

# Pomen kakovosti histološke diagnostike za preprečevanje prekomernega zdravljenja in preprečevanje spregledanih patoloških sprememb materničnega vratu

Margareta Strojan Fležar<sup>1</sup>, Urška Ivanuš<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Inštitut za patologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Korytkova 2, 1000 Ljubljana

<sup>2</sup>Oncološki inštitut Ljubljana, Zaloška 2, 1000 Ljubljana

## Povzetek

Histopatološka diagnoza patoloških sprememb materničnega vratu ostaja ključna za odločitev o morebitnem zdravljenju in tudi »zlati standard« za primerjavo s citološkimi in/ali kolposkopskimi izvidi in za ocenjevanje kontrole kakovosti obeh postopkov. Histopatološke izvide vseh biopsij materničnega vratu zbirajo in beležijo v registru ZORA, kar omogoča spremljanje pojavnosti raka materničnega vratu (RMV) in predrakavih sprememb v Sloveniji. To je tudi pomemben kazalnik kakovosti in uspešnosti presejalnega programa ZORA. Analiza histopatoloških izvidov iz registra ZORA in primerjava med letoma 2008 in 2012 je pokazala, da se je povečalo tako absolutno število kot delež konizacij brez cervikalne intraepitelijske neoplazije (CIN), kar pomeni, da se je v tem obdobju povečalo prekomerno zdravljenje sprememb na materničnem vratu za okoli 5 odstotnih točk. V istem času se je najbolj zmanjšal delež CIN 2 (za okoli 5 odstotnih točk), za katerega podatki iz tuje literature navajajo, da je najbolj variabilna diagnoza med vsemi CIN. Izsledki naše analize kažejo, da je pri tej histopatološki diagnozi največja variabilnost v njenem deležu med laboratoriji. Zaradi pomembne vloge histopatološke diagnoze v postopkih obravnave bolnic s spremembami materničnega vratu, moramo stremeti za zagotavljanjem kakovosti tudi na področju histopatološke diagnostike, ki zajema vse postopke od odvzema tkivne biopsije do končne histopatološke diagnoze.

**Ključne besede:** ZORA, histopatološki izvid, maternični vrat, CIN.

## 1 Uvod

V zadnjih letih se na področju odkrivanja predrakavih sprememb in raka materničnega vratu (RMV) z uporabo komercialno dostopnih testov za humane papiloma viruse (HPV) odpirajo nove možnosti v postopkih presejanja (1, 2). Nadaljnji postopki po odkritju sprememb v brisu materničnega vratu bodisi s svetlobno mikroskopsko preiskavo celic ali s pozitivnim testom HPV so predvideni v algoritmih Smernic za celostno obravnavo žensk s predrakavimi spremembami materničnega vratu (2). Metode diagnostičnih postopkov ostajajo enake in predvidevajo kolposkopijo in histopatološko preiskavo tkivnih vzorcev, odvzetih iz materničnega vratu. Histopatološka diagnoza ostaja ključna za odločitev o morebitnem zdravljenju oziroma »zlati standard«, kar pomeni, da je histopatološki izvid referenca za primerjavo s citološkimi in/ali kolposkopskimi izvidi in ocenjevanje kontrole kakovosti obeh postopkov (3). Histopatološki izvidi vseh biopsij materničnega vratu (MV) se zbirajo in beležijo v Registru ZORA (za vse patološke spremembe in tudi normalno tkivo MV) in Registru raka RS (za CIN3 in RMV), kar omogoča spremljanje pojavnosti

RMV in predrakavih sprememb v Sloveniji in omogoča nadzor nad kakovostjo presejalnega programa ZORA (1).

Zaradi pomembne vloge histopatološke diagnoze v postopkih obravnave bolnic s spremembami materničnega vratu, moramo stremeti za zagotavljanjem kakovosti tudi na področju histopatološke diagnostike, ki zajema vse postopke od odvzema tkivne biopsije do končne histopatološke diagnoze.

