

ASCUS V ATROFII

Dušková J.^{1,2,3}, Drozenová, J.¹, Hajná R.¹¹Ústav patologie 1. LF UK a VFN,²Katedra patologie IPVZ a³Vysoká škola zdravotní, Praha

Práce byla prezentována na Cytologickém dni 22. 9.2006 v Jindřichově Hradci

Souhrn

Cíl studie: Vrchol výskytu karcinomu děložního hrdla předchází atrofií dlaždicového epitelu nastávající po menopauze. Část pozitivních nálezů však spadá i do tohoto období. Atrofie, zejména neúplně vyjádřená, vykazuje některé morfologické cytodiagnostické znaky blízké těm, jež jsou užívány v rozpoznání SIL, a to zejména tehdy, kdy v obraze navíc interferují v tomto období časté zánětlivé změny. Proliferační test jako obecně přijatý nástroj k objasnění nejasných nálezů znamená opakované vyšetření; studie je zaměřena na možnosti redukce jeho použití zařazením testu proliferace na sporných buněčných formacích.

Materiál: Retrospektivní studie – rutinně hodnocené cytologické nátěry 22 pacientek. Jedenadvacet z nich bylo perimenopauzálních a menopauzálních; jejich nálezy byly 16krát nejisté (ASCUS, popř. ASC-US, ASC-H v některé z obou verzí Bethesda klasifikace, tj. ASCUS různého typu v atrofii), 4krát SIL v atrofii s následnou histologií a 1krát atrofie s negativním cytologickým nálezem. Jedenkrát se jednalo o H SIL u mladší pacientky bez atrofie. Celkově bylo revidováno 60 cytologických vyšetření, protože řada pacientek byla s dg. ASCUS vyšetřena cytologicky opakovaně.

Metoda: V archivačním systému obrazové analýzy LUCIA Net (Laboratory Imaging, Praha) byly uloženy minimálně tři obrázky s diagnosticky významnými záběry. Následně byly preparáty rozmontovány, odbarveny a podrobeny imunocytochemickému průkazu proliferace s protilátkou Ki-67, klon MIB 1 (v textu dále MIB 1). Výsledky byly opět archivovány v systému LUCIA Net.

Vyhodnocení pozitivit bylo provedeno ve čtyřstupeňové škále:

1. zcela negativní formace – neg.; 2. ojedinělé pozitivitivy – x; 3. řídké disperzní pozitivitivy (méně než 1/3 buněk) – xx; 4. hustě disperzní pozitivitivy (více než 1/3 buněk) – xxx.

Výsledky: Postup poskytl většinou hodnotitelný výsledek. Archivace před a po imunocytochemickém došetření umožnila porovnání polychromaticky barvených preparátů a MIB I. Pacientky s prokázanou SIL vykazovaly přítomnost MIB 1 pozitivních buněk ve skupinách stupňů 2. až 4. (4/5). Pozitivitivy řídké disperzní (skupina 3) byly nejčastěji (6krát) zjištěny u kompaktních shluků vzhledu nezralé metaplasie. U těchto pacientek jsme zaznamenali následně ústup cytologického nálezu. U pacientek, které měly pouze ojedinělé MIB 1 pozitivitivy (skupina 2), docházelo častěji (4/7) k ústupu nálezu. Nicméně tento stupeň pozitivitivy vykazovaly i dva nálezy s histologicky ověřenou CIN. Variabilitu průkazu MIB 1 jsme zaznamenali i v histologické úrovni. Cytologická přehlednost suspektních buněčných trsů v terénu zánětlivých změn MOP III se v průkazu MIB 1 po odbarvení zřetelně zlepšila. Vytvořili jsme algoritmus zařazení testu proliferace na nejistých atrofických obrazech. Soudíme, že se jej vyplatí zařadit u nálezů ASC-H v atrofii. Pokud bude pozitivita suspektních buněčných skupin silná, je to důvodem k biopsickému došetření. Slabé a střední pozitivitivy jsou kandidáty pro E-test a kontrolu po půl roce.

