CA je celična morfologija odvisna od diferenciacije tumorja. Pri dobro diferenciranem adenokarcinomu lahko celice ohranijo žlezno obliko in so zelo podobne normalnim žleznim celicam. V BMV te celice lahko spregledamo oziroma napačno interpretiramo, ker imajo slabo izražene znake malignosti. Še posebej moramo biti pozorni na številne skupine blago atipičnih žleznih celic, ki so lahko edini kazalec dobro diferenciranega adenokarcinoma. Številne abnormalne žlezne celice lahko tvorijo dvo- ali tridimenzionalne skupine, sincicijske skupine ali pa ležijo posamezno. Vidno je tudi perjenje in psevdostatifikacija. Značilna so povečana, pleomorfna, hiperkromna jedra z nepravilno porazdeljenim grobim kromatinom in nepravilno jedrno membrano. Prisotni so lahko makronukleoli. Citoplazma je pičla, običajno vakuolizirana. V ozadju brisa je lahko vidna tumorska diateza in vnetje (15, 19).

Incidenca adenokarcinoma se povečuje, zlasti med mlajšimi ženskami. Dejavniki tveganja za nastanek so podobni kot pri ploščatoceličnem karcinomu: okužba s HPV, zlasti tipom 18, število spolnih partnerjev in starost ob prvem spolnem odnosu. Endocervikalni

adenokarcinom raste počasi. 10-20 % jih je asimptomatskih. Najpogostejši prvi znak je krvavitev (25).

Endometrijski adenokarcinom

Pri endometrijskem adenokarcinomu se celice tipično pojavljajo posamezno ali pa v majhnih, stisnjenih skupinah in tridimenzionalnih kroglicah. Značilna je različna velikost jeder in izguba jedrne polarnosti. Pri dobro diferenciranem tumorju so jedra le nekoliko povečana v primerjavi z neneoplastičnimi endometrijskimi celicami in postajajo večja z naraščajočo stopnjo tumorja. Jedra kažejo zmerno hiperkromazijo, nepravilno porazdelitev kromatina, še posebej pri visoki stopnji tumorja. Prisotna so majhna, prominentna jedrca, ki se večajo z naraščajočo stopnjo tumorja. Citoplazma je tipično pičla, cianofilna in pogosto vakuolizirana, v njej so lahko prisotni fagocitirani nevtrofilci. V ozadju je prisotna tumorska diateza kot vodeno ozadje (15, 19).

1.4 POMEN HISTOLOŠKE DIAGNOSTIKE IN HISTOLOŠKA KLASIFIKACIJA RAKAVIH IN PREDRAKAVIH SPREMEMB NA MATERNIČNEM VRATU

Histološka diagnoza rakavih in predrakavih sprememb materničnega vratu ostaja še vedno »zlati standard« za primerjavo in za kontrolo kakovosti s citološkimi diagnozami. Vse histološke izvide biopsij cerviksa zbirajo v Registru ZORA. To nam omogoča spremljanje incidence rakavih in predrakavih sprememb na materničnem vratu v Sloveniji. Zanesljivost histološke diagnoze je odvisna od pravilno odvzete ekscizije oziroma odščipa materničnega vratu. Zelo pomembno je predvsem pravilno vzorčenje; če sprememba v biopsiji ni zajeta bomo dobili napačno negativen rezultat (26, 27, 28).

1.4.1 HISTOLOŠKA KLASIFIKACIJA SPREMEMB NA PLOŠČATEM EPITELU

Oktober leta 2014 je izšla nova WHO klasifikacija tumorjev ženskih reproduktivnih organov, vendar v nalogi uporabljamo staro WHO klasifikacijo, saj je naloga nastala v času uporabe prejšnje klasifikacije (14). Histološko klasifikacijo ploščatih tumorjev in predrakavih sprememb materničnega vratu prikazuje tabela III.

Tabela III: Histološka klasifikacija ploščatih tumorjev in predrakavih sprememb materničnega vratu-WHO klasifikacija.

PLOŠČATI TUMORJI IN PREDRAKAVE SPREMEMBE
1. Ploščatocelični karcinom
• poroženevajoči
• neporoženevajoči
• bazaloidni
• verukozni
• papilarni
• limfoepiteliomu podobni
• ploščatocelični – urotelijski
2. Mikroinvazivni ploščatocelični karcinom
3. Ploščatocelična intraepitelijska neoplazija
• cervikalna intraepitelijska neoplazija (CIN)
• ploščatocelični karcinom in situ
4. Benigne ploščatocelične lezije
• kondilom, papilom, fibroepitelijski polip

1.4.2 HISTOLOŠKA KLASIFIKACIJA SPREMEMB NA ŽLEZNEM EPITELU

Vseh predrakavih/rakavih žleznih sprememb na materničnem vratu, ki jih lahko določimo s histološko preiskavo, s presejanjem BMV ne moremo diagnosticirati. Številne morfološke lastnosti žleznih sprememb, ki so pomembne za diagnozo v histologiji se v BMV ne ohranijo. Zato s presejanjem BMV ne moremo določiti tako natančnih ocen kot v histologiji. Histološko klasifikacijo žleznih tumorjev in predrakavih sprememb materničnega vratu prikazuje tabela IV.

Benigne / reaktivne žlezne spremembe

Benigne žlezne spremembe so zelo pogoste, nastanejo kot posledica vnetja, reparacije tkiva, obsevanja in lahko posnemajo adenokarcinom. Za benigne žlezne spremembe je značilna masa žleznih celic s povečanimi, pleomorfnimi jedri in prominentnimi nukleoli. Pogoste so tudi endocervikalne celice z več jedri. Za prepoznavo reaktivnih žleznih

sprememb nam pomaga prisotnost vnetnega infiltrata ter prisotnost celic z izgubo polarnosti in obilno, poligonalno citoplazmo. Reaktivne žlezne spremembe se od žlezne displazije razlikujejo v zabrisanem kromatinu in v skromnosti mitotske aktivnosti ter apoptotskih telesc. Med benigne spremembe na žlezem epitelu uvrščamo endocervikalni polip, tubarno metaplazijo, mikroglandularno hiperplazijo, Arias-Stella reakcijo in reaktivne spremembe po vnetju, reparaciji in obsevanju (14, 29, 30).

Endocervikalni polip je benigni tumor, ki ga sestavljajo endocervikalne žleze in fibrovaskularna stroma. Polip je zelo pogosta lezija, ki pa ni klinično zaskrbljujoča in jo je enostavno histološko diagnosticirati. Endocervikalni polip je običajno prekrit s kubičnim in/ali visokoprizmatskim epitelom, ki pa pogosto kaže atipične regenerativne spremembe, katere lahko citološko zamenjamo za maligne (14, 29, 30).

Med reaktivne žlezne spremembe uvrščamo tudi Arias-Stella reakcijo, ki jo naključno najdemo na vratu maternice pri približno 10 % nosečih žensk. Histološke lastnosti celic s povečanimi, pleomorfnimi jedri ter obilno, vakuolizirano citoplazmo so zelo znane, ampak kljub temu jih lahko napačno diagnosticiramo kot žlezna displazija ali svetlocelični karcinom. Dejstvo, da Arias-Stella reakcija ne vsebuje mitoz ter invazije in glede na podatek o nosečnosti nam to olajša diagnozo (29, 30).

Tubarna metaplazija je opredeljena z prisotnostjo treh tipov celic, ki naseljujejo jajcevod. To so celice s cilijami, sekretorne celice in peg celice. Ocenjujejo, da je tubarna metaplazija prisotna pri približno eni tretjini žensk in enakomerno porazdeljena med starostnimi skupinami. Najpogostejša je v globljih žlezah zgornjega endocerviksa. Stratifikacija jeder, jedrna hiperkromazija in prisotnost jedrc lahko nakazuje na AIS ampak številne cilije ter skromnost mitoz nam pomaga to lezijo opredeliti kot metaplastično (29, 30, 31).

Mikroglandularna hiperplazija je benigna proliferacija endocervikalnih žlez. Najpogostejša je pri ženskah, ki so v reproduktivni dobi. Zanj so značilne goste skupine žlez, ki v cervikalnem kanalu lahko tvorijo polipoidne izrastke in povzročajo krvavitve. Jedra endocervikalnih žlez so enotna, občasno so lahko tudi pleomorfna in hiperkromna, ni

prisotne psevdostatifikacije jeder. Citoplazma je eozinofilna, granulirana, vakuolizirana in podobna endometrijskim žleznim celicam v zgodnji sekretorni fazi (29, 30).

Predrakave žlezne spremembe (glandularna displazija)

Žlezna displazija obsega širok spekter predrakavih oziroma preneoplastičnih cervikalnih žleznih sprememb, ki so si zelo podobne. Ocenjevanje teh predrakavih žleznih sprememb je v histologiji zelo težavno, ker so meje med temi spremembami zabrisane (30, 32).

Zaradi slabe reproducibilnosti diagnoz žleznih displazij uporabljamo klasifikacijo, ki predrakave žlezne spremembe deli na cervikalno glandularno intraepitelijsko neoplazijo nizke stopnje (L-CGIN) in cervikalno glandularno intraepitelijsko neoplazijo visoke stopnje (H-CGIN) med katero uvrščamo tudi adenokarcinom in situ.

Podobno klasifikacijo uporabljamo tudi za ocenjevanje predrakavih ploščatoceličnih sprememb, ki vsebuje cervikalno intraepitelijsko neoplazijo (CIN) različnih stopenj in sicer CIN nizke stopnje (CIN1) ter CIN visoke stopnje (CIN2 in CIN3) (31).

CGIN nizke stopnje (L-CGIN) je žlezna displazija, ki jo je težje prepoznati, ker se veliko njenih morfoloških lastnosti prekriva z reaktivnimi spremembami. Displastične spremembe so pri L-CGIN manj hude in ne izpolnjujejo vseh kriterijev za diagnozo visoke stopnje CGIN. Za L-CGIN so značilne žleze sestavljene iz psevdostatificiranih celic, ki so nekoliko izgubile polarnost. Značilna so tudi velika, hiperkromatična jedra, ki so omejena na spodnji dve tretjini žleznega epitela ter prisotnost mitoz in apoptotskih telesc, vendar v manjši meri kot pri AIS (14, 30, 33).

CGIN visoke stopnje (H-CGIN) vključuje hudo žlezno displazijo in AIS. Za H-CGIN so značilne displastične spremembe, ki so bolj hude in opisane s prekrivanjem žlez, z različnimi arhitekturnimi vzorci kot sta brstenje in razvejanost. Značilna so atipična, povečana, pleomorfna, hiperkromatična jedra s pomanjkanjem polarnosti ter prisotnost mitoz in apoptotskih telesc, ki zajemajo skoraj celotno debelino epitela. Na podlagi števila mitoz in apoptotskih telesc lahko ločimo H-CGIN od reaktivnih sprememb (30, 33).

Adenokarcinom in situ (AIS)

Ločimo več histoloških podtipov AIS in sicer endocervikalni, endometrioidni, intestinalni in mešani adenoskvamozni podtip. Za AIS je značilna prisotnost endocervikalnih žlez, ki jih oblagajo atipične epiteljske celice. Te celice so psevdostatificirane, se prekrivajo in imajo podaljšana, cigarasta, hiperkromna jedra z grobim granuliranim kromatinom. Vsebnost citoplazme je močno zmanjšana in vsebuje zelo malo sluzi. Značilno je povečano jedrno citoplazmatsko razmerje. V epiteliju so pogosto vidne številne mitoze in apoptotska telesca. AIS najdemo pri populaciji žensk, ki so približno od 10 do 15 let mlajše kot tiste z invazivnim adenokarcinomom. Povprečna starost žensk z AIS je 38 let. Zaradi nezadovoljivega razlikovanja med H-CGIN in AIS ju uvrščamo skupaj v hudo žlezno displazijo (14, 30, 33).

Invazivni adenokarcinom

Če AIS ne zdravimo se lahko čez nekaj let razvije invazivni adenokarcinom. Svetovna zdravstvena organizacija je izdala klasifikacijo tumorjev materničnega vratu, kjer invazivne adenokarcinome histološko delimo na več tipov, in sicer na mucinozni, endometrioidni, svetlocelični, serozni in mezonefrični adenokarcinom (tabela IV) (14). Najpogostejši tip invazivnega adenokarcinoma je mucinozni endocervikalni tip adenokarcinoma. Prognoza za ženske z adenokarcinomom na materničnem vratu je bistveno slabša kot za ženske s ploščatoceličnim karcinomom, še posebej če so prisotne metastaze (30).

Endocervikalni - mucinozni adenokarcinom je najpogostejši tip invazivnega adenokarcinoma in predstavlja kar 70 % cervikalnih adenokarcinomov. Neoplastične celice so urejene v žleze, ki so lahko preproste ali razvejane, tubularne ali papilarne s stratificiranimi jedri in blede, vakuolizirano citoplazmo, ki vsebuje mucin. Prisotne so tudi številne mitoze. V 40 % primerov endocervikalnega, mucinoznega adenokarcinoma najdemo prisoten tudi AIS in CIN (14, 29, 30).