## 2 Zagotavljanje kakovosti dela na področju histopatološke diagnostike neoplastičnih sprememb materničnega vratu

### 2.1 Odvzem biopsije – ginekolog

Zanesljivost histopatološke diagnoze je najprej odvisna od reprezentativnosti in kakovosti kolposkopsko odvzetih odščipov MV ali ekscizije transformacijske cone ali konizacije. Vzorčenje je ključnega pomena; če lezija v tkivni biopsiji ni zajeta ob odvzemu, je s histopatološkim pregledom ne moremo diagnosticirati. Za odščipe je nujna takojšnja

fiksacija v kakovostnem formalinu (4 % pufranem formalinu), ki ohrani tkivo za nadaljnjo obdelavo (3, 4). Z drobnimi vzorci (velikosti nekaj mm), ki so prekriti s tankim epitelijem, moramo ravnati previdno, da preprečimo odluščenje in mehansko poškodbo epitelija s potencialnimi diagnostičnimi spremembami že med odvzemom. Večje tkivne vzorce ekscizije transformacijske cone ali konizacije lahko pošljemo v laboratorij sveže ali ustrezno fiksirane, odvisno od dogovora z laboratorijem (3, 4).

## 2.2 Postopki obdelave tkivnih vzorcev materničnega vratu – laboratorij

Ob sprejemu tkivnega vzorca v laboratorij za patologijo sledimo standardnim operativnim postopkom. Preverjamo podatke o naročniku in ujemanje identifikacijskih podatkov bolnice in oznak na napotnici z oznakami na posodah s tkivnimi vzorci. Sledi makroskopski opis in izmera vzorcev, nato pa standardni postopki obdelave tkiva (3, 4). Pri majhnih tkivnih vzorcih kot so odščipi MV je ključnega pomena pravilna orientacija tkivnega vzorca pri vklapljanju v parafin, saj le-ta zagotavlja, da bo pri kasnejšem rezanju na mikrotomu v 5 mikronov debeli tkivni rezini zajet epitelij na površini odvzema, kjer pričakujemo patološke spremembe. Tkivne vzorce MV režemo na več (npr. 5) različnih globinah v razmaku vsaj 50 mikronov, kar zagotavlja, da pregledamo več nivojev globine odvzetega tkiva. Dodatno rezanje globljih nivojev je še posebej nujno v primerih, če stopnja bolezenskih sprememb v bioptičnem vzorcu ni skladna s kolposkopskim ali citološkim izvidom (5, 6). Tkivne rezine standardno obarvamo s hematoksilinom in eozinom.

## 2.3 Histopatološka diagnoza – patolog

Po evropskih priporočilih za zagotavljanje kakovosti v presejalnih programih za RMV priporočajo, da predrakave spremembe in RMV ocenjujemo skladno s klasifikacijo Svetovne zdravstvene organizacije (SZO), kar je praksa tudi v Sloveniji (3, 7). Kriteriji za ocenjevanje treh stopenj cervikalne intraepitelijske neoplazije (CIN) in različnih histoloških tipov RMV so opisani in slikovno predstavljeni v knjigi SZO in mnogih strokovnih knjigah s področja ginekološke patologije in so uveljavljeni tudi v uspešnih presejalnih programih v Evropi (7, 8, 9, 10). Patologi usvojijo ocenjevanje teh sprememb v programu specializacije. Vendar vsakodnevna praksa kakor tudi izsledki objavljenih študij kažejo, da je ocenjevanje različnih stopenj CIN slabo ponovljivo (3, 9, 11).

Zadnja obsežna multicentrična študija, v kateri so ponovno ocenili več kot 1000 primerov različnih stopenj CIN, je potrdila prej objavljene izsledke,

da je najslabše ponovljiva diagnoza CIN 2 (strinjane samo v 50 % primerov), navajajo tudi visoko variabilnost v deležu CIN2 med različnimi (centri) laboratoriji, ki so bili vključeni v študijo (11). CIN 2 morfološko lahko posnema nekatere reaktivne ali reparativne atipije ploščatega metaplastičnega epitelija, nezrelo ploščatocelično metaplazijo, težavno je tudi ocenjevanje atipij v atrofičnem ploščatem epiteliju (9).