Klíčová slova: cervikální cytologie – atrofie – ASCUS – ASC-H v atrofii – estrogenní test – proliferace – Ki-67 MIB1 pozitivita

Summary

ASCUS in Atrophy

Aim: The peak of incidence in cervical carcinoma precedes epithelial atrophy following menopause. Nevertheless, some carcinomas develop in the postmenopausal period.

Atrophy, namely the partially developed, shares some cytomorphology features with SIL, especially if inflammatory changes, common in this period, interfere. Proliferation test is recognized and accepted as a tool to clear uncertain findings. However, it means a repetitive investigation. The study is focused on the possibility to reduce the proliferation test employment with the help of proliferation activity investigation on questionable cell groups.

Material of the retrospective study comprised routine pap smears from 22 patients. Twenty-one of them were perimenopausal and menopausal patients who had 16 inconclusive results (ASCUS or ASC-US, ASC-H in one of both versions of Bethesda classifications, i.e. ASCUS in atrophy of any type), 4 SIL in atrophy followed by histology, and 1 atrophy with negative cytology finding. In addition, there was one case of H SIL in a younger patient without atrophy. Altogether, 60 cytology findings were reviewed as many of the patients had repetitive cytologies.

Method: As a minimum, three images with diagnostically important cell groups were archived in the LUCIA Net image archiving system (Laboratory Imaging, Prague). Subsequently, the smears were dismounted, destained and used for immunocytochemical reaction to test proliferation activity with the Ki-67 (MIB 1) antibody. The results were archived in the LUCIA Net system again. The evaluation of findings was done on a four-grade scale:

1) negative; 2) isolated positivities; 3) scattered positivities (less than 1/3 of cells in a cluster); 4) heavy disperse positivities (more than 1/3 of cells in a cluster).

Results: The procedure provided mostly a readable result. Archiving prior and following the immunocytochemistry procedure provided possibility of comparison of the polychrome stained smears and the MIB I tested. Patients with proven SIL exhibited the positivities in groups 2) to 4) (4/5). Rare scattered positivities /group 3/ were mostly (6x) found in compact groups with the

appearance of immature metaplasia. The cytopathology findings eventually normalized in these patients. In patients with isolated MIB 1 positivities /group 2/ frequently (4/7) eventually normalized as well. Nevertheless, such minimal positivities were found also in two patients with a subsequently proven CIN. The MIB 1 positivities were variable even in the histopathology sections. The cytology features of the suspicious cell groups in slides obscured by inflammation were better visible following destaining for immunocytochemistry.

Based on the results of our study we have developed an algorithm for employment of the proliferation activity test in the doubtful atrophy smears. We believe that it can be useful in the ASC-H in atrophy finding. Provided the positivities found are strong, a biopsy will be indicated. Medium and weak positivities represent candidates for E-test and a 6 months control.

Key words: cervical cytology – PAP test – atrophy – ASCUS – ASC-H in atrophy – estrogen test – proliferation activity – Ki-67 MIB1 positivity

Čes.-slov. Patol., 44, 2008, No. 1, p. 9–14

Detekce přednádorových stavů skvamózních intraepiteliálních lézí – SIL (viz seznam zkratk na konci článku) v dlaždicovém epitelu děložního hrdla představuje významný prvek v úsilí o snížení výskytu rozvinutých forem karcinomů této lokalizace. I když vrchol výskytu karcinomu děložního hrdla předchází atrofii dlaždicového epitelu nastávající po menopauze, část pozitivních nálezů spadá právě do tohoto období (14, 18, 24). Rozvíjející se atrofie – po delší či kratší dobu v perimenopauzálním období neúplně vyjádřená – přitom vykazuje některé morfologické cyto-diagnostické znaky blízké těm, jež jsou užívány v rozpoznání SIL, a to zejména tehdy, kdy v obraze navíc interferují zánětlivé změny, které jsou v tomto období časté (1, 2). Hodnocení gynekologických stěrů pacientek s částečnou atrofií je vnímáno jako obtížné (21) a zatížené falešně pozitivními nálezy, jež odrážejí obavu z podhodnocení nejasného obrazu.

