

FAGLIG

Projekt har forbedret cytobioanalytikerens mulighed for med mikroskopi alene at **SKELNE MELLEM FREDelige OG FARLIGE CELLEFORANDRINGER**. Det kan betyde, at flere kvinder i fremtiden slipper for at skulle til gynækolog og have taget vævsprøver

ASC-H – DEN VANSKELIGE DIAGNOSE

TEKST:



SUSANNE NIELSEN

Teamleder og fagspecialist i cytologi Sjællands Universitetshospital, Patologiafdelingen, afsnit Næstved

VEJLEDER

LISE GRUPE LARSEN

Overlæge, supervisor Afsnitsansvarlig Sjællands Universitetshospital, Patologiafdelingen, afsnit Næstved

Mikroskopi af celleprøver ved screening for livmoderhalskræft kan være en diagnostisk udfordring. Til denne kategori hører diagnosen ASC-H, der anvendes, når prøven indeholder atypiske celler, og svære celleforandringer ikke kan udelukkes.

I et projekt udført ved Patologiafdelingen, Region Sjælland, er den histologiske opfølgning af cytologiske prøver med diagnosen ASC-H gjort op, og efterfølgende er de oprindelige cytologiske prøver revideret.

Ud fra disse resultater kan cytologiske kriterier opdele celleforandringerne ved ASC-H i to grupper. Den ene med fredeligt potentiale og den anden med aggressivt potentiale, dvs. med svære celleforandringer tæt på kræft.

Bethesda-klassifikationen

Til diagnostik af celleprøver fra livmoderhalsen anvendes Bethesda-klassifikationen¹, som detaljeret beskriver kriterierne for cervixcytologiske diagnoser. Diagnoserne omfatter normale celler, forstadier med stigende sværhedsgrad og kræft.

Forstadierne er: atypiske celleforandringer af ukendt betydning (ASCUS), let grad af pladeepitel forandring (LSIL), atypiske celler, hvor svære celleforandringer ikke kan udelukkes (ASC-H), svær grad af pladeepitel forandring (HSIL), atypiske cylinderepitelceller (AGC) og adenocarcinoma in

situ (AIS). **Karcinom** er den eneste kræftdiagnose.

Bethesda beskriver ASC-H med et ofte sparsomt antal af atypiske umodne metaplastiske celler, men også kerneoverlappende cellegrupper, som fx ses ved udtalt atypisk reparativ forandring, svær atrofi og stråleforandringer. Dvs. at ASC-H-diagnosen kan indeholde celler, der er svære at bedømme, fra fredelige og harmløse forandringer til svære celleforandringer tæt på karcinom.

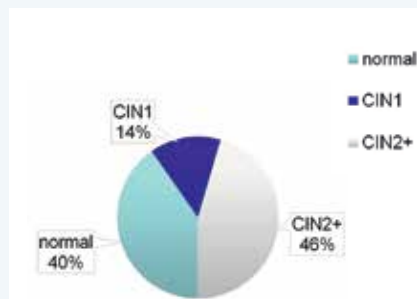
Det vil være af stor betydning, hvis det er muligt at præcisere de cytologiske kriterier, der udløser diagnosen ASC-H, og derved bedre kunne forudsige svære celleforandringer. Derved præciseres også kriterierne for diagnosen ASCUS, der forudsiger mere harmløse forandringer. Ifølge Bethesda bør ASC-H-diagnosen repræsentere <10% af alle atypiske celler (ASC), dvs. ASCUS + ASC-H.

I opgørelsen fra Dansk Kvalitetsdatabase for Livmoderhalskræftscreening (DKLS) 2015² udgør ASC-H/ASC 14% i Region Sjælland. På landsplan udgør ASC-H/ASC 22% med en spredning i regionerne fra 14% til 27%.

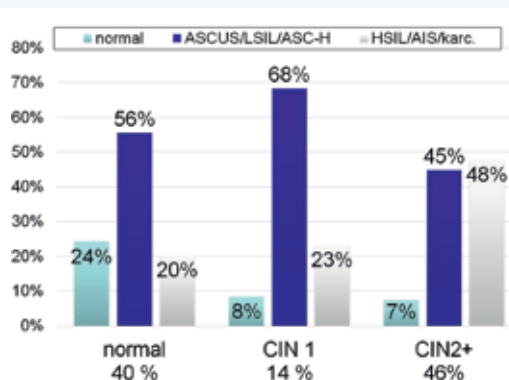
Klinisk opfølgning af diagnosen ASC-H

Konsekvensen af en ASC-H-diagnose er henvisning til kolposkopisk vejledt udredning hos gy-

Projektet blev præsenteret på en poster med titlen "Histological follow-up of ASC-H" ved 31. internationale HPV-konference i Cape Town i marts 2017.