Endometrioidni adenokarcinom predstavlja do 30 % cervikalnih adenokarcinomov in ima histološke lastnosti endometrioidnega adenokarcinoma endometrija. Celice endometrioidnega adenokarcinoma so ponavadi stratificirane in imajo ovalna jedra. Celice ne vsebujejo mucina in imajo manj citoplazme kot celice mucinoznega adenokarcinoma.

Razlikovanje od endocervikalnega tipa adenokarcinoma je mogoče le v dobro diferenciranih lezijah. Prav tako je težko razlikovati med primarnim endometrioidnim karcinomom materničnega vratu in primarnim adenokarcinomom endometrija (14, 29, 30, 31, 32, 33).

Tabela IV: Histološka klasifikacija žlezni tumorjev in predrakavih sprememb materničnega vratu, ki jo je izdala WHO.

ŽLEZNI TUMORJI IN PREDRAKAVE SPREMEMBE
1. Adenokarcinom
● Mucinozni adenokarcinom
- <i>endocervikalni</i>
- <i>intestinalni</i>
- <i>pečatnocelični</i>
- <i>tip minimalne deviacije</i>
- <i>viloglandularni</i>
● Endometrioidni adenokarcinom
● Svetlocelični adenokarcinom
● Serozni adenokarcinom
● Mezonefrični adenokarcinom
2. Mikroinvazivni adenokarcinom
3. Adenokarcinom in situ
4. Žlezna displazija
5. Benigne žlezne lezije
● Papilom Mulerjevih vodov
● Endocervikalni polip

1.5 OBRAVNAVA PREISKOVANK Z ATIPIČNIMI ŽLEZNIMI CELICAMI

Pri preiskovankah, ki imajo v brisu prisotne atipične žlezne celice je glede na smernice za celostno obravnavo žensk s predrakavimi spremembami materničnega vratu potrebna takojšnja kolposkopija in abrazija cervikalnega kanala. V primeru prisotnih patološko spremenjenih endometrijskih celic v BMV moramo narediti biopsijo endometrija in/ali stopenjsko (frakcionirano) abrazijo. V primeru neopredeljene krvavitve ali pri ženskah,

starih 35 let in več, prav tako moramo narediti frakcionirano abrazijo. Glede na izkušnje klinikov je ponovni odvzem BMV v tem primeru nesmiseln. V primeru negativnega histološkega izvida pri AŽC-N in zadovoljivi kolposkopski sliki priporočamo revizijo BMV ter test HPV. V primeru negativnega histološkega izvida pri AŽC-VN ali AIS pa priporočamo diagnostični LLETZ ali konizacijo. Ženske z ponovno citološko oceno brisa AŽC-N in s pozitivnim izvidom testa HPV napotimo v center za kolposkopijo oz. priporočamo LLETZ. Pri negativnem testu HPV sledimo tem preiskovankam s kombiniranim odvzemom BMV in testa HPV čez 6 mesecev (28).

1.5.1 KOLPOSKOPIJA IN BIOPSIJA

Glede na Smernice za celostno obravnavo žensk s predrakavimi spremembami materničnega vratu sta kolposkopija in biopsija v presejalnem programu za RMV pomemben del diagnostičnih postopkov. Kolposkopija je subjektivna metoda, pri kateri s binokularnim mikroskopom (kolposkopom) opazujemo sumljive spremembe na materničnem vratu, nožnici ali zunanjem spolovilu. Če pri kolposkopiji vidimo sumljive spremembe, na teh predelih odvezamemo košček tkiva (biopsija) za histološko preiskavo. Kot samostojna preiskava ima kolposkopija 80 % občutljivost in 60 % specifičnost (34, 35, 36, 37).

2. NAMEN DELA

Pri pregledu brisa materničnega vratu najdemo včasih tudi žlezne celice z atipičnimi spremembami. Čeprav patološko spremenjene žlezne celice ne pomenijo končne diagnoze bolezni, pa lahko pomenijo utemeljen sum na intraepitelijsko lezijo visoke stopnje ali celo karcinom vratu ali telesa maternice. Po podatkih iz literature so patološko spremenjene žlezne celice v BMV prisotne v 0,1 % do 2,5 % vseh brisov (20, 21, 22, 23). Znano je, da pri preiskovankah s patološko spremenjenimi žleznimi celicami pogosto (kar v 40 % brisov) odkrijemo klinično pomembne patološke spremembe, ki jih je potrebno zdraviti (20, 24). Podatkov o deležu klinično pomembnih patoloških sprememb pri patološko spremenjenih žleznih celicah za celotno Slovenijo ni. Poznani so le podatki za Splošno bolnišnico Celje, Onkološki inštitut Ljubljana in Medicinsko fakulteto Ljubljana. V Sloveniji imamo v okviru Letnih poročil državnega programa ZORA le podatke o deležu BMV s patološko spremenjenimi žleznimi celicami med vsemi pregledanimi BMV, nimamo pa teh podatkov za Laboratorij za pregledovanje BMV, UKC Maribor.

Namen naše naloge je:

- Ugotoviti kako pogosto smo v BMV v obdobju od 2008 do 2012 diagnosticirali patološko spremenjene žlezne celice.
- Ugotoviti zanesljivost citologije pri odkrivanju žleznih sprememb v BMV.
- Ugotoviti delež klinično pomembnih in klinično manj pomembnih diagnoz pri preiskovankah s patološko spremenjenimi žleznimi celicami in znanim histološkim izvidom.
- Ugotoviti vpliv starosti preiskovank na spremembe žleznih celic pregledanih v Laboratoriju za pregledovanje BMV v UKC Maribor v letih od 2008 do vključno 2012.

2.1 DELOVNE HIPOTEZE

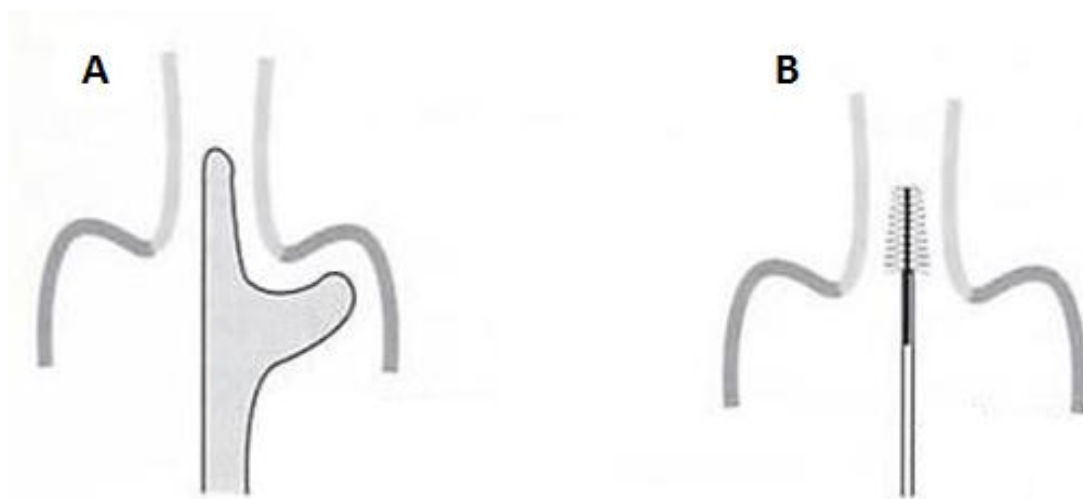
1. Delež BMV s patološko spremenjenimi žleznimi celicami se je v obdobju od 2008 do 2012 zmanjšal.
2. Zanesljivost odkrivanja predrakavih in/ali rakavih sprememb na žleznih celicah v BMV je v pet-letnem obdobju relativno nizka, vendar je z leti naraščala.
3. V BMV s patološko spremenjenimi žleznimi celicami bomo našli velik delež klinično pomembnih diagnoz, kar je pomembno za nadaljnje zdravljenje (obravnavo) preiskovank.
4. Med BMV, ki so bili citološko ocenjeni kot atipične žlezne celice različnih stopenj, je večji delež patoloških sprememb na ploščatem epitelu in manjši delež na žleznem epitelu.
5. Starost ne vpliva na razvoj klinično pomembnih in klinično manj pomembnih diagnoz. Spremembe na žleznih celicah se pojavljajo pogosteje pri starejših preiskovankah.

3. MATERIALI IN METODE

3.1 BRISI MATERNIČNEGA VRATU ZA CITOLOŠKI PREGLED

3.1.1 ODVZEM BMV

Bris materničnega vratu (BMV) je odvil ginekolog z loparčkom po Ayeru s področja transformacijske cone vratu maternice, kjer ploščati epitel, ki prekriva zunanji del vratu, prehaja v žlezni epitel, ta bris pa razmazal na objektno steklo. Zatem je s krtačko cytobrush odvil še bris iz cervikalnega kanala in ga prav tako razmazal na objektno steklo (Slika 1). Vzorčenje transformacijske cone je pomembno, ker se prav tu v večini primerov razvijajo spremembe, ki so predstopnja raka materničnega vratu (15, 16, 18).



Slika 1: Loparček po Ayeru (A) in krtačka za odvzem BMV (B)

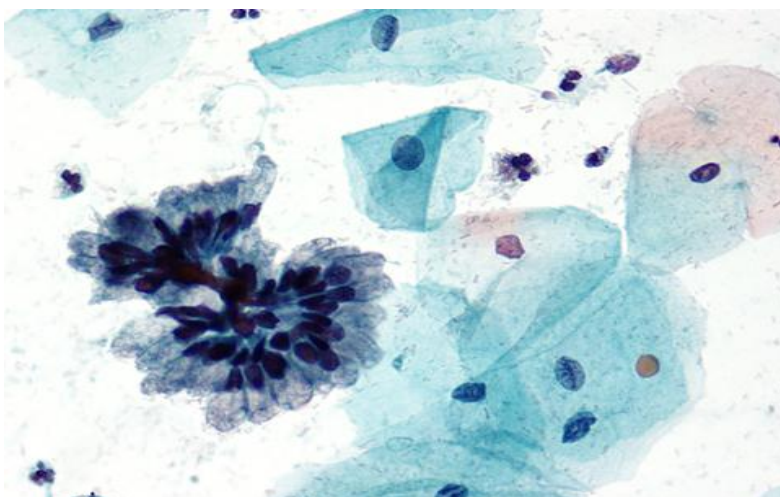
3. 1. 2 FIKSACIJA BMV

Fiksacija je ena od zelo pomembnih faz za pripravo kakovostnega celičnega vzorca. Fiksacija mora ohraniti morfologijo celic kot tudi citokemične in imunocitokemične lastnosti. Najpogosteje za fiksacijo brisov uporabljamo 95 % etanol ali fiksativ v razpršilu. Za fiksacijo pa so primerna tudi 80 % izopropanol, 100 % metanol ali 95 % denaturiran alkohol. Vzorci morajo biti fiksirani v alkoholu okrog 10-15 minut. Ginekolog mora bris

fiksirati takoj po odvzemu preden se posuši. Če se bris pred fiksacijo posuši, bo slabe kakovosti in neprimeren za ocenjevanje sprememb, kljub primernemu barvanju (16, 19).

3. 1. 3 BARVANJE BMV

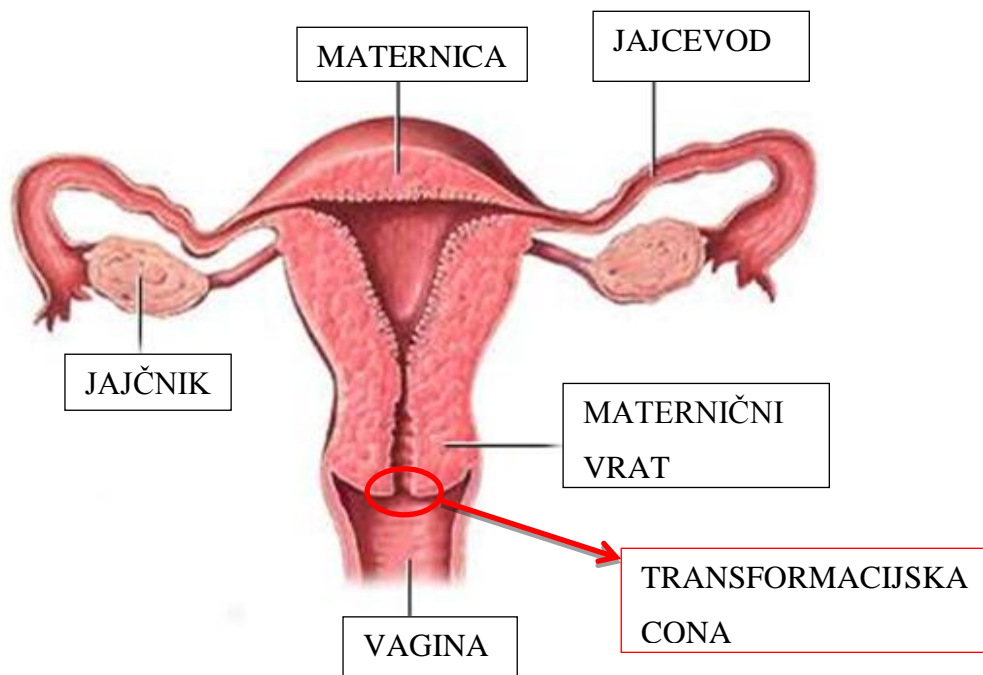
BMV smo barvali po metodi po Papanicolaou. Barvanje po Papanicolaou je splošno sprejeta metoda za ginekološke vzorce. Za barvanje smo uporabili kakovostna barvila, ki so imela veljaven rok uporabe. Brise smo barvali v avtomatskem barvalcu. Postopek barvanja imamo zapisan v standardnem operativnem postopku. Jedra celic se s hematoksilinom obarvajo modro do črno. Intenziteta barvanja mora biti takšna, da se vidi struktura kromatina. Orange G in EA raztopina obarvata citoplazmo celic ploščatega epitela, in sicer superficialne celice se obarvajo roza, intermediarne in parabazalne celice zeleno ali modro ter keratinizirane celice rumeno (Slika 2) (16, 19).