V cytopatologické literatuře se tato problematika objevuje intermitentně. Publikované soubory zdůrazňují vyšší podíl ASCUS nálezů zejména v neúplných atrofiích (14). V obou verzích Bethesda klasifikace (TBS 1991, TBS 2001), se část atrofických stěrů ocitá v kategorii méně závažných typů ASCUS. V TBS 1991 ASCUS vs. reaktivní, ASCUS možná L SIL představují typy změn, jež byly v TBS 2001 početně redukovány. Nicméně projevy nejasných změn s poruchou maturace vlivem nedostatku estrogenů charakteru dříve ASCUS-H a nyní ASC-H jsou změnou klasifikace dotčeny minimálně. Všechny současné učebnice (6, 10, 17, 26) se shodují v užitečnosti vyzrácího testu – krátkodobé lokální aplikace estrogenů k ozřejnění nejasných cytologických nálezů (13, 15). I tato relativně nenáročná procedura znamená ovšem opakovaně vyšetření pacientky staršího věku, které je do jisté míry obtěžující, má určité ekonomické náklady a konečně i vlastní metodické limity. Ze všech těchto důvodů se pozornost zaměřuje na možnosti získat více informace z materiálu pořízeného již prvním odběrem. Pomocnou metodou použitelnou již v první době je určení proliferativní aktivity atypických hyperchromních trsů, jež jsou častým cytomorfolo-gickým nálezem pro dg. ASC-H. Postup lze bez problémů použít na LBC materiálu. Z ekonomických důvodů však tato metoda není ve většině zemí včetně ČR dostupná v širokém populačním měřítku. Pozornost jsme proto zaměřili na možnost využití základního získaného klasického stěru. Proliferativní aktivitu v histopatologickém materiálu hodnotíme rutinně v široké řadě zejména onkologických diagnostických situací; používaná protilátka MIB 1 (DAKO) s vizualizací značenou streptavidin-biotinovou koncovkou (LSAB) s vyvoláním DAB poskytuje v našich laboratořích konstantně dobré výsledky. V souladu s publikovanými zprávami o obdobných průkazech ze skandinávských pracovišť (8, 11) jsme se rozhodli ověřit si použitelnost tohoto postupu. V případě předpokládaného přínosu potom definovat užitečnost vřazení testu proliferativní aktivity do diagnostického a sledovacího algoritmu.

MATERIÁL A METODA

Materiál retrospektivní studie představovaly rutinně hodnocené cytologické nátěry 22 pacientek. Jedenadvacet z nich bylo perimenopauzálních a menopauzálních; jejich nálezy byly 16krát nejisté (ASCUS, popř. ASC-US, ASC-H v některé z obou verzí Bethesda klasifikace, tj. ASCUS různého typu v atrofii), 4krát SIL v atrofii s následnou histologií a 1krát atrofie s negativním cytologickým nálezem. Jedenkrát se jednalo H SIL u mladší pacientky bez atrofie. Celkově bylo revidováno 60 cytologických vyšetření, protože řada pacientek byla s dg. ASCUS vyšetřena cytologicky opakovaně. Po doporučeném vyzrácím testu (ne vždy na následném vyšetření uvedeném) byly další nálezy v kategorii benigních buněčných změn (NILM). Preparáty byly v souladu s přijatými standardy EFCS/QUATE základně barveny polychromem a montovány krycím sklem.

Vzhledem k okolnosti, že standard gynekologického cytologického vyšetření převzatý oběma zainteresovanými odbornými společnostmi (Společností českých patologů ČLS JEP a Společností klinické cytologie ČLS JEP) ze standardů evropských (UICC) ukládá archivaci tohoto unikátního materiálu (EFCS/QUATE), pořídili jsme v archivačním systému obrazové analýzy LUCIA Net (Laboratory Imaging, Praha) minimálně tři obrázky s diagnosticky významnými záběry dále zpracovávaných nátěrů. Následně byly dokumentované preparáty rozmontovány, odbarveny a podrobeny imunocytochemickému průkazu proliferativní aktivity s protilátkou Ki-67, klon MIB 1 firmy DAKO. Primární protilátka byla použita v ředění 1 : 50, inkubace 70 minut při pokojové teplotě. Detekce provedena systémem DAKO Cytomation LSAB™ + HRP. Vizualizace diamminbenzidinem (DAB – 5 minut). Jádra dobarvena Harrisovým hematoxylinem – 30 sekund. Výsledky byly opět archivovány v systému LUCIA Net.