FIGUR 1: Histologisk opfølgning af ASC-H.



FIGUR 2: Cytologisk review i forhold til histologisk follow-up.

nækologisk speciallæge³. Dvs. samme udredning som ved svære celleforandringer. Lette celleforandringer som ASCUS og LSIL sendes derimod kun til udredning, hvis der samtidig påvises højrisiko-HPV-infektion.

Ved den gynækologiske undersøgelse tages vævsprøve fra livmoderhalsen (portio) til histologisk undersøgelse. Den histologiske prøve betragtes som den "gyldne standard" og er behandlingsvejledende.

Ved mikroskopi af den histologiske prøve vurderes, om overgangszonen er repræsenteret. Denne zone er overgangen mellem pladeepitel og cylinderepitel på livmoderhalsen og det område, hvor celleforandringer hyppigst opstår. Derfor kræves, at denne zone er repræsenteret i udredende vævsprøver.

Til histologisk diagnostik af pladeepitelforandringer anvendes CIN-klassifikationen (Cervikal Intraepithelial Neoplasia), der består af diagnoserne normal, CIN1, CIN2, CIN3 og karcinom. CIN og Bethesda-klassifikationen kan sammenlignes, således at CIN1 svarer til ASCUS og LSIL, og CIN2 og CIN3 svarer til HSIL.

Generelt behandles kun svære forandringer som CIN2+. CIN2 og CIN3 behandles med keglesnit. De lette forandringer som CIN1 kontrolleres med ny celleprøve efter et år, da de lette celleforandringer ofte forsvinder spontant vha. kvindens eget immunforsvar.

Projekt ved Patologiafdelingen, Region Sjælland

Dette projekt omhandler den histologiske opfølgning af cytologiske prøver med diagnosen ASC-H og efterfølgende revision af de oprindelige cytologiske prøver. Histologisk opfølgning kan give et relevant indtryk af de cytologiske faldgruber. Review af ASC-H kan medvirke til skærpet fokus på præcisering af kriterier for aggressive ASC-H-forandringer.

Udgangspunktet er 308 BD Surepath-fikserede cervixcytologiske prøver fra Region Sjælland mikroskopert i året 2015 med diagnosen ASC-H og alle med histologisk opfølgning. Prøverne er præpareret med BD's Totalys-system. Kvindernes alder er fra 22 år til 75 år.

Ved søgning i patobanken på histologisk opfølgning af ASC-H-diagnosen i tidsperioden 01.01.2015-12.04.2016 findes og opgøres den histologiske diagnosefordeling i følgende tre kategorier: normal, CIN1 og CIN2+ (CIN2, CIN3 og karcinom). Herefter er de oprindelige cytologiske prøver revideret. De reviderede og dermed nye cytologidiagnoser er holdt op imod de histologiske diagnoser.

I alt 9 cytobioanalytikere deltog i rescreeningen af de 308 cytologiske prøver, men alle nåede

ikke rescreening af samtlige prøver, hvorfor der anvendes vægтет* gennemsnit til diagnostisk overensstemmelse i forhold til den opfølgende histologi. De cytologiske prøver præsenteredes ved rescreeningen som "vanskelige" prøver, og resultatet af den opfølgende histologiske prøve var ikke kendt.

Histologisk opfølgning af ASC-H

Histologisk opfølgning af cytologidiagnosen ASC-H viser følgende diagnosefordeling: 40% normal, 14% CIN1 og 46% CIN2+ (fig. 1).

De normale prøver inkluderer også biopsier uden repræsentation af overgangszonen (18,4%).

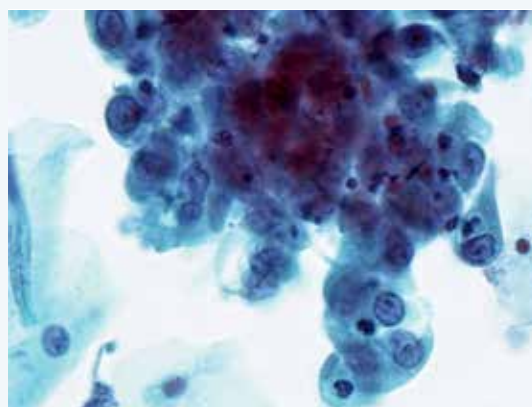


FIG. 3: Tissue repair 600 x.