Slika 2: Ploščati in žlezni epitel (Papanicolaou, 40x)

3. 1. 4 OCENJEVANJE BMV

BMV je učinkovit presejalni test za odkrivanje predrakavih/rakavih sprememb na ploščatem epitelu materničnega vratu. Manj učinkovit in zanesljiv je pri odkrivanju predrakavih/rakavih sprememb žleznih celic materničnega vratu (19). Kljub temu pa v BMV presejalci in citopatologi ocenjujemo spremembe, tako na ploščatih kot tudi žleznih celicah, ki so bile odvzete iz transformacijske cone (Slika 3) (16, 38).



Slika 3: Transformacijska cona cerviksa

Konvencionalni test PAP je enostaven, poceni, neobremenjujoč za ženske poleg tega pa je tudi visoko občutljiv in specifičen za odkrivanje napredujočih intraepitelijskih sprememb. Glede na različne študije je občutljivost testa za odkrivanje predrakavih/rakavih sprememb na materničnem vratu povprečno okoli 60 % (39).

Ocenjevanje BMV je v veliki meri subjektivno in interpretacija ni vedno enostavna. Vzroki za napačno diagnozo so lahko krvavi in debeli brisi, drobno-celična huda diskarioza, napačno ocenjene sincicijske skupine, nepravilen odvzem vzorca itd. (40).

3.2 PREISKOVANKE

Iz Registra državnega programa ZORA smo dobili seznam 594 preiskovank, pri katerih smo na Oddelku za patologijo, v Laboratoriju za pregledovanje BMV, UKC Maribor v pet-letnem obdobju od 2008 do vključno 2012 ocenili, da so v BMV prisotne atipične žlezne celice, huda atipija žleznih celic/AIS ali invazivni adenokarcinom. Podatke o številu vseh BMV, ki smo jih pregledali v posameznih letih zgoraj omenjenega pet-letnega obdobja smo poiskali v arhivu našega oddelka. Poleg tega smo iz Registra državnega programa ZORA dobili tudi število preiskovank, ki so imele narejeno biopsijo in histološko preiskavo. Od 526 preiskovank s citološko oceno atipične žlezne celice je imelo narejeno

biopsijo 319 preiskovank. 62 od 68 preiskovank, ki so imele citološko oceno huda atipija žleznih celic/AIS in invazivni adenokarcinom so imele narejeno biopsijo in histološko preiskavo. Pri preiskovankah brez histološkega izvida smo analizirali kontrolne brise, ki so sledili citološki diagnozi atipične žlezne celice, huda atipija žleznih celic/AIS in invazivni adenokarcinom.

Preiskovanke, katere imajo znan histološki izvid smo razdelili na tiste, ki niso imele klinično pomembnih patoloških sprememb in tiste, pri katerih so bile spremembe tako hude, da je bilo potrebno nadaljnje zdravljenje. Opredelili pa smo tudi vpliv starosti preiskovank na klinično pomembne in klinično manj pomembne diagnoze.

3.3 PRIMARNO PRESEJANJE

Za BMV, ki smo jih v primarnem presejanju ocenili kot patološko spremenjene žlezne celice, smo najprej ugotovili kakšen je bil delež citopatoloških ocen atipične žlezne celice, huda atipija žleznih celic/AIS in invazivni adenokarcinom v obdobju od leta 2008 do 2012. Nato smo preverili kako se je spreminjala pogostost BMV s patološko spremenjenimi žlezniimi celicami v preiskovanem obdobju od 2008 do 2012. Pri preiskovankah, ki so imele na osnovi citološkega izvida (atipične žlezne celice, huda atipija žleznih celic/AIS in invazivni adenokarcinom) opravljeno histološko preiskavo, smo analizirali histološke izvide, rezultate primerjali s citološkimi izvidi in v primerih neujemanja skušali ugotoviti vzroke le-tega.

3.4 OPREDELITEV KLINIČNO POMEMBNIH IN MANJ POMEMBNIH DIAGNOZ

Preiskovanke z znanim histološkim izvidom smo razdelili na tiste, ki so imele klinično pomembne spremembe in tiste, s klinično manj pomembnimi spremembami. Med preiskovanim obdobjem je še veljala CIN histološka klasifikacija, od oktobra 2014 pa velja nova histološka klasifikacija, ki se deli na ploščatocelično intraepitelijsko lezijo (PIL) nizke stopnje in visoke stopnje. Med klinično pomembne histološke diagnoze smo uvrstili cervikalno intraepitelijsko neoplazijo visoke stopnje (CIN2/3), adenokarcinom in situ (AIS), cervikalno glandularno intraepitelijsko neoplazijo visoke stopnje (H-CGIN), invazivni adenokarcinom, ploščatocelični karcinom in serozni karcinom jajčnika. Med

klinično manj pomembne histološke diagnoze pa smo uvrstili negativno diagnozo, cervikalno intraepitelijsko neoplazijo nizke stopnje (CIN1) in cervikalno glandularno intraepitelijsko neoplazijo nizke stopnje (L-CGIN). Razdelitev histoloških izvidov na klinično pomembne in manj pomembne diagnoze je prikazana v tabeli V.

Tabela V: Razdelitev histoloških izvidov na klinično pomembne in manj pomembne diagnoze.

KLINIČNO POMEMBNE HISTOLOŠKE DIAGNOZE	KLINIČNO MANJ POMEMBNE HISTOLOŠKE DIAGNOZE
CIN 2/3	NEGATIVNA DIAGNOZA
AIS	CIN 1
H-CGIN	L-CGIN
A-CA	
P-CA	
SEROZNI CA- JAJČNIKA	

3.5 USKLAJENOST CITOPATOLOŠKIH OCEN S SEDANJO KLASIFIKACIJO

Ker smo v primarnem presejanju za ocenjevanje patološko spremenjenih žlezni celic leta 2008, 2009 in 2010 uporabljali klasifikacijo, ki je bila modifikacija klasifikacije po Bethesda, smo morali najprej uskladiti citopatološke ocene. Citopatološke ocene iz primarnega presejanja smo uskladili z novejšo klasifikacijo po Bethesda, ki je začela veljati leta 2011 (tabela VI).

Tabela VI: Usklajene citopatološke ocene, ki smo jih uporabljali za ocenjevanje patološko spremenjenih žlezni celic od 2008 do 2012

Klasifikacija, ki je bila prirejena po zgledu klasifikacije po Bethesda	Klasifikacija po Bethesda
Atipične žlezne celice	AŽC-N
Huda atipija žlezni celic/AIS	AŽC-VN
	AIS
Invazivni adenokarcinom	Invazivni adenokarcinom

3.6 SKLADNOST CITOLOŠKIH OCEN S HISTOLOŠKO DIAGNOZO

Skladnost med citopatološkimi ocenami BMV in histološkimi diagnozami smo razdelili v tri stopnje:

- popolna skladnost
- zadovoljiva skladnost
- neskladnost.

V primeru popolne skladnosti so bile citološke ocene enake histološki diagnozi.

Zadovoljiva skladnost je bila dosežena v primerih, ko je histološka diagnoza potrdila predrakave in/ali rakave spremembe, vendar stopnja patoloških sprememb na žlezem epitelu s citopatološko preiskavo ni bila pravilno ocenjena, ali pa so bile spremembe ocenjene na napačni vrsti epiteljskih celic.

Neskladnost citopatoloških ocen s histološko diagnozo smo beležili v primerih, ko histološka diagnoza ni pokazala predrakavih in/ali rakavih sprememb na žlezem ali ploščatem epitelu, citopatološka ocena BMV pa je bila pozitivna.

3.7 STATISTIČNE METODE

Statistične analize smo izvedli na osebem računalniku. Uporabili smo program Excel verzija 2010 in SPSS (Statistical Package for Social Sciences) verzija 19. Za prikaz rezultatov patološko spremenjenih žleznih celic v primarnem presejanju smo uporabili metode opisne statistike. Za izračun trendov pogostosti patološko spremenjenih žleznih celic in zanesljivosti odkrivanja predrakavih in/ali rakavih sprememb na žleznih celicah v BMV smo uporabili hi-kvadrat test.

Za ugotavljanje vpliva starosti preiskovank na klinično pomembne in manj pomembne histološke diagnoze smo uporabili Mann-Whitneyev test.

Mann-Whitneyev test pa smo uporabili tudi za ugotavljanje vpliva starosti preiskovank na predrakave/rakave spremembe ploščatih in žleznih celic v brisih materničnega vratu.

Ničelne hipoteze smo testirali pri 5 % stopnji tveganja ($\alpha=0,05$). Statistično značilnost smo določili z vrednostjo p, manjšo od 0,05 ($p<0,05$).

4. REZULTATI

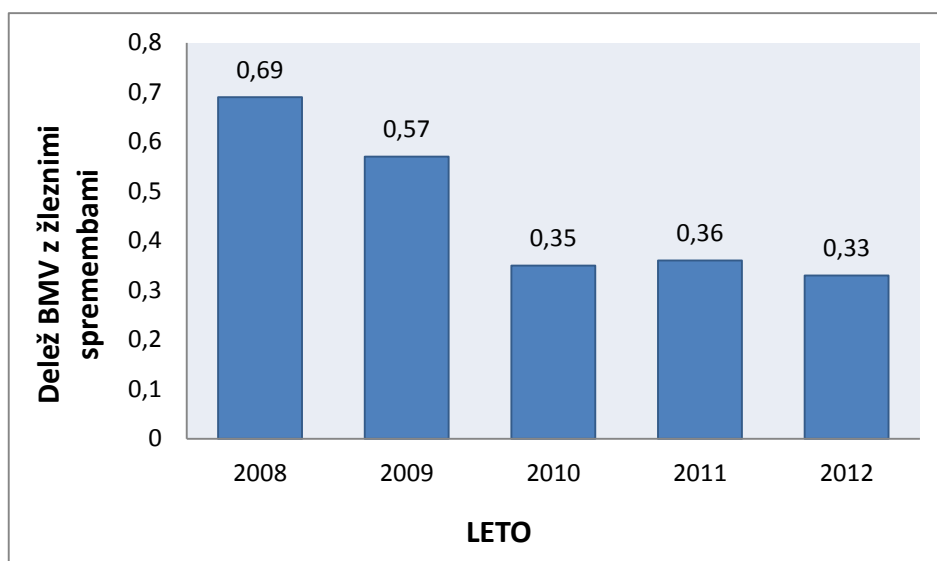
4.1 POGOSTOST PATOLOŠKO SPREMENJENIH ŽLEZNIH CELIC

V pet-letnem obdobju od 2008 do vključno 2012 smo na Oddelku za patologijo, v Laboratoriju za pregledovanje BMV, UKC Maribor pregledali 129.016 BMV. Ocenili smo, da so bile patološko spremenjene žlezne celice (AŽC-N, AŽC-VN/AIS, A-CA) prisotne v 594 (0,46 %) BMV.

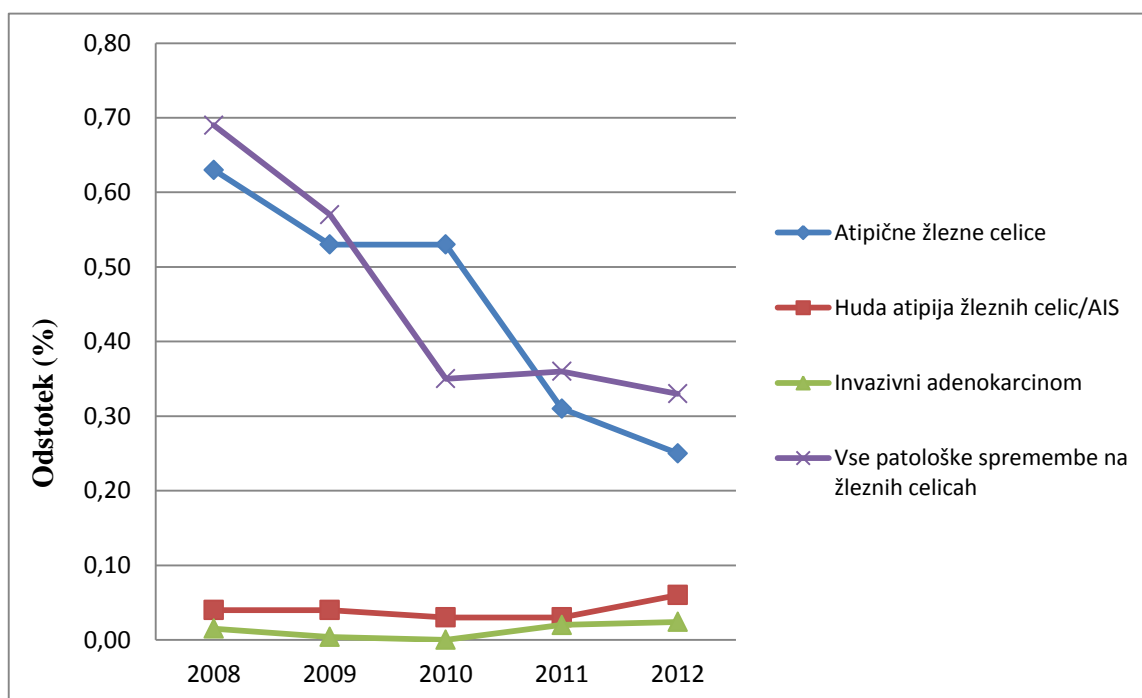
V tabeli VII je prikazana pogostost patološko spremenjenih žleznih celic v posameznih letih preiskovanega obdobja. Pogostost patološko spremenjenih žleznih celic se je v pet-letnem obdobju statistično značilno zmanjšala iz 0,69 % na 0,33 % ($p < 0,0001$), kar prikazuje slika 4. Najbolj izrazito znižanje je bilo v kategoriji ocene atipične žlezne celice, neopredeljene in sicer iz 0,63 % na 0,25 %. Trend pogostosti ocen AŽC-N, AŽC-VN/AIS in A-CA v petletnem preiskovanem obdobju prikazuje slika 5.