Vyhodnocení pozitivit jsme prováděli ve čtyřstupňové škále: zcela negativní formace – neg.

ojedinelé pozitivita – x

řídce disperzní pozitivita (méně než 1/3 buněk) – xx

hustě disperzní pozitivita (více než 1/3 buněk) – xxx

VÝSLEDKY

Jak při archivaci obrazů z preparátů barevných polychromem, tak následně při hodnocení a dokumentaci proliferativní aktivity jsme se soustředili na diagnostické buněčné formace, které byly podkladem pro dg. ASCUS. V naprosté většině se jednalo o kompaktní buněčné formace s vyšším nukleoplazmovým poměrem, hyperchromazií či anizokaryózou. Méně často se jednalo o izolované atypické buňky se zvětšenými jádry, popř. vzhledu dyskeratocytů. Přehled pacientek dle věku, vstupní cytologické diagnózy a semikvantitativního zhodnocení pozitivit MIB 1 podává tabulka 1; biopsické došetření je k dispozici pouze u 7 z nich.

Tab. 1. Průkaz MIB 1 u pacientek vyšetřovaného souboru

Pac. č.	Věk (r)	Cytologická dg.	MIB 1	Biopická dg.	Další cytol. nálezy
1	71	ASC-H	xx	CIN II, III	1?ASC US, 2? NILM – atrofie
2	72	H SIL v atrofii	xxx	nemá	nemá
3	52	ASCUS v atrofii - ASC-H	x	nemá	nemá
4	76	ASCUS v atrofii (postirad. pro ca recti)	x	nemá	1? NILM – atrofie
5	59	ASCUS v atrofii	xx	nemá	2? NILM – atrofie
6	77	ASCUS v atrofii	xx	nemá	nemá
7	56	ASCUS v atrofii	xx	nemá	1? ASCUS, 1? NILM – atrofie
8	57	ASCUS v atrofii	nehodnot., málo buněk	nemá	L SIL v atrofii
9	70	ASCUS v atrofii	x	nezralá metaplazie	nemá
10	82	ASCUS v atrofii (L SILvs)	xx	nezralá metaplazie, dysplastické změny nepřítomny	neo vulva pro ca – negat; 2? ASC US
11	29*	L SIL, H SIL	x (NG+)	CIN I-CIN III	NILM, ASC US
12	56**	atrofie (bez atypii)	xx	nemá	NILM – atrofie
13	57	ASCUS v atrofii	neg	nemá	nemá
14	68	ASC-H v atrofii	xxx	nemá	1? ASCUS, 1? NILM – atrofie
15	47	ASC-H v atrofii	xxx	minim. vzorek, negat.	ASC US, dopor. HPV typ. – negat.
16	48	H SIL	x	CIN I,II, atyp. nezralá metaplazie; rebio negat.	reakt. změny
17	67	ASCUS v atrofii	x	nemá	nemá
18	65	H SIL v inic. atrofii	neg (NG+)	CIN I, II	NILM – atrofie
19	82	ASCUS v atrofii	xx	nezralá metaplazie v transf. zóně (+ca endometria)	nemá
20	58	ASC-H v část. atrofii	x	fragmenty leiomyomu	2? L SIL
21	59	ASCUS v atrofii	xx	nemá	2? NILM – atrofie
22	49	L SIL, H SIL poč. atrofie	xx	CIN II-III	nemá

* pozit. kontrola – mladší pac. s lézí; **neg. kontrola – pravidelná atrofie; NG+ pozitivita neutrofilních granulocytů v preparátech s neg. reakcí v epitelu – vnitřní kontrola reakce (endogenní peroxidáza blokována)

V technologické úrovni jsme si ověřili proveditelnost postupu na preparátech, které byly montovány krycími skly. Sejmutí krycího skla, odbarvení a provedení imunocytochemické reakce na předtím vymezeném úseku bylo proveditelné i na déle (v naší studii maximálně 2 roky) montovaných preparátech.