Zanimivo je, da so se patologi v tej študiji slabo ujemali tudi glede razlikovanja med CIN 1 in negativnimi primeri (brez CIN ali RMV), podobno kot v drugi znani študiji ALTS (12). Najbolj ponovljivi diagnozi sta bili sicer CIN 1 in CIN 3, variabilnost pa je bila spet večja pri mikroinvazivnem ploščatoceličnem karcinomu (11).

## 3 Analiza histopatoloških izvidov vzorcev materničnega vratu, zbranih v registru ZORA

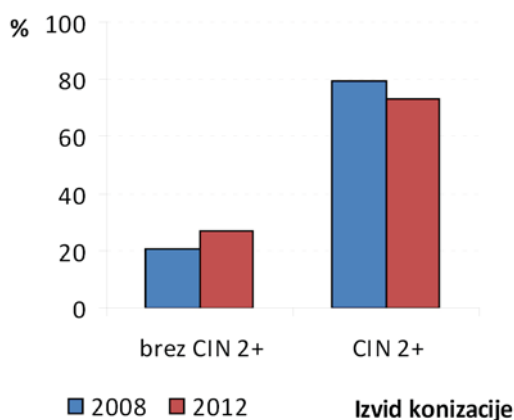
Kakovost histopatoloških izvidov, ki so končni rezultat ne le histopatološke preiskave, ampak tudi drugih, zgoraj navedenih, diagnostičnih in laboratorijskih postopkov, lahko ocenjujemo s ponovnim pregledovanjem histopatoloških vzorcev po vnaprej dogovorjenem protokolu, ki zagotavlja objektivnost ponovnega ocenjevanja, in omogoča primerjavo histopatoloških diagnoz istih preparatov med različnimi patologi ali laboratoriji. V Sloveniji je bila nedavno v okviru doktorske naloge opravljena raziskava, v kateri so bili ponovno ocenjeni mikroinvazivni ploščatocelični karcinomi materničnega vratu, drugih podobnih raziskav pa na področju patologije materničnega vratu ni bilo (13).

Nekatere kazalce kakovosti histopatološke diagnostike CIN in RMV v Sloveniji lahko ocenimo na podlagi podatkov zbranih v registru ZORA. Zakonska osnova za zbiranje histopatoloških izvidov v Registru ZORA je Zakon o zbirkah podatkov s področja zdravstvenega varstva (Ur. l. RS, št. 65/2000). Izvidi se zbirajo v registru od leta 2004 in zajemajo izvide vseh diagnostičnih in terapevtskih posegov na materničnem vratu ter vse histerektomije, ne glede na razlog za odstranitev maternice. Kakovost histopatološke diagnostike je iz rutinsko zbranih podatkov težko ocenjevati, saj so končni rezultati histopatološke preiskave odvisni tako od kakovosti kolposkopske (pravilno vzorčenje med kolposkopijo in pravilna fiksacija) kot histopatološke diagnostike (pravilna ocena morfoloških sprememb v vzorcu), kot tudi od smernic za zdravljenje predrakavih sprememb in upoštevanja teh smernic s strani ginekologa (pravilna izbira žensk, ki potrebujejo kolposkopsko in histopatološko diagnostiko ter zdravljenje) ter od postopkov obdelave vzorcev v histopatološkem laboratoriju. Poleg tega oceno

otežuje tudi dejstvo, da histopatološki laboratoriji v Register ZORA večinoma pošiljajo papirnate kopije izvidov, nabor podatkov in terminologija na izvidih pa se med laboratoriji razlikujejo, zato je popolnost in kakovost podatkov slabša kot pri citoloških izvidih, kjer je nabor podatkov standardiziran, terminologija enotna, izvidi pa se stekajo v register v elektronski obliki. Histopatološke izvide šifrira osebe registra in ročno vnese podatke v informacijski sistem.