Tabela VII: Število in delež patološko spremenjenih žleznih celic v obdobju od 2008 do 2012.

LETO	2008	2009	2010	2011	2012	SKUPAJ
	N	N	N	N	N	N
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Vsi pregledani BMV	25534 (100)	26094 (100)	25988 (100)	26596 (100)	24804 (100)	129016 (100)
BMV z AŽC-N	162 (0,63)	137 (0,53)	82 (0,32)	83 (0,31)	62 (0,25)	526 (0,41)
BMV z AŽC-VN/AIS	10 (0,04)	12 (0,04)	8 (0,03)	7 (0,03)	15 (0,06)	52 (0,04)
BMV z invazivnim adenokarcinom	4 (0,015)	1 (0,004)	0 (0,00)	5 (0,02)	6 (0,024)	16 (0,012)
Vse patološke spremembe na žleznih celicah	176 (0,69)	150 (0,57)	90 (0,35)	95 (0,36)	83 (0,33)	594



Slika 4: Delež vseh patoloških sprememb na železnih celicah (AŽC-N, AŽC-VN/AIS, A-CA) v posameznem opazovanem obdobju.



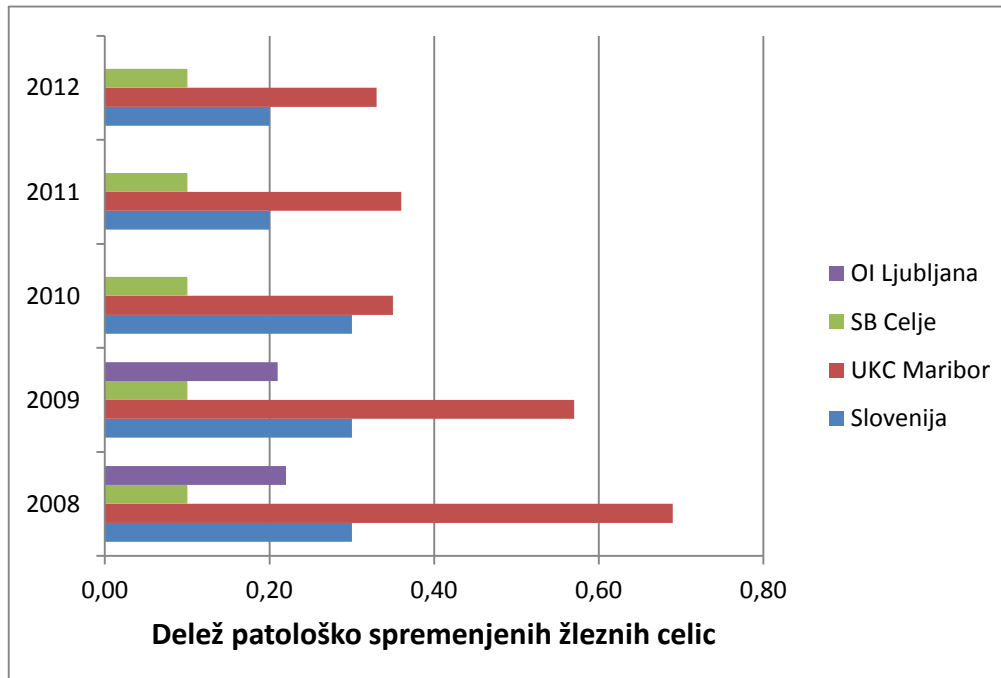
Slika 5: Trend pogostosti ocen atipične žlezne celice, hudo atipične žlezne celice/AIS, invazivnega adenokarcinoma in vse patološko spremenjene žlezne celice v obdobju od 2008 do 2012.

Delež BMV s patološko spremenjenimi žleznimi celicami smo primerjali s podatki, ki smo jih dobili za Slovenijo in s podatki, ki so jih dobili na Onkološkem inštitutu Ljubljana in v Citološkem laboratoriju Oddelka za patologijo in citologijo Splošne bolnišnice Celje.

Naš delež patološko spremenjenih žlezni celic v preiskovanem obdobju pada (iz 0,69 % na 0,33 %). Največji delež BMV s patološko spremenjenimi žleznimi celicami je bil na začetku opazovanega obdobja leta 2008 (0,69 %), kasneje pa začne upadati in se ustavi na 0,33 %. Ta delež odkritih BMV s patološko spremenjenimi žleznimi celicami pa je nekoliko višji od slovenskega povprečja (0,20 %) (slika 6). V SB Celje in na OI Ljubljana imajo nekoliko nižji delež patološko spremenjenih žleznih celic, kar prikazuje tabela VIII.

Tabela VIII: Delež BMV s patološko spremenjenimi žleznimi celicami v Sloveniji, UKC Maribor, SB Celje in na OI Ljubljana.

LETO	2008	2009	2010	2011	2012
Delež AŽC-N, AŽC-VN, AIS, AC	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Slovenija	0, 30	0, 30	0, 30	0, 20	0, 20
UKC Maribor	0, 69	0, 57	0, 35	0, 36	0, 33
SB Celje	0, 10	0, 10	0, 10	0, 10	0, 10
OI Ljubljana	0, 22	0, 21	/	/	/



Slika 6: Primerjava našega deleža BMV s patološko spremenjenimi žleznimi celicami s slovenskim povprečjem, s SB Celje in OI Ljubljana.

4.2 ZANESLJIVOST CITOLOGIJE PRI ODKRIVANJU ŽLEZNIH SPREMEMB V BMV

V petletnem opazovanem obdobju je od 129.016 pregledanih BMV imelo 594 preiskovank patološko spremenjene žlezne celice. Med temi 594 preiskovankami je bilo 381 preiskovank s kasnejšo kirurško biopsijo in s histopatološkim izvidom, ki smo jih v naši raziskavi podrobneje analizirali (tabela IX).

Tabela IX: Število in delež BMV z žleznimi spremembami in s histološkim izvidom med leti 2008 in 2012.

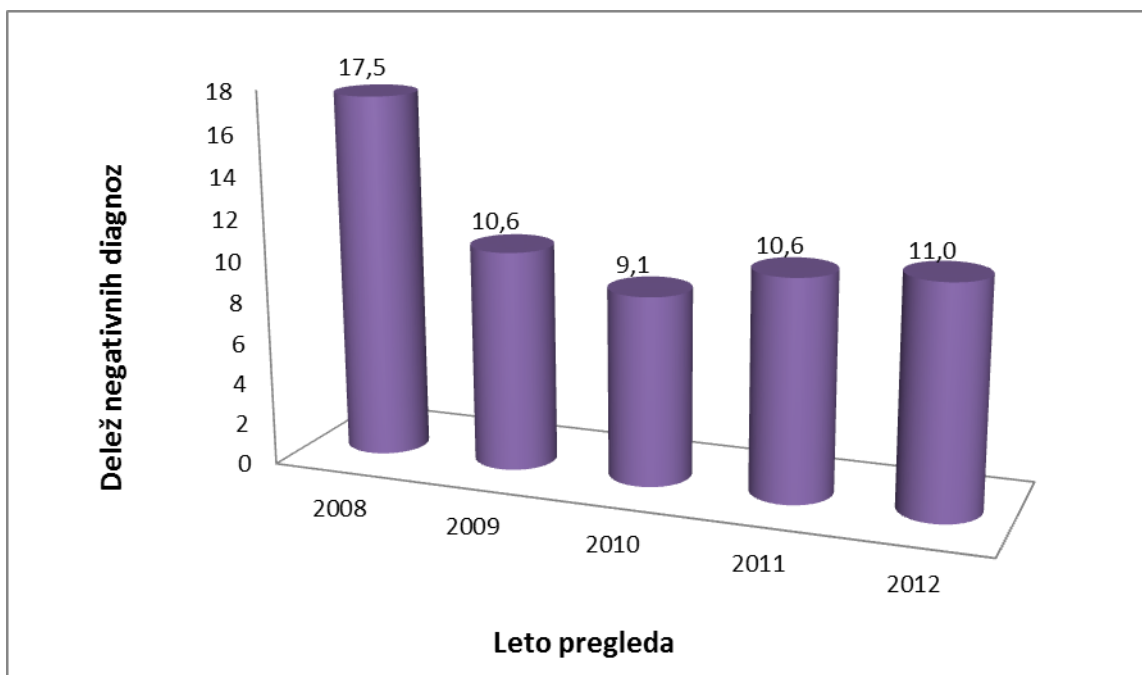
LETO	2008	2009	2010	2011	2012	SKUPAJ
	N	N	N	N	N	N
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Vsi pregledani BMV	25534 (100)	26094 (100)	25988 (100)	26596 (100)	24804 (100)	129016 (100)
BMV z žleznimi spremembami	176 (0,69)	150 (0,57)	90 (0,35)	95 (0,36)	83 (0,33)	594 (0,46)
BMV z žleznimi spremembami s histologijo	118 (67,0)	77 (51,3)	56 (62,2)	66 (69,5)	64 (77,1)	381 (64,1)

V petletnem opazovanem obdobju smo 526 (0,41 %) preiskovankam postavili citološko diagnozo atipične žlezne celice, neopredeljene. Od teh 526 je imelo 319 (60,6 %) preiskovank narejeno kasnejšo histološko biopsijo. 52 preiskovankam smo v tem obdobju postavili citološko diagnozo atipične žlezne celice, verjetno neoplastične. Od teh 52 je imelo 46 (88,5 %) preiskovank narejeno naknadno histološko biopsijo. 16 preiskovankam pa smo postavili diagnozo adenokarcinom in vse so tudi imele narejeno kasnejšo histološko biopsijo. Incidenco teh histopatoloških diagnoz pri preiskovankah s citološko diagnozo AŽC-N, AŽC-VN/AIS in A-CA prikazujejo tabela X, XI in XII.

Tabela X: Histopatološke diagnoze pri preiskovankah s citološko diagnozo AŽC-N v BMV.

HISTOPATOLOŠKA DIAGNOZA	N	%
Negativno	188	58,9
CIN 1	44	13,8
CIN 1+L-CGIN	3	0,94
CIN 2	18	5,64
CIN 3	36	11,3
CIN 3+L-CGIN	1	0,31
CIN 3+AIS	4	1,25
AIS	2	0,63
H-CGIN	3	0,94
Adenokarcinom endometrija	10	3,13
Ploščatocelični karcinom	1	0,31
Serozni papilarni karcinom jajčnika	1	0,31
Nereprezentativna biopsija	8	2,51
Skupaj	319	100

Pri citološki diagnozi atipične žlezne celice, neopredeljene je bil med histološkimi diagnozami najpogostejši izvid »brez morfoloških sprememb« in sicer kar v 58,9 %. Slika 7 podrobneje prikazuje delež teh »negativnih« diagnoz v posameznih letih opazovanega obdobja.



Slika 7: Negativni histološki izvidi pri preiskovankah s citološko diagnozo AŽC-N.

Tabela XI: Histopatološke diagnoze pri preiskovankah s citološko diagnozo AŽC-VN/AIS.