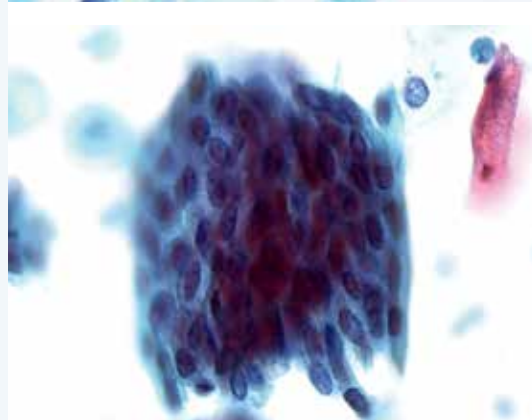


FIG. 4: Atrofi 600 x.

FAKTA OM ASC-H MED FREDELIGT POTENTIALE: (FIG. 3 OG 4)

- Ensartede runde til ovale kerner
- Ovale kerner med ensartet polarisering
- Kernemembran ensartet optrukket
- Cellegrupper med flad arkitektur og celler med velbevaret cytoplasma i kanten.

Revision af ASC-H i forhold til opfølgende histologi

Vægtet gennemsnit af cytologisk review af ASC-H-diagnoserne opgøres i forhold til den opfølgende histologi (fig. 2).

Ved **normal** opfølgende histologi fordeler reviewdiagnoserne sig med **24% normal**, 56% ASCUS/LSIL/ASC-H og 20% HSIL+/AIS+.

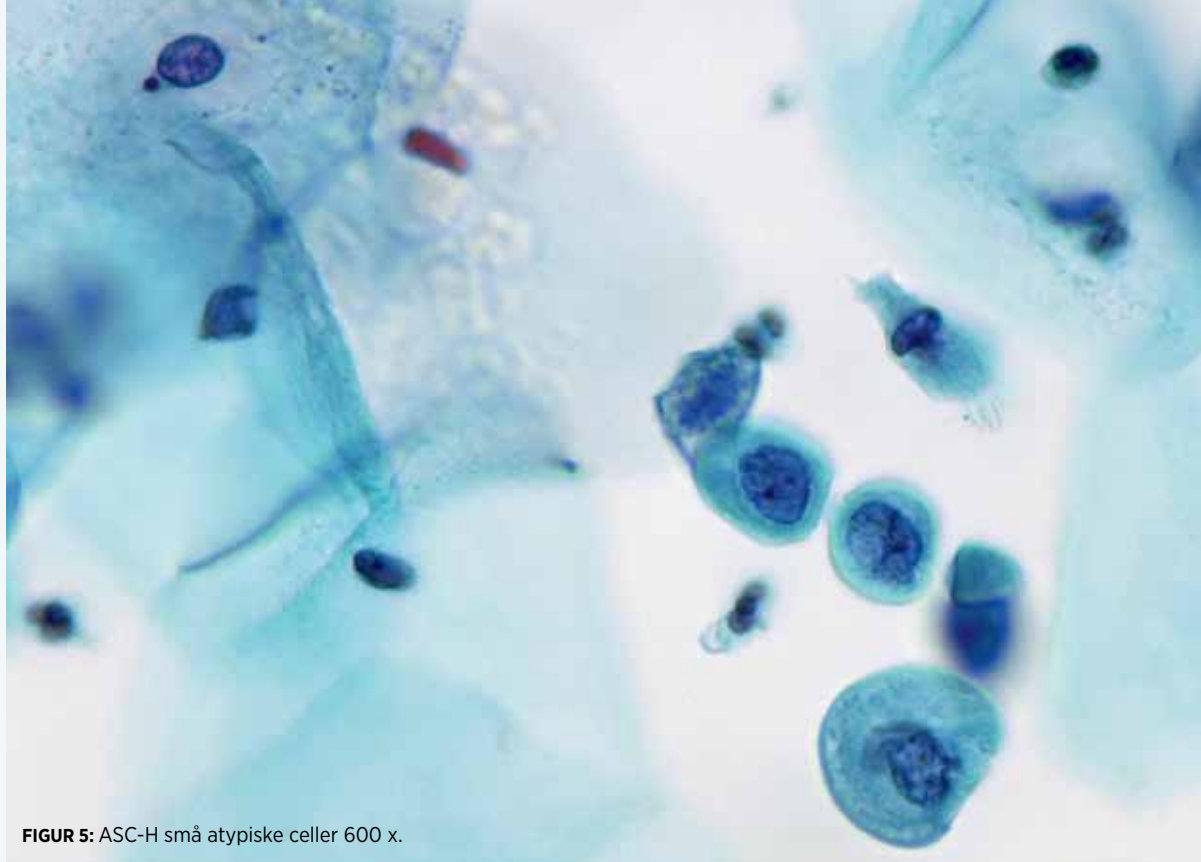
Ved histologisk **CIN1** fordeler reviewdiagnoserne sig med 8% normal, **68% ASCUS/LSIL/ASC-H** og 23% HSIL+/AIS+.