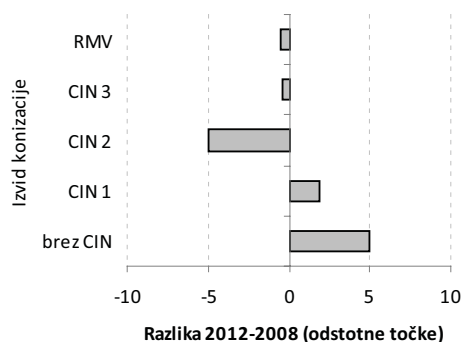
### 3.1 Razlike v histopatoloških izvidih konizacij med letoma 2008 in 2012

Za oceno stabilnosti celotnega sistema, ki vpliva na histopatološke izvide in je opisan zgoraj, smo primerjali deleže histopatoloških izvidov konizacij (s skalpelom, LLETZ, rekonizacije) v letih 2008 in 2012. V letih 2008 in 2012 (januar do oktober) je bilo po podatkih Registra ZORA v Sloveniji opravljenih 2057 in 1783 konizacij pri 1982 in 1711 ženskah. V analizi smo vsak histopatološki izvid konizacije upoštevali kot en primer, ne glede na to, če je imela ena ženska več izvidov konizacij oziroma rekonizacije. Po izločitvi konizacij z nejasno histopatološko diagnozo (ocena vzorca ni bila mogoča ali pa je ni bilo mogoče razbrati iz izvida) (19 in 10 konizacij), je bilo v analizo vključenih 2038 in 1773 konizacij. Povprečna starost žensk je bila 37 in 38 let. Zaradi načina pošiljanja in vnosa histopatoloških izvidov v Register ZORA podatki v času analize za leto 2012 še niso bili popolni, število histopatoloških izvidov se bo še povečalo, predvsem na račun dodatnih izvidov iz meseca novembra in decembra 2012. Kljub temu ocenjujemo, da je vzorec izvidov iz leta 2012, ki so vključeni v analizo, reprezentativen in da dodatni izvidi ne bodo bistveno spremenili rezultatov pričujoče analize. Skladno z navodili za zdravljenje predrakavih sprememb materničnega vratu, smo kot pozitiven histopatološki izvid (pozitivna konizacija, CIN 2+) šteli CIN 2, CIN 3, CGIN,



**Slika 1:** Izvidi konizacij v letih 2008 in 2012. Vir: Register ZORA, marec 2013.

adenokarcinome in ploščatocelične karcinome. Za negativni izvid (negativna konizacija, brez CIN 2+) pa smo šteli vse normalne izvide, patološke spremembe, ki niso CIN (koilocitoza, polipi, kondilomi, cervicitisi...) in CIN 1.

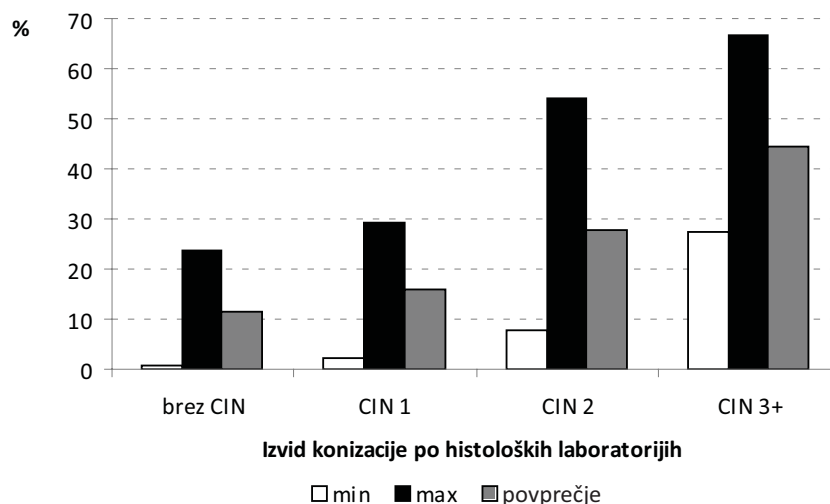


**Slika 2:** Razlika v izvidih konizacije med leti 2008 in 2012 (odstotne točke). Vir: Register ZORA, marec 2013.

V letu 2012 je bil delež konizacij z izvidom CIN 2+ za 6,6 % manjši kot v letu 2008 (79,4 %; 1618/2038 in 72,8 %; 1290/1773) (Slika 1). Podobno, neugodno razliko je opaziti tudi pri diagnostičnih posegih na materničnem vratu (biopsije, ekscizije), kjer se je delež pozitivnih izvidov zmanjšal za 3 %, in sicer s 33 % na 30 % (podatki niso prikazani).