HISTOPATOLOŠKA DIAGNOZA	N	%
Negativno	9	19,6
CIN 1	2	4,30
CIN 2	2	4,30
CIN 3	8	17,4
CIN 2 + AIS	1	2,20
CIN 3 + AIS	4	8,70
H-CGIN	2	4,30
AIS	3	6,50
Endocervikalni adenokarcinom	3	6,50
Adenokarcinom endometrija	10	21,7
Ploščatocelični karcinom	2	4,30
Skupaj	46	100

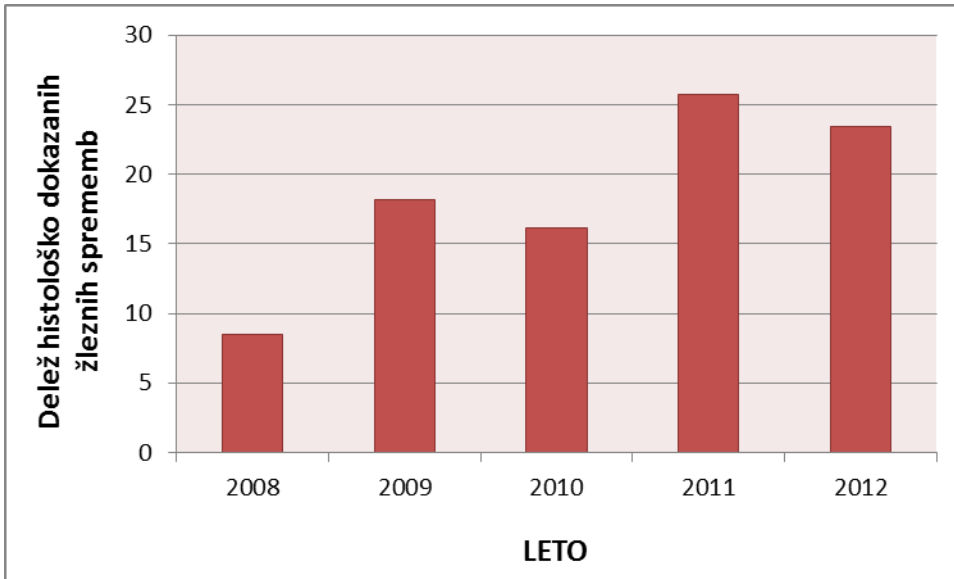
Tabela XII: Histopatološke diagnoze pri preiskovankah s citološko diagnozo adenokarcinom.

HISTOPATOLOŠKA DIAGNOZA	N	%
Adenokarcinom endometrija	12	75, 0
Ploščatocelični karcinom	2	12, 5
Serozni papilarni karcinom jajčnika	1	6, 25
Mucinozni adenokarcinom	1	6, 25
Skupaj	16	100

V nadaljevanju nas je zanimalo kako zanesljiva je naša citološka diagnoza pri odkrivanju žleznihi sprememb v BMV. Zato smo naše citološke diagnoze primerjali z naknadno histološko biopsijo. Tabela XIII prikazuje število in delež histološko dokazanihi patoloških sprememb na žleznihi celicah. Zanesljivost odkrivanja predrakavihi/rakavihi sprememb na žleznihi celicah v BMV je bila na začetku opazovanega obdobja relativno nizka, nato pa je z leti naraščala (slika 8).

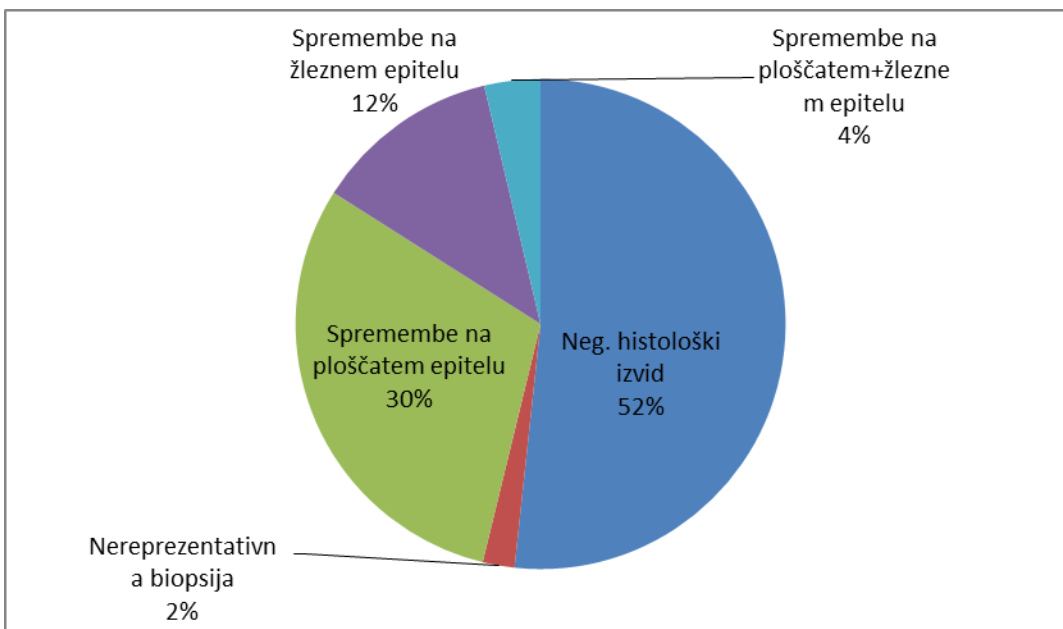
Tabela XIII: Število in delež histološko dokazanihi patoloških žleznihi sprememb.

LETO	2008	2009	2010	2011	2012
Število BMV z					
žleznihi	176	150	90	95	83
spremembami					
Število BMV z					
žleznihi	118	77	56	66	64
spremembami					
s histologijo					
Histološko					
dokazane žlezne	10	14	9	17	15
spremembe (N)					
Delež histološko					
dokazanihi	8, 5	18, 2	16, 1	25, 7	23, 4
žleznihi					
sprememb (%)					



Slika 8: Delež histološko dokazanih žleznih sprememb v posameznem opazovanem obdobju ($p=0,0022$).

Med BMV, ki so bili citološko ocenjeni kot atipične žlezne celice različnih stopenj, nas je zanimal delež patoloških sprememb na ploščatem in žlezem epitelu. Preiskovanke s patološko spremenjenimi žleznimi celicami v BMV ($N=381$) so imele večji delež histološko dokazanih patoloških sprememb na ploščatem epitelu kot na žlezem epitelu (slika 9).



Slika 9: Delež histološko dokazanih patoloških sprememb na ploščatem in žlezem epitelu pri preiskovankah s patološko spremenjenimi žleznimi celicami v BMV.

4.3 POGOSTOST KLINIČNO POMEMBNIH IN KLINIČNO MANJ POMEMBNIH DIAGNOZ

Znano je, da v BMV s patološko spremenjenimi žleznimi celicami pogosto odkrijemo klinično pomembne patološke spremembe, ki jih je potrebno zdraviti. Patološko spremenjene žlezne celice so lahko znak resnih patoloških sprememb. Zato nas je zanimal delež klinično pomembnih histoloških diagnoz pri naših preiskovankah s patološko spremenjenimi žleznimi celicami v obdobju od 2008 do 2012.

Pri preiskovankah s patološko spremenjenimi žleznimi celicami in znanim histološkim izvidom smo ugotavljali delež klinično pomembnih diagnoz, med katere smo šteli CIN 2, CIN 3, H-CGIN, adenokarcinom in situ, adenokarcinom, ploščatocelični karcinom in serozni karcinom jajčnika in delež klinično manj pomembnih histoloških diagnoz, med katere smo šteli cervicitis, polip, metaplazijo, CIN 1 in L-CGIN (tabela XIV, XV).

Tabela XIV: Klinično pomembne in manj pomembne histološke diagnoze pri preiskovankah z AŽC-N.

Histopatološka diagnoza	N	%
Klinično pomembne diagnoze	76	23, 8
Klinično manj pomembne diagnoze	235	73, 7
Nereprezentativna biopsija	8	2, 5
Skupaj	319	100

Tabela XV: Klinično pomembne in manj pomembne histološke diagnoze pri preiskovankah z AŽC-VN/AIS ter A-CA.

Histopatološka diagnoza	N	%
Klinično pomembne diagnoze	51	82, 3
Klinično manj pomembne diagnoze	11	17, 7
Skupaj	62	100

V naši skupini je bil delež klinično pomembnih diagnoz pri preiskovankah z AŽC-N 23, 8 %, pri preiskovankah z AŽC-VN/AIS ter A-CA pa 82, 3 %.

Zanimala nas je tudi pogostost malignih tumorjev pri preiskovankah s patološko spremenjenimi žleznimi celicami v BMV. Invazivne malignome smo našli pri 43 preiskovankah, kar je 11,3 % vseh 381 preiskovank s citološko diagnozo AŽC-N, AŽC-VN/AIS, A-CA v brisih materničnega vratu. Zastopanost tumorjev prikazuje tabela XVI. Najpogostejši tip karcinoma je bil adenokarcinom endometrija.

Tabela XVI: Maligni tumorji pri preiskovankah s patološko spremenjenimi žleznimi celicami.

MALIGNNA SPREMEMBA	N	%
Adenokarcinom endometrija	32	74
Endocervikalni adenokarcinom	3	7
Ploščatocelični karcinom	5	12
Serozni papilarni karcinom jajčnika	2	5
Mucinozni viloglandularni adenokarcinom	1	2
Skupaj	43	100

4.4 VPLIV STAROSTI PREISKOVANK NA SPREMEMBE ŽLEZNIH CELIC

Želeli smo tudi ugotoviti vpliv starosti preiskovank na klinično pomembne in manj pomembne histološke diagnoze v Laboratoriju za pregledovanje BMV v UKC Maribor v letih od 2008 do 2012.

Primerjali smo starost preiskovank ob ugotovitvi klinično pomembnih in manj pomembnih histoloških diagnoz v skupini 381 preiskovank (tabela XVII).

Tabela XVII: Povprečna starost preiskovank s klinično pomembnimi in manj pomembnimi histološkimi diagnozami

Histopatološka diagnoza	N	Povprečna starost (leta)	St. odklon
Klinično pomembne diagnoze	127	47, 9	15, 4
Klinično manj pomembne diagnoze	246	44, 1	10, 0

Razlika v starosti preiskovank med skupinama ni bila statistično značilna ($p=0,1556$).

V nadaljevanju smo klinično pomembne histološke diagnoze razdelili v dve skupini. V prvo skupino smo šteli predrakave spremembe na ploščatem in žlezem epitelu, v drugo skupino pa smo šteli maligne spremembe. Zanimala nas je povprečna starost preiskovank s predrakavimi spremembami in povprečna starost preiskovank z malignimi spremembami (tabela XVIII).

Tabela XVIII: Povprečna starost preiskovank s klinično pomembnimi histološkimi diagnozami.

Klinično pomembne histološke diagnoze	N	Povprečna starost (leta)	St. odklon
CIN2, CIN3, AIS, H- CGIN	84	42, 4	11, 6
Adenokarcinom endomet., P-CA, serozni CA jajčnika, endocervikalni adenokarcinom, mucinozni CA	43	61, 7	15, 5

Ugotovili smo, da so preiskovanke s predrakavimi spremembami na ploščatem in žlezem epitelu statistično značilno ($p<0,001$) mlajše (42,4 let) kot preiskovanke z malignimi spremembami (61,7 let).

Nato smo preiskovanke s patološko spremenjenimi žleznimi celicami in kasnejšo histološko preiskavo razdelili v dve skupini. V prvo skupino smo uvrstili preiskovanke, ki so imele s histološko biopsijo dokazane spremembe na ploščatem epitelu, v drugo skupino

pa smo uvrstili preiskovanke, ki so imele s histološko biopsijo dokazane spremembe na žleznem epitelu. Zanimalo nas je, kakšno je razmerje med patološkimi spremembami ploščatih celic in spremembami žleznih celic ter primerjava povprečne starosti preiskovank teh dveh skupin, kar prikazuje tabela XIX.

Tabela XIX: Povprečna starost preiskovank s spremembami na ploščatih in žleznih celicah.

Histopatološka diagnoza	N	Povprečna starost (leta)	St. odklon
CIN 1, CIN 2/3, P-CA	115	43,6	11,3
L-CGIN, H-CGIN, AIS, A-CA endom., A-CAendocerv., serozni CA jajčnika, AC-mucinozni	47	57,7	17,5

Ugotovili smo, da so preiskovanke s spremembami na ploščatem epitelu mlajše od preiskovank s spremembami na žleznem epitelu. Razlika v povprečni starosti preiskovank je statistično značilna ($p < 0,001$).

5. DISKUSIJA

V obdobju od 2008 do 2012 smo na Oddelku za patologijo, v Laboratoriju za pregledovanje BMV, UKC Maribor ocenili, da so bile patološko spremenjene žlezne celice (AŽC-N, AŽC-VN/AIS, A-CA) prisotne v 594 (0,46 %) BMV. Pogostost patološko spremenjenih žleznihi celic v BMV se je v tem obdobju postopoma zmanjševala, ker se je zaradi uspešnega izvajanja preventivnega državnega programa ZORA izboljšala zanesljivost citopatoloških ocen patoloških sprememb v BMV. Nato smo naše citološke diagnoze primerjali z naknadno histološko biopsijo. Delež histološko dokazanih patoloških sprememb na žleznihi celicah v petletnem opazovanem obdobju narašča. Pri preiskovankah s patološko spremenjenimi žleznihi celicami smo našli večji delež histološko dokazanih patoloških sprememb na ploščatem epitelu kot na žleznihi epitelu.

Pravilna intrerpretacija patološko spremenjenih žleznihi celic je eden največjih izzivov na področju ginekološke citopatologije. V BMV se ni vedno mogoče z gotovostjo odločiti ali gre za spremembo na žleznihi ali na ploščatih celicah. Spremembe na žleznihi celicah se statistično značilno pojavljajo pri starejših preiskovankah, ploščatocelične spremembe pa pri mlajših preiskovankah.