Cytologisk review ved histologisk **CIN2+** (CIN2 18%, CIN3 26%, karcinom 1%) fordeler sig med 7% normale, 45% ASCUS/LSIL/ASC-H og **48% HSIL+/AIS+**.

Det generelle vægtede gennemsnit mellem cytologisk review og de opfølgende histologidiag

*Vægtet gennemsnit: Vægtet gennemsnit er antal af samstemmende cytologiske diagnoser i forhold til opfølgende histologi.





FIGUR 5: ASC-H små atypiske celler 600 x.

noser er 41%, dvs. at ASC-H er en vanskelig diagnose og vanskelig at reproducere.

Hvad har vi erfaret ved review af ASC-H-diagnosen, hvor der er normal histologi

Den histologiske "gyldne standard" er følsom over for prøvetagningen, da den bør repræsentere overgangszonen.

Den fysiske placering af overgangszonen er relateret til kvindens østrogenpåvirkning og kan variere individuelt fra helt synlig på portio til helt gemt i livmoderhalskanalen. Sidstnævnte ses bl.a. efter menopausen. Hvis overgangszonen og eventuelle forandringer ikke er synlige ved kolposkopi, tages vævsprøverne tilfældigt svarende til kvadrantbiopsier.

Af de 40% svarende til 125 normale histologiske prøver er 18,4% (23/125) ikke repræsentative mht. transformationszonen. 22 indeholder kun pladeepitel, mens 1 udelukkende indeholder cylinderepitel. 12 af de 22 biopsier, som kun var repræsenteret med pladeepitel, var fra kvinder over 50 år, der formentlig var postmenopausale.

Ved vægtnet gennemsnit af cytologisk review af ASC-H, hvor histologien er normal, vurderes 20% at have svære forandringer (HSIL, AIS, karcinom). Størstedelen af portiobiopsierne er repræsentative, dvs. at trods repræsentativ histologi kan celleforandringerne formentlig gemme sig højere oppe i livmoderhalskanalen, og der kan være behov for opfølgning.

Ses derimod på konsensusreview af de 24% normale og 56% lette celleforandringer (ASCUS, LSIL og ASC-H), kan en stor del af de oprindelige ASC-H-diagnoser i bagklogskabens lys forklares med reaktive forandringer, tissue repair (fig. 3), atrofi (fig. 4) og tubar metaplasi. Især cellegrupper med let forstørrede kerner er i fokus. Karakteristisk for disse cellegrupper er, at kernerne er relativt ensartede runde til ovale, har ensartet optrukket kernemembran og relativt ensartet pola-

risering af kernerne. Cellegrupperne er af flad opbygning, og celler med velbevaret cytoplasma kan oftest ses i kanten. Netop denne type af forandring er indeholdt i Bethesdas beskrivelse af de cytologiske kriterier for ASC-H, men burde evt. flyttes til ASCUS.

Hvad har vi erfaret ved review af ASC-H-diagnosen, hvor der er abnorm histologi

60% af biopsierne med abnorm histologisk opfølgning fordeler sig med 14% CIN1 og 46% CIN2+ (CIN2 til karcinom).

Sammenholdes cytologisk review med histologisk CIN2+, fordeler det vægtnede gennemsnit sig med 7% normale og 93% abnorme, heraf udgør 45% lette forandringer (ASCUS, LSIL, ASC-H) og 48% svære forandringer (HSIL, AIS, karcinom).

Ved gennemgang af cytologiske præparater med CIN2+ ved den histologiske opfølgning ses et gennemgående mønster med hhv. små abnorme enkeltlejrede celler og keredominerede grupper.

De små abnorme enkeltlejrede celler er umodne metaplastiske celler med let forstørrede, uregelmæssige, hyperkromatiske kerner og høj kerne-/cytoplasmaratio (K/C) $> 1/2$ (fig. 5). De meget kernetætte grupper ses med let størrelsesvarierende, hyperkromatiske og kaotisk lejrede kerner omgivet af sparsomt tjavset cytoplasma. Sidstnævnte optræder som mikrobiopsier eller blokke af kernetætte celler (fig. 6). Begge typer af forandringer kan ses hver for sig eller samtidig og kan optræde både med og uden nævneværdig inflammation.