Podrobnejša analiza je pokazala, da se je delež pozitivnih konizacij zmanjšal predvsem na račun manjšega deleža CIN 2 (676/2038 in 494/1773), delež negativnih konizacij pa se je povečal tako na račun konizacij brez CIN (127/2038 in 198/1773) kot konizacij s CIN 1 (293/2003 in 285/1773) (Slika 2). Podobno sliko, čeprav nekoliko manj izrazito, je opaziti tudi pri diagnostičnih posegih (podatki niso prikazani).

Povečanje deleža in absolutnega števila konizacij brez CIN (kljub temu, da leto 2012 še ni zaključeno) je neugodno, ker pomeni, da je bilo v letu 2012 po nepotrebnem narejenih več konizacij kot štiri leta prej. Iz prikazanih podatkov ni jasno, ali je razlika posledica sprememb na področju kakovosti kolposkopije, histopatologije, subjektivne obravnave žensk s strani ginekologa, ali pa gre za sistematičen premik deleža posameznih histopatoloških izvidov zaradi sprememb, ki smo jih uvedli v program ZORA v letu 2010 in 2011 (triazni test HPV, prehod citološke klasifikacije na Bethesda, dodatna usposabljanja citologov in presejalcev, posodobljene Smernice za celostno obravnavo žensk s predrakavimi spremembami). Zmanjšanje deleža CIN 2 v letu 2012, ki je najslabše ponovljiva histopatološka diagnoza, nakazuje možnost, da je razlika v izvidih med obema letoma lahko med drugim tudi posledica sprememb v kakovosti histopatološke

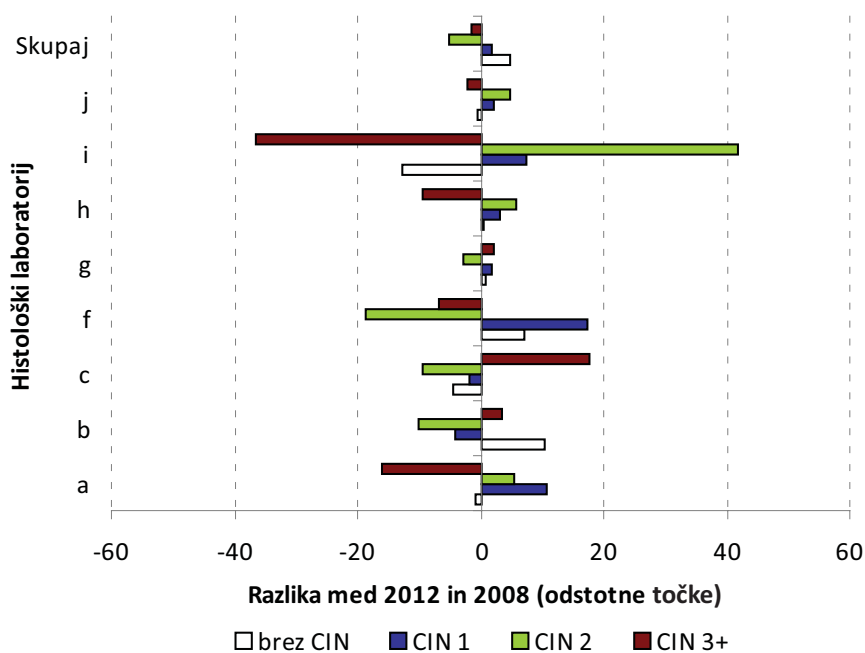


**Slika 3:** Deleži posameznih izvidov konizacij v letu 2012 po histopatoloških laboratorijih. Prikazan je le izvid iz laboratorija z najmanjšim, največjim in povprečnim deležem posameznega histopatološkega izvida. V analizo so bili vključeni le laboratoriji, ki so v letu 2012 pregledali več kot 50 konizacij. Vir: Register ZORA, marec 2013.

diagnostike. Če bi šlo za sistemske spremembe, potem bi pričakovali, da bodo razlike v posameznih diagnozah med laboratoriji podobne. Zato smo v nadaljevanju analizirali med-laboratorijske razlike v deležih posameznih histopatoloških izvidov konizacij 2012 in razlike v deležih posameznih histopatoloških diagnoz v letih 2008 in 2012 med posameznimi histopatološkimi laboratoriji.