5.1 POGOSTOST PATOLOŠKO SPREMENJENIH ŽLEZNIHI CELIC

Rezultati naše raziskave kažejo, da je pogostost patološko spremenjenih žleznihi celic v brisih materničnega vratu, v obdobju od leta 2008-2012 0,46%. V primerjavi s podatki iz tuje literature je to dober rezultat saj se odstotek patološko spremenjenih žleznihi celic v razvitem svetu giblje med 0,1 in 2,5 % (20, 21, 22, 41).

Delež BMV s patološko spremenjenimi žleznihi celicami smo primerjali s podatki, ki smo ji dobili za Slovenijo in s podatki, ki so jih dobili na Onkološkem inštitutu Ljubljana in v Citološkem laboratoriju Oddelka za patologijo in citologijo Splošne bolnišnice Celje. Naš delež patološko spremenjenih žleznihi celic se je postopno, statistično značilno zmanjšal iz 0,69 % na 0,33 % ($p < 0,0001$). Največji delež BMV s patološko spremenjenimi žleznihi celicami je bil na začetku opazovanega obdobja leta 2008 (0,69 %), kasneje pa začne upadati in se ustavi na 0,33 %. Ta delež odkritih BMV s patološko spremenjenimi žleznihi celicami pa je v zadnjih letih primerljiv s slovenskim povprečjem 0,3 %. V SB Celje in na OI Ljubljana imajo nekoliko nižji delež patološko spremenjenih žleznihi celic in sicer 0,1 %

ter 0,22 % (42, 43). Nekoliko nižji delež patološko spremenjenih žleznih celic pa so v letu 2008 ugotovili tudi na Inštitutu za patologijo Medicinske fakultete v Ljubljani in sicer je bil ta delež 0,23 % (44). Prav tako poroča o zmanjšanem deležu patološko spremenjenih žleznih celic iz 0,88 % na 0,22 % Simona Uhan Kastelic na Oddelku za citopatologijo OIL (43).

Ta trend upadanja deleža patološko spremenjenih žleznih celic v BMV gre predvsem na račun dobre interpretacije BMV in izkušenj presejalcev in citopatologov. Leta 2006 je bila na Onkološkem inštitutu v Ljubljani ustanovljena šola za presejalce, kar je zagotovo pripomoglo k pravilnejši interpretaciji sprememb. Ta šola je bila ustanovljena po zgledu šole za presejalce BMV v Kanadi, kjer imajo zelo nizko incidenco RMV. V okviru programa ZORA so bila za presejalce in citopatologe izpeljana številna dodatna izobraževanja in predavanja. K boljši interpretaciji žleznih sprememb pa je prav tako prispevala uvedba enotne klasifikacije sprememb po Bethesdi in s tem uvedba enotne napotnice. Z vpeljavo nove napotnice smo namreč začeli uporabljati moderne in aktualne diagnostične kriterije, ki jih priporoča klasifikacija po Bethesdi (8, 15).

5.1.1 ATIPIČNE ŽLEZNE CELICE

Izraz AŽC-N se uporablja za žlezne celice, ki kažejo spremembe, ki presegajo tipične benigne reaktivne procese, ne kažejo pa zadostnih lastnosti za diagnozo adenokarcinom (24). AŽC-N je diagnoza, ki je povezana z pomembnimi patološkimi spremembami v 18-83 % primerih v različnih študijah (45). Zaradi teh povezav z malignimi in premalignimi boleznimi Moira D. Wood in sod. priporočajo, da pri preiskovankah s citološko diagnozo AŽC-N naredimo kolposkopijo in kiretažo endocerviksa (16, 45). Pri preiskovankah nad 35 let, ki abnormalno krvavijo iz votline maternice, moramo narediti tudi kiretažo endometrija. Če sta kolposkopija in histološka preiskava negativni, morajo preiskovanke najmanj dve leti (na 4-6 mesecev) hoditi na odvzem BMV (45).

V naši raziskavi smo ugotovili, da se je delež patološko spremenjenih žleznih celic statistično značilno zmanjšal ($p < 0,0001$) predvsem zaradi citopatološke ocene atipične žlezne celice, neopredeljene. V petletnem obdobju opazovanja je bil delež AŽC-N na Oddelku za patologijo, v Laboratoriju za pregledovanje BMV, UKC Maribor povprečno

0,41 % in se je znižal iz začetnih 0,63 % (leta 2008) na 0,25 % (leta 2012). Pogostost citopatološke ocene AŽC-N se je v Splošni bolnišnici Celje prav tako zmanjšala in sicer iz 1,5 % (leta 2003) na 0,10 % (leta 2008), povprečni delež za obdobje od leta 2003-2008 pa je bil 0,40 % (42). Leta 2008 je bil na OIL enak delež atipičnih žlezni celic, neoredeljenih kot na Medicinski fakulteti in sicer 0,18 %, v Splošni bolnišnici Celje pa 0,1 % (42, 43, 44). Ti podatki so primerljivi s podatki v tuji literaturi, kjer se delež atipičnih žlezni celic v BMV giblje od 0,1 % do 2,1 % (22, 24). Zhao s sodelavci je poročal, da je bil delež atipičnih žlezni celic od leta 2005 do 2007 0,41 % (41). Izadi Mood s sodelavci pa je poročal, da je bila pogostost atipije žlezni celic v BMV 0,81 % (21).

5.2 PRIMERJAVA CITOLOŠKIH DIAGNOZ S HISTOLOŠKO PREISKAVO

V pet-letnem opazovanem obdobju smo od 129.016 pregledanih BMV diagnosticirali 594 preiskovankam patološko spremenjene žlezne celice. Od teh 594 preiskovank je imelo 381 preiskovank narejeno naknadno histološko preiskavo. Zanesljivost odkrivanja predrakavih in/ali rakavih sprememb na žlezni celicah v BMV je bila na začetku opazovanega obdobja relativno nizka, nato pa je z leti naraščala. Delež histološko dokazanih patoloških sprememb na žlezni celicah v petletnem opazovanem obdobju narašča in sicer iz 8,5 % na 23,4 % ($p=0,0022$), kar pomeni, da se trend histološko dokazanih žlezni sprememb povečuje.

Preiskovanke s patološko spremenjenimi žlezni celicami v BMV so imele večji delež histološko dokazanih patoloških sprememb na ploščatem (30 %) kot na žlezni epitelu (12 %). Podobne rezultate navajajo tudi drugi avtorji. Parellada in sodelavci so v kasnejših histoloških biopsijah dokazali približno kar trikrat več sprememb na ploščatih kot na žlezni celicah (22).

5.2.1 HISTOLOŠKE DIAGNOZE PRI PREISKOVANKAH Z AŽC-N V BMV

V izbranem opazovanem obdobju smo 526 preiskovankam postavili citološko diagnozo *atipične žlezne celice, neopredeljene*. Od teh 526 preiskovank je imelo 319 (60,6 %) preiskovank narejeno naknadno histološko preiskavo, pri preostalih 207 preiskovankah

(39,4 %) pa tkivna biopsija materničnega vratu ni bila odvzeta. Preiskovanke so spremljali s ponovnim odvzemom brisa po 6 mesecih kot so predpostavljala takratna citološka navodila (46).

S histološko preiskavo smo pri preiskovankah s citopatološko oceno *atipične žlezne celice, neopredeljene* dokazali predrakave in/ali rakave spremembe na ploščatem epitelu (44 primerov CIN 1, 54 primerov CIN2/3, en ploščatocelični karcinom) v 31 %, na žleznem epitelu (5 AIS/CGIN 2, 10 endometrijskih adenokarcinom, 1 karcinom jajčnika) pa samo v 5 % BMV. Pri 188 preiskovankah (59 %) histološka preiskava ni odkrila nobenih bolezenskih sprememb. Sklepamo, da so bile pri teh preiskovankah žlezne celice spremenjene zaradi reaktivnih oz. benignih procesov, kot so vnetje, endocervikalni polip, endometrijski polip, cervicitis in drugo. Te reaktivne oz. benigne spremembe namreč prav tako lahko povzročijo reaktivno atipijo žleznih celic, ki pa je ne moremo vedno zanesljivo ločiti od neoplastičnih sprememb (15). Spremembe na ploščatem in žleznem epitelu skupaj smo ugotovili v 2,5 %, v 2,5 % pa je bila histološka preiskava nereprezentativna. Na Onkološkem inštitutu Ljubljana in v Splošni bolnišnici Celje so s sorodno študijo ugotovili 14,7 % in 45,9 % predrakavih/rakavih sprememb med brisi, ki so bili citološko ocenjeni kot AŽC-N (43, 47). Ti rezultati so skladni s podatki iz tuje literature. Glede na podatke iz tuje literature lahko na podlagi citološke ocene atipične žlezne celice najdemo od 9 do 59 % predrakavih/rakavih sprememb (41, 48). V naši študiji smo ugotovili podoben delež (38,5 %) predrakavih/rakavih sprememb v tej skupini preiskovank. Podobno kot pri nas so tudi na OIL in v Splošni bolnišnici Celje v brisih ocenjenih kot atipične žlezne celice ugotovili večji delež predrakavih/rakavih sprememb na ploščatih celicah kot na žleznih (43, 47).

Ker pa v nekaterih študijah med AŽC prištevajo tudi AŽC-VN, moramo na to biti pozorni pri primerjavi naših podatkov s podatki iz drugih raziskav. AŽC-VN je namreč posebna skupina v klasifikaciji po Bethesda, kamor spada tudi AIS (15). Pri preiskovankah s to citološko oceno pričakovano najdemo večji delež predrakavih/rakavih sprememb v biopsijskih vzorcih (49, 50).

Iz literature je znano, da je diferenciacija celic v brisih zahteven proces. Pravilna interpretacija žleznihi sprememb je eden največjih izzivov na področju ginekološke citologije. V BMV se je zato včasih težko odločiti ali gre za spremembe na ploščatih ali na žleznihi celicah (51). V citološki skupini *patološko spremenjene žlezne celice* so prisotne spremembe na ploščatih celicah v 40-80 %, kar dokazujejo tudi različne študije (41). Zato smo za bolj zanesljivo ločevanje med spremembami na žleznihi in ploščatih celicah začeli uporabljati novo klasifikacijo po Bethesda, ki vsebuje aktualne in moderne diagnostične kriterije (15). Z uporabo nove klasifikacije po Bethesda in s tem sodobnih kriterijev smo izpopolnili tudi ločevanje med predrakavimi in/ali rakavimi spremembami na žleznihi celicah, kar kažejo tudi rezultati naše študije.

5.2.2 HISTOLOŠKE DIAGNOZE PRI PREISKOVANKAH S HUDO ATIPIJO ŽLEZNIHI CELIC/AIS

Citološki kriteriji za oceno hude atipije žleznihi celic in AIS v BMV so bolj natančno opredeljeni in reproducibilni (15, 16). Po citološki diagnozi AŽC-VN/AIS citološke in ginekološke smernice priporočajo histološko preiskavo, kar so ginekologi upoštevali pri večini preiskovank. Pri tej skupini preiskovank pa smo kljub citološki oceni, ki sumi na neoplastične spremembe s histološko preiskavo, odkrili 20 % benignih sprememb (endometrijski in endocervikalni polipi, mikroglandularna hiperplazija, cervicitis, tubarna metaplazija, hiperplazija endometrija). Žlezni epitel je na področju polipa velikokrat mehansko stimuliran, kar povzroči hude reaktivne ter reparativne spremembe, ki oponašajo neoplastične in jih zato napačno ocenimo (15, 41, 49).

V petletnem obdobju opazovanja smo na Oddelku za patologijo, v Laboratoriju za pregledovanje BMV, UKC Maribor med vsemi pregledanimi brisi odkrili 0,04 % (52 BMV) brisov s kategorijo *huda atipija žleznihi celic/AIS*. Od teh 52 preiskovank jih je imelo 46 (88,5 %) narejeno naknadno histološko preiskavo.

V tako ovrednotenih brisih so bile navzoče predrakave/rakave spremembe v 80 % primerov, od tega v 30 % na ploščatem epitelu, v 37 % na žleznem epitelu in v 13 % primerih na ploščatem in žleznem epitelu skupaj. V 20 % primerov je bila histološka preiskava negativna, v 11,5 % pa ni bila narejena. 22 % preiskovank je imelo invazivni endometrijski adenokarcinom, 6,50 % invazivni endocervikalni adenokarcinom, 11 % AIS

oz. H-CGIN, 4 % invazivni ploščatocelični karcinom, 22 % CIN2/3, 4 % CIN1 in 11 % preiskovank je imelo CIN2/3+AIS. AIS je ena stopnja pred invazivnim adenokarcinomom. V nekaterih primerih lahko zajamemo s krtačko samo zgornji neinvazivni del (AIS), bolj globoko v tkivu pa lahko s naknadno histološko preiskavo ugotovimo že invazivni adenokarcinom.

Ločevanje med neoplastičnimi spremembami na ploščatem in žlezem epitelu v BMV ni vedno lahko, saj je ocenjevanje morfoloških lastnosti v gostih, celičnih skupkih zapleteno. Splošno znano je, da predrakave spremembe ploščatega epitela visoke stopnje v BMV, ki vraščajo v endocervikalne žleze, lahko oponašajo predrakave spremembe na žleznih celicah (52). Lahko pa sta obe vrsti predrakavih sprememb v brisu prisotni hkrati. V tuji literaturi poudarjajo, da se predrakave ploščate spremembe pojavljajo hkrati z žleznimi spremembami v 25 % (45), v naši študiji smo v tej skupini preiskovank zasledili 6 primerov (13 %).