Dette er i overensstemmelse med N. Gupta med flere⁵, som i en lignende undersøgelse også havde fokus på små enkeltlejrede celler og kernetætte grupper.

Gupta fandt, at små enkeltlejrede celler med øget kerne-/cytoplasmaratio og abnormt granuleret kromatin var en statistisk signifikant faktor til at forudsige svære celleforandringer.

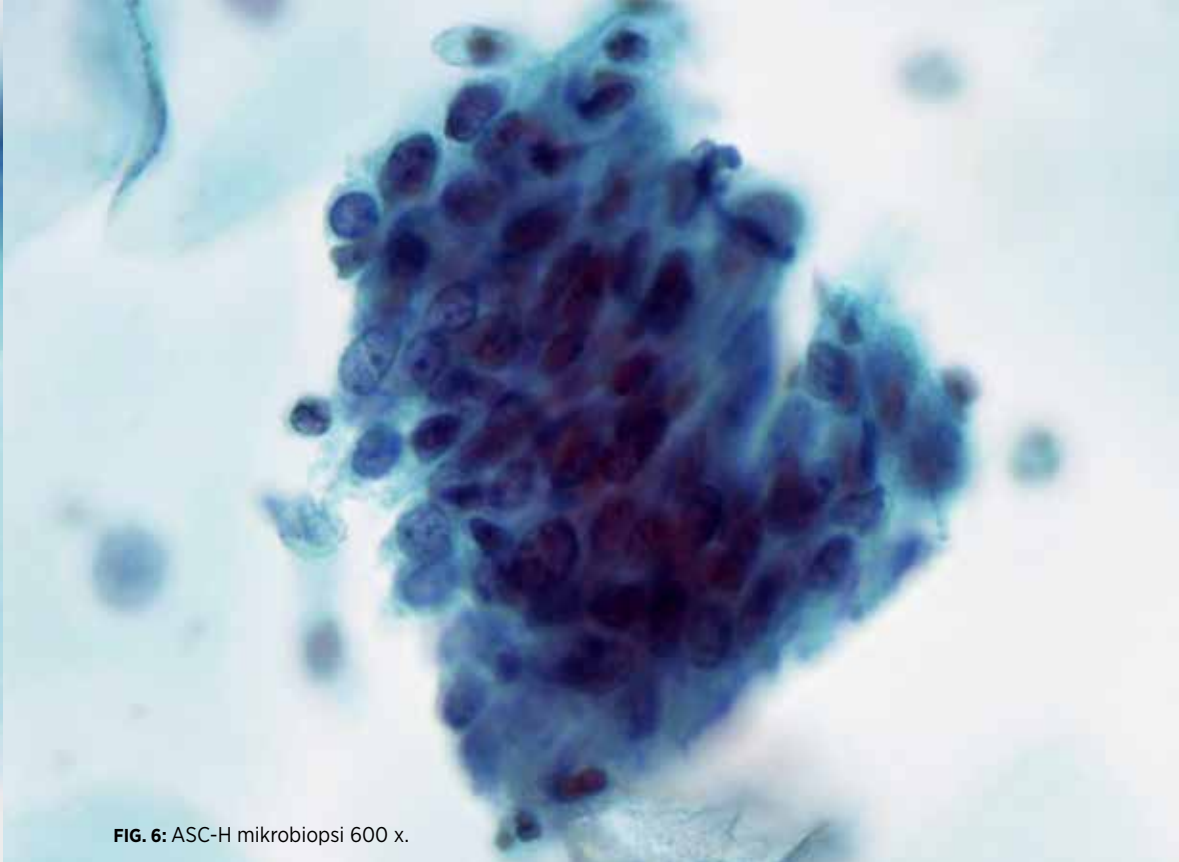


FIG. 6: ASC-H mikrobiopsi 600 x.

FAKTA OM ASC-H MED AGGRESSIVT POTENTIALE

Enkeltlejrede celler: (fig. 5)

- Enkeltlejrede umodne abnorme metaplastiske celler
- Let forstørrede, uregelmæssige hyperkromatiske kerner
- Kerne-/cytoplasmratio (K/C) > 1/2.