### 3.2 Razlike v histopatoloških izvidih konizacij med histopatološkimi laboratoriji

Analiza histopatoloških izvidov konizacij opravljenih leta 2012 po histopatoloških laboratorijih je pokazala variabilnost v deležih posameznih izvidov konizacij med laboratoriji (Slika 3). Razpon deležev posameznih histopatoloških izvidov brez CIN, CIN



**Slika 4:** Razlika v izvidih konizacije med leti 2008 in 2012 (odstotne točke) znotraj posameznih histopatoloških laboratorijev (a–j). V analizo so vključeni le histopatološki laboratoriji, v katerih so v posameznem letu pregledali več kot 50 konizacij. Vir: Register ZORA, 2013.

1, CIN 2 in CIN 3+ je bil med laboratoriji 0,8–23,9%; 2,3–29,2 %; 7,7–54,2 % in 27,2–66,7 %. Največja med-laboratorijska razlika med največjim in najmanjšim deležem je pri histopatološki diagnozi CIN 2. Ni jasno, koliko te razlike je posledica različnega ocenjevanja enakih morfoloških sprememb med laboratoriji (subjektivnost histopatološke ocene) in koliko posledica različnega dela ginekologa (subjektivna obravnava bolnic pri ginekologu).

Analiza razlik v deležu posameznih izvidov konizacij med leti 2012 in 2008 v posameznem histopatološkem laboratoriju je prav tako pokazala veliko variabilnost v vseh histopatoloških diagnozah (Slika 4). Nekateri laboratoriji kažejo bolj ugodne premike (npr. zmanjšanje deleža konizacij brez CIN in povečanje deleža konizacij s CIN 3 – laboratorij c), drugi manj (npr. zmanjšanje deleža konizacij s CIN 3 na račun povečanja drugih diagnoz – laboratoriji a, i, f, h). Nekateri laboratoriji so dokaj stabilni, pri njih ni opaziti večjih razlik v histopatoloških diagnozah med obema leti (npr. laboratorija g in j).

Velika med-laboratorijska variabilnost v razliki deležev posameznih histopatoloških diagnoz med leti 2008 in 2012 nakazuje, da razlog za te razlike ni enoten v vseh laboratorijih, in ni nujno posledica novosti v programu ZORA, ki so bile uvedene v letih 2010 in 2011. Po letu 2008 so nekateri laboratoriji začeli uvajati dodatne diagnostične metode (imunohistokemično določanje nadomestnih bioloških označevalcev okužbe s HPV z visokim tveganjem, predvsem p16) za ocenjevanje CIN v dvomljivih primerih, vendar zaenkrat vpliva novih bioloških označevalcev na spremembe ocenjevanja ne moramo analizirati. V tem obdobju se je spremenila tudi kadrovska zasedba patologov, ki pregledujejo tkivne vzorce materničnega vratu, kar zaradi znane variabilnosti zlasti pri ocenjevanju CIN 2 prav tako lahko vpliva na rezultate, ki smo jih dobili v tej analizi.

Ugotovljena razlika v histopatoloških diagnozah je torej lahko posledica sprememb v ocenjevanju morfoloških sprememb znotraj laboratorijev in/ali razlik v obravnavi bolnic s strani ginekologov, najverjetneje pa je vzrokov še več oziroma je ugotovljeni problem večplasten.