Na onkološkem inštitutu v Ljubljani so v njihovi raziskavi dobili podobne rezultate. V skupino *huda atipija žleznih celic/AIS* so uvrstili 0,05 % vseh brisov. Med katerimi je bilo 67 % predrakavih/rakavih sprememb od tega 35 % na ploščatem epitelu in 32 % na žlezem epitelu (43).

Rezultatov naše raziskave in raziskave na Onkološkem inštitutu v Ljubljani pa nismo mogli enačiti z rezultati iz tuje literature, ker klasifikacija po Bethesda ne vsebuje diagnostične skupine *huda atipija žleznih celic/AIS*. V klasifikaciji po Bethesda je namreč diagnostična skupina *huda atipija žleznih celic/AIS* ločena v dve posamezni diagnostični skupini: AŽC-VN in AIS (15).

5.2.3 HISTOLOŠKE DIAGNOZE PRI PREISKOVANKAH S INVAZIVNIM ADENOKARCINOMOM

V časovnem obdobju, ki smo ga upoštevali v naši raziskavi smo na Oddelku za patologijo, v Laboratoriju za pregledovanje BMV, UKC Maribor uvrstili 0,01 % BMV (N=16) v skupino *invazivni adenokarcinom*. Histološka preiskava je v vseh primerih dokazala maligne spremembe: 75,0 % preiskovank je imelo invazivni endometrijski adenokarcinom, 12,5 % preiskovank invazivni ploščatocelični karcinom, 6,3 % serozni papilarni CA

jajčnika in 6,3 % preiskovank mucinozni adenokarcinom. Nobena ocena brisa ni bila napačno pozitivna.

Skupina preiskovank s citološko oceno *invazivni adenokarcinom* je imela v nasprotju s skupino preiskovank z diagnozo *atipične žlezne celice, neopredeljene ter huda atipija žleznih celic/AIS* očitno višji delež pravilno diagnosticiranih patoloških sprememb. Na Onkološkem inštitutu Ljubljana so se v njihovi študiji srečali s sorodnimi rezultati in sicer so v skupino invazivni adenokarcinom uvrstili 0,03 % brisov. Biopsija je v 91,8 % primerov dokazala invazivni adenokarcinom, v 5,8 % je bil dokazan invazivni ploščatocelični karcinom, v 2,7 % primerov pa je bil prisoten CIN2/3 (43). Obe študiji sta torej pričakovano dokazali, da je zanesljivost citološke diagnoze invazivni adenokarcinom za odkrivanje RMV visoka. V nasprotju pa so v številnih študijah ugotovili, da je BMV nezanesljiv za detekcijo endocervikalnega in endometrijskega adenokarcinoma. Nezanesljiva je tudi kolposkopska preiskava, ker žlezne spremembe velikokrat niso vidne na zunanjem delu materničnega vratu, medtem ko ploščatocelično neoplazijo s to preiskavo lahko zaznamo (45).

PRIMERJAVA HISTOLOŠKIH SPREMOMB MED RAZLIČNIMI STOPNJAMI ATIPIJ ŽLEZNIH CELIC

Med histološkimi diagnozami smo v skupini preiskovank s citološko diagnozo AŽC-N zaznali visok delež negativnih diagnoz in to kar 59 %, kljub temu pa smo tudi v tej skupini ugotovili predrakave spremembe ne le na žlezem ampak tudi na ploščatem epitelu, našli pa smo tudi adenokarcinom in ploščatocelični karcinom.

Ne glede na stopnjo atipije žleznih celic smo v vseh skupinah ugotovili precejšen odstotek predrakavih sprememb na ploščatem epitelu, kar je primerljivo s tujimi podatki. Delež histološko dokazanih sprememb na ploščatem epitelu je bil 30 %, na žlezem epitelu pa 12 %. Negativni histološki izvid smo dobili pri 52 % primerov.

Pri 12 od 319 preiskovank s citološko diagnozo AŽC-N smo našli histološko karcinome in sicer 1 ploščatocelični karcinom, 1 serozni karcinom jajčnika in 10 endometrijskih adenokarcinoma.

V raziskavah, kjer so posebej analizirali atipične endometrijske celice in atipične endocervikalne celice, so ugotovili boljšo korelacijo atipičnih endometrijskih celic s končno histološko diagnozo v primerjavi z atipičnimi endocervikalnimi celicami (45). Tudi

v naši študiji smo ugotovili, da je bil endometrijski adenokarcinom najpogostejši tip raka v brisih materničnega vratu.

Za zagotovitev optimalne obravnave preiskovank moramo presejalci in citopatologi natančno slediti morfološkim kriterijem. Citološki diagnozi AŽC-N namreč sledijo kompleksni, obremenjujoči diagnostični postopki za odkrivanje morebitnih predrakavih/rakavih obolenj. Še posebej moramo biti pozorni pri preiskovankah s citološko oceno AŽC-N na morebitne predrakave spremembe ploščatega epitela, ki so v tkivnem vzorcu pogostejše od žleznih, kar smo odkrili tudi v naši študiji ter v tujih študijah (41, 45).

Zhao in sodelavci so v svoji raziskavi, pri preiskovankah s patološko spremenjenimi žleznimi celicami v BMV odkrili v naknadni histološki preiskavi 33,5 % predrakavih in/ali rakavih sprememb. Od tega je bilo 22,8 % ploščatoceličnih neoplazij, 3,2 % je bilo žleznih neoplazij ter 8,2 % endometrijskih neoplazij (41). Izadi Mood in sodelavci so v svoji triletni študiji v Iranu odkrili v tkivnih vzorcih pri preiskovankah s citološko diagnozo AŽC-N celo 52,4 % predrakavih in/ali rakavih sprememb. Od tega je bilo največ ploščatoceličnih sprememb in sicer kar 31 % (21).

5.3 KLINIČNI POMEN PATOLOŠKO SPREMENJENIH ŽLEZNIH CELIC

Znano je, da pri preiskovankah s patološko spremenjenimi žleznimi celicami pogosto odkrijemo klinično pomembne patološke spremembe, ki jih je potrebno zdraviti. Patološko spremenjene žlezne celice so lahko znak resnih patoloških sprememb. Tudi tuje raziskave opozarjajo pri preiskovankah s patološko spremenjenimi žleznimi celicami na velik delež klinično pomembnih diagnoz in sicer od 17 do 80 % (21, 22, 23, 53).

V naši raziskavi je bil pri preiskovankah z AŽC-N delež klinično pomembnih diagnoz 23,8 %, pri preiskovankah z AŽC-VN/AIS ter A-CA pa kar 82,3 %. V Splošni bolnišnici Celje pa je bil delež klinično pomembnih diagnoz kar 45,9 % (47). Izadi Mood in sodelavci so prav tako med preiskovankami s patološko spremenjenimi žleznimi celicami v BMV v Iranu našli klinično pomembne predrakave in/ali rakave spremembe v 52,4 % (21), v podobni raziskavi v Braziliji pa so odkrili klinično pomembne spremembe materničnega vratu in endometrija v 59,5 % (22). Pri klinično pomembnih spremembah je namreč večje

tveganje za razvoj malignih neoplastičnih procesov, ali pa so že same po sebi malignomi. Vse zahtevajo agresivnejše zdravljenje (26).

Med klinično manj pomembne histološke diagnoze smo uvrstili: cervicitis, endocervikalni in endometrijski polip, tubarno mataplazijo, mikroglandularno hiperplazijo, CIN1 in L-CGIN. Sem sodijo torej spremembe, kjer zadostujeta sledenje ali manj agresivno zdravljenje. CIN 1 spontano nazaduje v prvem letu v do 70 %, v treh letih v 90 % (14, 28, 49). V naši študiji je bil pri preiskovankah z AŽC-N delež klinično manj pomembnih diagnoz 73,7 %, od tega smo dobili v 59 % negativni histološki izvid ter v 14,7 % CIN1. Pri preiskovankah s citološko diagnozo AŽC-VN/AIS in A-CA pa je bil delež klinično manj pomembnih diagnoz samo 17,7 %, od tega smo dobili v 14,5 % negativen histološki izvid ter v 3,2 % CIN 1.

Pri preiskovankah s patološko spremenjenimi žleznimi celicami v BMV smo s histološko preiskavo odkrili 43 invazivnih karcinomov, kar predstavlja 11 % vseh BMV s patološko spremenjenimi žleznimi celicami. Med njimi je bil najbolj zastopan, kar v 74 %, invazivni endometrijski adenokarcinom (N=32). Pri tem je pomembno poudariti, da je presejalni program ZORA namenjen odkrivanju patoloških sprememb na materničnem vratu, vendar pa bris materničnega vratu včasih omogoča tudi zaznavo sprememb v endometriju. Endometrijske celice lahko najdemo v brisih med proliferacijsko fazo menstrualnega cikla. Prisotnost običajnih, še bolj pa atipičnih endometrijskih celic v pomenopavzalnem obdobju je lahko prvi znak endometrijskega karcinoma (15). Nepričakovano je bil drugi najbolj zastopan karcinom ploščatocelični in to kar v 5 primerih (12 %) od vseh 43 invazivnih karcinomov. V 3 primerih (7 %) smo našli endocervikalni adenokarcinom, prav tako v 2 primerih (5 %) serozni karcinom jajčnika ter v enem primeru (2 %) mucinozni adenokarcinom.

Kljub razmeroma dobro definiranim citološkim kriterijem za endocervikalni, endometrijski adenokarcinom in karcinom jajčnika, se njihove morfološke slike deloma lahko prekrivajo (15, 54, 55). V tuji literaturi poudarjajo, da je prisotnost malignih žleznih celic v vodenem ozadju, penastih histiocitov, razpadlih celic in fagocitoze v brisih bolj značilna za endometrijski adenokarcinom in adenokarcinom jajcevoda, kot za adenokarcinom drugega izvora (55).

5.4 VPLIV STAROSTI PREISKOVANK NA PREDRAKAVE IN RAKAVE SPREMEMBE PLOŠČATIH IN ŽLEZNIH CELIC V BRISIH MATERNIČNEGA VRATU

Iz podatkov v literaturi in tudi iz vsakdanje prakse vemo, da ima pomembno vlogo na razvoj predrakavih in/ali rakavih sprememb ploščatega in žleznega epitela tudi starost. Starost preiskovank s patološko spremenjenimi žleznimi celicami je v naši študiji bila v območju od 21 do 87 let. Spremembe na žleznih celicah lahko torej odkrijemo v vseh starostnih obdobjih, ki jih pokriva presejalni program ZORA (20 do 64 let).

V naši raziskavi smo želeli ugotoviti vpliv starosti preiskovank na klinično pomembne in manj pomembne histološke diagnoze v Laboratoriju za pregledovane BMV v UKC Maribor v letih od 2008 do 2012 in ali se bodo spremembe na žleznih celicah pojavljale pogosteje pri starejših ali pri mlajših preiskovankah.

Primerjali smo starost preiskovank ob ugotovitvi klinično pomembnih in manj pomembnih diagnoz med 381 preiskovankami. Povprečna starost preiskovank s klinično pomembnimi histološkimi diagnozami je bila 47,9 let. Povprečna starost preiskovank s klinično manj pomembnimi diagnozami pa je bila 44,1 let. Razlika v starosti preiskovank med skupinama ni bila statistično značilna ($p=0,1556$).

Nato smo klinično pomembne histološke diagnoze razdelili v dve skupini. V prvo smo uvrstili predrakave spremembe na ploščatem in žlezem epitelu, v drugo skupino pa smo uvrstili maligne spremembe. Povprečna starost preiskovank s predrakavimi spremembami na ploščatem in žlezem epitelu je bila 42,4 let, povprečna starost preiskovank z malignimi spremembami pa je bila 61,7 let. Preiskovanke s predrakavimi spremembami na ploščatem in žlezem epitelu so bile statistično značilno mlajše ($p<0,001$) kot preiskovanke z malignimi spremembami.

V nadaljevanju smo preiskovanke z različno stopnjo sprememb na žleznih celicah in z naknadno histološko preiskavo razdelili v dve skupini. V prvo skupino smo uvrstili preiskovanke, ki so imele s histološko preiskavo dokazane spremembe na ploščatem epitelu, v drugo skupino pa smo uvrstili preiskovanke, ki so imele dokazane spremembe na žlezem epitelu. Ugotovili smo, da je povprečna starost preiskovank s patološkimi spremembami na ploščatem epitelu 43,6 let, povprečna starost preiskovank s spremembami na žlezem epitelu pa 57,7 let. Torej so preiskovanke s ploščatoceličnimi spremembami

statistično značilno mlajše ($p < 0,001$) od preiskovank z žleznimi spremembami, kar smo tudi predvidevali.

Naši rezultati so primerljivi s tujimi podatki. Zhao in sodelavci so v svoji raziskavi pri preiskovankah s patološko spremenjenimi žleznimi celicami histološko ugotovili, da se predrakave in/ali rakave ploščatocelične spremembe pogosteje pojavljajo pri mlajših preiskovankah (< 40 let) med tem ko se žlezne spremembe pogosteje pojavljajo pri preiskovankah starih več kot 40 let (41).