Grupper: (fig. 6)

- Blokke af kernetætte celler
- Let størrelsesvarierede, hyperkromatiske og kaotisk lejrede kerner
- Sparsomt tjvæst cytoplasma.

Kernetætte grupper beskrives på to forskellige måder relateret til den histologiske opfølgning. Ved CIN2+ beskrives grupperne som stejle (klippeblokke), kerneoverlappende og meget uorganiserede cellegrupper, mens grupperne med \leq CIN1 har mere flad struktur, er mindre kerneoverlappende og mere organiserede.

Opfølgning på afdelingens projekt om celleprøver med diagnosen ASC-H

Bethesda anbefaler, at ASC-H-diagnosen bør være under 10% af alle ASC-diagnoser. Det aktuelle ASC-H/ASC er højere såvel i egen region (14%) som i alle regioner i Danmark (14-27%), så der er plads til forbedringer. Dette er en af grundene til at foretage denne undersøgelse, som sætter fokus på diagnostiske kriterier for ASC-H med reelt potentiale for svære forandringer. Ved mere præcis diagnose er der dannet grundlag for at indføre ASC-H-/ASC-ratio \leq 10% som en intern diagnostisk kvalitetsindikator.

Af hensyn til den diagnostiske sensitivitet og specificitet kan ASC-H/ASC \leq 10 som indikator ikke stå alene, men bør sammenholdes med to andre indikatorer, som Bethesda anbefaler. Den ene er andelen af ASCUS-diagnoser, hvor HPV-test er positiv. Denne andel bør ligge på mellem 40 og 50%. Den anden er alle atypidiagnoser (ASCUS + ASC-H) i forhold til alle LSIL- og HSIL-diagnoser. Denne ratio bør ligge på mellem 1,5 og 3, og hvor alle atypidiagnoser ikke bør udgøre mere end 5% af alle diagnoser.

For mange atypidiagnoser kan betyde, at fordelte forandringer bliver overdiagnostiseret med overbehandling til følge, eller at svære forandringer bliver underdiagnostiseret, men trods alt ikke overset. Derfor vil diagnostiske indikatorer være relevante som pejlemærker for såvel sensitivitet som specificitet.

Til afklaring af ASC-H som sand svær forandring kan suppleres med ki67/p16 dobbeltimmunocytochemisk farvning (dICC). Ki67/p16 dICC øger specificiteten og sensitiviteten for diagnostik af svære celleforandringer i forhold til cytologi og højrisiko-HPV-test alene⁶.

I herværende undersøgelse er Ki67/p16 dICC anvendt sporadisk, men ikke systematisk.

Resultaterne og flere cases fra projektet blev gennemgået på afdelingens interne cytologikonference, hvor især faldgruberne og de cytologiske kriterier blev diskuteret. De involverede deltagers evaluering af projektet bar præg af, at det havde været en givende proces. Evalueringen spændte fra frustrationer ved mikroskopidelen af de vanskelige og tidskrævende prøver til større sikkerhed efter diskussion og gennemgang af resultaterne. ■

Efterskrift

Tak til alle kollegaer fra Patologiafdelingen i Region Sjælland for deltagelse og opbakning til projektet.

¹R. Nayar, D.C. Wilbur. *The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology – Definitions, Criteria and Explanatory Notes*. Third Edition, Springer 2015.

²M. Waldstrøm, E. Mikkelsen, F. Mehnert, C.W. Nielsen. *Dansk Kvalitetsdatabase for Livmoderhalskræftscreening, Årsrapport 2015*, udgivet juni 2016. https://www.sundhed.dk/content/cms/82/4682_dkls-%C3%A5rsrapport-2015.pdf 05.04.17.

³Sundhedsstyrelsen. *Screening for livmoderhalskræft – anbefalinger 2012*. <http://www.sst.dk/~media/B1211EAFEDFB47C5822E883205F99B79.ashx> 05.04.17.

⁴R.J. Kurman, L.H. Ellenson, B.M. Ronnett. *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract*. Sixth Edition. Springer 2011.

⁵N. Gupta, J. Crossley, N. Dudding, K. Ellis and J.H.F. Smith. *Atypical Squamous Cells, Cannot Exclude High-Grade Squamous Intraepithelial Lesion: Diagnostic Features in SurePath™ Cervical Samples*. *Diagnostic Cytopathology* 2012, Vol. 41, No. 6.

⁶M. Singh et al. *Immunocytochemical Colocalization of P16INK4a and Ki-67 predicts CIN2/3 and AIS/Adenocarcinoma*. *Cancer Cytopathology* febr. 2012