#### 4 Povzetek ugotovitev in razprava

V primerjavi z letom 2008 se je v letu 2012 povečalo tako absolutno število kot delež konizacij brez CIN, kar pomeni, da se je v tem obdobju povečalo prekomerno zdravljenje sprememb na materničnem vratu za okoli 5 odstotnih točk. V istem času se je najbolj zmanjšal delež CIN 2 (za okoli 5 odstotnih točk), za katero podatki iz tuje literature kažejo, da

je najmanj ponovljiva diagnoza med vsemi CIN. Tudi izsledki naše analize potrjujejo, da je pri tej histopatološki diagnozi največja variabilnost v njenem deležu med laboratoriji. Ker med histopatološkimi laboratoriji ni opaziti sistematičnega vzorca v razlikah pri posameznih histopatoloških diagnozah, jih ne moremo v celoti pojasniti s sistemskimi novostmi, ki smo jih v program Zora uvedli v letih 2010 in 2011. Z analizo nismo mogli dokončno določiti vzroka za spremembe v deležu posameznih histopatoloških izvidov med leti 2008 in 2012 ali med histopatološkimi laboratoriji, smo pa dokazali, da obstajajo pomembne razlike v obravnavi in zdravljenju žensk z enakimi patološkimi spremembami. Te razlike v obravnavi žensk je treba vzeti resno ter v prihodnosti vzpostaviti mehanizme (nadgradnja programa ZORA) za zagotavljanje in nadzor kakovosti tako na področju ginekološke obravnave in kolposkopske diagnostike kot histopatološke preiskave.

#### Literatura

1. ZORA. Državni program zgodnjega odkrivanja predrakavih sprememb materničnega vratu [internet]. Onkološki inštitut Ljubljana. Dosegljivo na: <http://zora.onko-i.si/>
2. Uršič-Vrščaj M, Rakar S, Možina A, et al. Smernice za celostno obravnavo žensk s predrakavimi spremembami materničnega vratu. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana; 2011.
3. Horvat R, Herbert A, Jordan J, Bulten J, Wiener HG. Techniques and quality assurance guidelines for histopathology. In: Arbyn M, Anttila A, Jordan J, Ronco G, Schenck U, Segnan N, Wiener HG, Herbert A, Daniel J, von Karsa L, eds. European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening. 2<sup>nd</sup> ed. International Agency for research on Cancer; 2008. p. 173–189.
4. Hirschowitz L, Ganesan R, Singh N, McCluggage WG. Dataset for histological reporting of cervical neoplasia [RCPATH Web site] April 2011. Dosegljivo na: <http://www.rcpath.org/publications-media/publications/datasets/dataset-for-histological-reporting-of-cervical-neoplasia-3rd-edition.htm>
5. Salman W, Al-Dawoud A, Twaij Z, Howat A. Are levels on cervical specimens necessary? *J Clin Pathol* 2008;61:1230.
6. Heatley MK. How many histological levels should be examined from tissue blocks originating in cone biopsy and large loop excision of the transformation zone specimens of cervix? *J Clin Pathol* 2001; 54: 650–651.
7. Wells M, Östör AG, Crum CP. Tumors of the uterine cervix. In: Tavassoli FA, Devilee P. Eds. WHO Classification of Tumors, Pathology and Genetics of Tumors of the Breast and Female Genital Organs. Lyon: IARC Press; 2003. p. 260–289.
8. Wright TC, Ferenczy A, Kurman RJ. Carcinoma and Other Tumors of the Cervix. In: Kurman RJ, TeLin-

- de RW. Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract. 5th ed. New York: Springer Verlag; 2002. p. 326–331.
9. Crum CP, Rose PG. Cervical squamous neoplasia. In: Crum CP, Lee KR. Diagnostic Gynecologic and Obstetric Pathology. 1st ed. Elsevier Inc; 2006. p.267–354.
  10. Histopathology reporting in cervical screening – an integrated approach. 2<sup>nd</sup> edition. NHSCSP Publication No 10. Sept 2012.
  11. Palma PD, Rossi PG, Collina G, Buccoliero AM, Ghiringhello B, Gilioli E et al. The reproducibility of CIN diagnoses among different pathologists. Data from histology reviews from multicenter randomized study. *Am J Clin Pathol* 2009; 132:125–132.
  12. Stoler MH, Schiffman M, ALTS Group. Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations: realistic estimates from the ASCUS-LSIL triage study. *JAMA* 2001; 21:1500–5.
  13. Gutnik H. Morfološke, epidemiološke in antigenske značilnosti mikroinvazivnega ploščatoceličnega carcinoma materničnega vratu v Sloveniji v obdobju 2001–2007 [doktorsko delo]. Ljubljana: Univerza v Ljubljani; 2012.