O podobnih rezultatih je poročala tudi Planinc, ki je ugotovila, da so preiskovanke s ploščatoceličnimi spremembami v tkivni biopsiji mlajše (povprečna starost je bila 38,9 let) kot preiskovanke z spremembami na žlezem epitelu (povprečna starost je bila 52,6 let). Dokazala je tudi, da so preiskovanke s predrakavimi spremembami na ploščatem in žlezem epitelu mlajše kot preiskovanke z malignimi spremembami (42).

6. SKLEP

1. Delež BMV s patološko spremenjenimi žleznimi celicami se je na Oddelku za patologijo, v Laboratoriju za pregledovanje BMV, UKC Maribor v obdobju od 2008 do 2012 značilno zmanjšal iz 0,69 % na 0,33 %, predvsem na račun citološke diagnoze *atipične žlezne celice, neopredeljene*.
2. Zanesljivost odkrivanja predrakavih in/ali rakavih sprememb na žleznih celicah v BMV je bila na začetku opazovanega obdobja relativno nizka, nato pa je z leti naraščala. Ne glede na stopnjo atipije žleznih celic smo v vseh skupinah ugotovili precejšen odstotek predrakavih sprememb na ploščatem epitelu (30 %).
3. Pri preiskovankah s citološko oceno AŽC-N in opravljeno tkivno biopsijo smo odkrili klinično pomembne spremembe v 23,8 %, pri preiskovankah s citološko oceno AŽC-VN/AIS ter A-CA pa kar v 82,3 %. Pri preiskovankah s patološko spremenjenimi žleznimi celicami v BMV smo z histološko preiskavo našli 43 (11 %) invazivnih karcinomov, med katerimi je bil najpogostejši tip endometrijski adenokarcinom.
4. Starost preiskovank pomembno vpliva na nastanek sprememb na žlezem ali ploščatem epitelu. Povprečna starost preiskovank s histološko potrjenimi žleznimi spremembami je bila 57,7 let, preiskovank s ploščatoceličnimi spremembami pa 43,6 let. Razlika v letih je statistično značilna. Preiskovanke s predrakavimi spremembami na ploščatem in žlezem epitelu so statistično značilno ($p < 0,001$) mlajše (42,4 let) kot preiskovanke z malignimi spremembami (61,7 let). Starost preiskovank pa ne vpliva na razvoj klinično pomembnih in manj pomembnih diagnoz, torej so vse preiskovanke enako ogrožene in jim moramo posvetiti enako mero pozornosti.

7. LITERATURA

1. Lynge E, Rebolj M: Primary HPV screening for cervical cancer prevention: results from European trials. *Nat Rev Clin Oncol* 2009; 6(12): 699-706.
2. Rebolj M: Presejanje za raka materničnega vratu s testom HPV-izsledki evropskih raziskav. Zbornik predavanj, 2. Izobraževalni dan programa ZORA, Onkološki inštitut Ljubljana, Ljubljana 2011: 40-42.
3. Poljak M: Cepljenje proti HPV. Zbornik predavanj, 2. Izobraževalni dan programa ZORA, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Ljubljana 2011: 43-44.
4. Ivanuš U, Poljak M, Pohar Marinšek Ž, Uršič Vrščaj M: Prve izkušnje s triažnim testom HPV v Sloveniji. Zbornik predavanj, 2. Izobraževalni dan programa ZORA, Onkološki inštitut Ljubljana, Ljubljana 2011: 45-51.
5. Ivanuš U, Primic Žakelj M: Uporaba triažnega testa HPV v programu ZORA v letu 2012. Zbornik predavanj, 4. Izobraževalni dan programa ZORA, Onkološki inštitut Ljubljana, Ljubljana 2013: 27-34.
6. <http://www.cancerscreening.nhs.uk/cervical/sentinelfinalreport.pdf>06.02.2014
7. Primic Žakelj M, Ivanuša U: Deset let delovanja programa ZORA. Zbornik predavanj, 4. izobraževalni dan programa ZORA, Onkološki inštitut Ljubljana, Ljubljana, 2013: 7-11.
8. <http://globocan.iarc.fr/factsheets/cancers/cervix.asp>15.05.2014
9. <http://eu-cancer.irac.fr>13.05.2014
10. Primic Žakelj M, Bračko M, Hočevar M, Krajc M, Pompe-Kirn V, Strojani P, Zadnik V, Zakotnik B, Žagar T: Rak v Sloveniji. Epidemiologija in register raka, Register raka Republike Slovenije, Onkološki inštitut Ljubljana, Ljubljana, 2013.
11. <http://slora.si/institut-za-varovanje-zdravja-rs>10.12.2014
12. Register ZORA in register RAKA, uradno objavljeni in neobjavljeni podatki za leto 2009, 2010 in 2011.
13. Paloma A, Moreno V, Xavier F: International trends in the incidence of cervical cancer: I. Adenocarcinoma and adenosquamous cell carcinomas, *Int. J. Cancer*, 1998; 75: 536-545.
14. Tavassoli, Devilee P: WHO Classification of tumors, Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs. IARC Press, Lyon, 2003: 259-279.
15. Solomon D, Nayar R: The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology, 2nd Edition, Springer-Verlag, New York, 2004.

16. Pogačnik A, Strojjan Fležar M, Repše-Fokter A, Snoj V, Kirbiš Srebotnik I, Primic-Žakelj M: Navodila za citološke izvide brisov materničnega vratu-Klasifikacija po Bethesda, Onkološki inštitut Ljubljana, Ljubljana, 2011.
17. Pogačnik A: Citološki izvid-klasifikacija po Bethesda, Onkologija, Ljubljana, 2011: 44-46.
18. Edit Titmuss and Cliffe Adams: Cervical Cytology, Conventional and Liquid-Based, Royal Society of Medicine Press Ltd, London, 2007: 8-18.
19. Jimenez-Ayala M, Jimenez-Ayala Portillo B: Cytopathology of the Glandular Lesions of the Female Genital Tract, Vol.20, Karger, Madrid, 2011: 1-44.
20. DeMay RM: The Pap Test. American Society of Clinical Pathology, Chicago, 2005: 250-252.
21. Izadi Mood N, Eftekhar Z: A cytohistologic study of atypical glandular cells detected in cervical smears during cervical screening tests in Iran. *Int J Gynecol Cancer*, 2006;16(1): 257-261.
22. Parellada CI, Schivartche PL, Pereyra EA, Chuery AC, Mioni SM, Carvalho FM: Atypical glandular cells on cervical smears. *Int J Gynecol Obstet*, 2002; 78: 227-234.
23. Scheiden R, Wagener C, Knolle U, Dippel W, Capesius C: Atypical glandular cells in conventional cervical smears. Incidence and follow-up. *BMC Cancer*, 2004; 4: 37.
24. 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.
25. Snoj V, Pogačnik A. Adenokarcinom materničnega vratu. Zbornik predavanj, 3. Izobraževalni dan programa ZORA, Onkološki inštitut Ljubljana, Ljubljana, 2012: 20-23.
26. Borko E, Takač I, Gorišek B, But I, Kralj B: Ginekologija. 2. Dopolnjena izdaja, Univerza v Mariboru, Maribor, 2006: 67-203.
27. Horvat R, Herbert A, Jordan J, Bulten J, Wiener HG: Techniques and quality assurance guidelines for histopathology. European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening. 2nd edition, International Agency for research on Cancer, 2008: 173-189.
28. Uršič Vrščaj M, Rakar S, Možina A, Kobal B, Takač I, Deisinger D, Zore A: Smernice za celostno obravnavo žensk s predrakavimi spremembami materničnega vratu, Onkološki inštitut Ljubljana, Ljubljana, 2011.
29. Robert J Kurman: Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract, 5nd edition, Springer-Verlag, New York, 2002: 225-248.

30. Zaino RJ: Glandular Lesions of the Uterine Cervix. *Mod Pathol* 2000; 13(3): 261-274.
31. Nucci MR, Lee KR, Crum CP: Cervix, V: Flechter C: Diagnostic histopathology of tumors, 2nd edition, Churchill Livingstone, London, 2007; (1): 567-732.
32. McCluggage WG: Endocervical glandular lesions: controversial aspects and ancillary techniques. *J Clin Pathol* 2003; 56: 164-173.
33. Izadi-Mood N, Sarmadi S, Sotoudeh K: Cervical Glandular Intraepithelial Neoplasia (CGIN), V: Srivastava S: Intraepithelial Neoplasia; *In Tech* 2012: 337-365.
34. Možina A, Rakar S, Uršič Vrščaj M: Uvod v kolposkopijo, terminologija in dokumentacija. 2. Slovenski kongres o cervikalni patologiji z mednarodno udeležbo in kolposkopskim tečajem, Zbornik 2007: 10-13.
35. Smrkolj Š, Jančar N, Možina A: Kolposkopski karton. V: Smrkolj Š: Obnovitveni kolposkopski tečaj, Zbornik predavanj, Ljubljana, 2012.
36. Smrkolj Š, Jančar N, Ivanuš U: Pomen kakovosti kolposkopije za preprečevanje prekomerne diagnostike in zdravljenja ter preprečevanje spregledanih patoloških sprememb materničnega vratu, Zbornik predavanj, 4. Izobraževalni dan programa ZORA, Onkološki inštitut Ljubljana, 2013: 35-44.
37. Smrkolj Š: Citološke in biopsijske tehnike in kolposkopija v ginekologiji. *Med Razgl* 2011; 50(2): 45-54.
38. Wiener HG, Klinkhamer P, Schenck U, Bulten J, Bergeron C, Herbert A: Laboratory guidelines and quality assurance practices for cytology. European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening, 2nd edition, Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg, 2008: 153-170.
39. Geldenhuys L, Murray ML: Sensitivity and specificity of the Pap smear for Glandular Lesions of the Cervix and Endometrium. *Acta Cytologica* 2007; 51(1): 47-50.
40. Frable WJ: Error reduction and risk management in cytopathology, *Semin Diagn Pathol*, 2007; 24(2): 77-88.
41. Zhao C, Florea A, Onisko A, Marshall Austin R: Histologic follow-up results in 662 patients with Pap test findings of atypical glandular cells: Results from a large academic womens hospital laboratory employing sensitive screening methods. *Gynecologic Oncology* 2009; 114: 383-389.
42. Planinc A, Fokter-Repše A, Golouh R: Follow-up of females with atypical glandular cells on Pap smears. *Acta Medico-Biotechnica* 2012; 5(2): 33-39.

43. Uhan Kastelic S: Zanesljivost diagnosticiranja patoloških sprememb na žlezni celicah v brisih materničnega vratu. Magistrska naloga, Univerza v Ljubljani, Ljubljana 2014.
44. Žerovnik V: Atipične žlezne celice v brisih materničnega vratu. Diplomaska naloga, Univerza v Ljubljani, Ljubljana 2011.
45. Moira D. Wood, Horst JA, Bibbo M: Weeding Atypical Glandular Cell Look-Alikes From the True Atypical Lesions in Liquid-Based Pap Tests: a review. *Diagnostic Cytopathology* 2006; 35: 12-17.
46. Uršič Vrščaj M, Rakar S, Možina A, Kobal B, Takač I, Deisinger D: Smernice za celostno obravnavo žensk s predrakavimi spremembami materničnega vratu, Onkološki inštitut Ljubljana, 2006.
47. Irgel N, Salobir L, Antolovič B, Seher AK, Šramek Zatler S, Repše Fokter A: Clinical significance of atypical glandular cells in cervical smears. XLIII. Memorialni sestanek profesorja Janeza Plečnika, Ljubljana 2012: 199-202.
48. DeSimone CP, Day ME, Tovar MM: Rate of pathology from atypical glandular cell Pap tests classified by the Bethesda 2001 nomenclature. *Obstet Gynecol* 2006, 107(6): 1285-1291.
49. Dalla Nora LC, Azara CZ, Pace EL, Martins CM, Zeferino LC, Westin MC, Derchain SF, Rabelo-Santos SH: Cytomorphological criteria, subclassification of endocervical glandular cell abnormalities and histopathological outcome. A frequency study. *Diagnostic Cytopathology* 2010; 38(11): 806-810.
50. Kumar N, Bongiovanni M, Molliet MJ, Pelte MF, Egger JF, Pache JC: Reclassification and analysis of clinical significance of atypical glandular cells on ThinPrep using the Bethesda 2001: Geneva experience. *Swiss Med Wkly* 2007; 137: 635-641.
51. 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.
52. Kloboves Prevodnik V, Pohar Marinšek Ž, Zalar J, Mitič D, Primic Žakelj M: Abnormal glandular cells in cervical smears: reliability of cytological diagnosis. *Cytopathology* 2009; 20(1): 78.
53. Pisal NV, Sindos M, Desai S, Mansell E, Singer A: How significant is a cervical smear showing glandular dyskaryosis?. *Obstet Gynecol* 2003; 108: 209-212.
54. Koss LG, Gompel C. Introduction to gynecologic cytopathology with histologic and clinical correlations. Williams & Wilkins, Baltimore 1999.

55. Lai CR, Hsu CY, Tsay SH, Li AF: Clinical significance of atypical glandular cells by the 2001 Bethesda System in cytohistologic correlation. *Acta Cytol* 2008; 52(5): 563-567.