Vyhodnocení nebylo možné v jediném případě, kdy po reakci byl nátěr velmi málo buněčný.

Pořízená obrazová databáze umožňovala porovnání nálezů v polychromatickém barvení s následným průkazem MIB.

Naše pacientky s prokázanou SIL vykazovaly přítomnost MIB 1 pozitivních buněk ve skupinách stupňů 2–4 (4/5). Zjištěná histologická pozitivita byla zpravidla o stupeň vyšší (obr. 1 a-d, pac. č. 1).

Vysoká pozitivita MIB 1 (xxx – obr. 2 a-b) byla nalezena u dvou pacientek s ASC-H ze základní cytologie; u jedné následovala negativní biopsie z endocervixu s minimem materiálu, u další zatím není biopsie provedena. Došetření jejich nálezů jsme doporučili.

Pozitivitu řídce disperzní (skupina 3 – xx) byly častěji (6krát)

zjištěny u kompaktních shluků vzhledu nezralé metaplazie (obr. 3). U těchto pacientek jsme zaznamenali následně ústup cytologického nálezu. Ojedinele byla taková pozitivita zjištěna i u negativní kontrolní pacientky s dg. prosté atrofie (bez ASCUS nálezů). Histologicky (hysterektomie pro ca endometria) byl zachycen okrsek nezralé metaplazie v transformační zóně.

U pacientek, které měly pouze ojediné MIB 1 pozitivitu, docházelo častěji (4/7) k ústupu nálezu. Nicméně tento stupeň pozitivitu doprovázel i dva nálezy s histologicky ověřenou CIN.

Průkaz MIB1 vykazoval v histologickém preparátu pacientky s lézí CIN II, CIN III ložiskovou variabilitu (obr. 4).

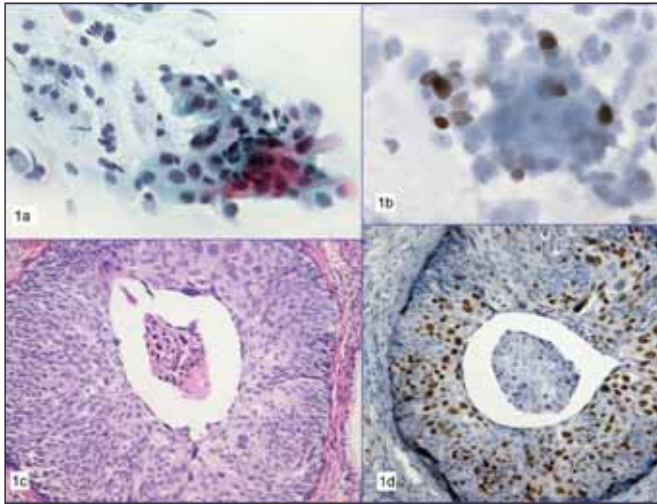
Nátěr 65leté pacientky limitovaný pro hodnocení v polychromatickém barvení nepřehledností danou nečistým pozadím v terénu zánětlivých změn MOP III, který vykazoval přítomnost suspektních buněčných trsů, byl v průkazu MIB 1 po odbarvení zřetelně přehlednější. Mohl být vyhodnocen v kategorii NILM s větší jistotou nejen pro nízkou pozitivitu MIB 1, ale i pro lépe hodnotitelnou cytomorfoloii buněk (obr. 5a-d).

DISKUSE

Vstupní předpoklad, že by došetření proliferativní aktivity v cytologických stěrech s různým stupněm atrofie mohlo pomoci v řešení nejasných obrazů, nás vedl v prvé řadě k podrobnějšímu studiu literatury o atrofických stěrech a jejich diagnostických úskalích studovaných ve velkých sestavách.

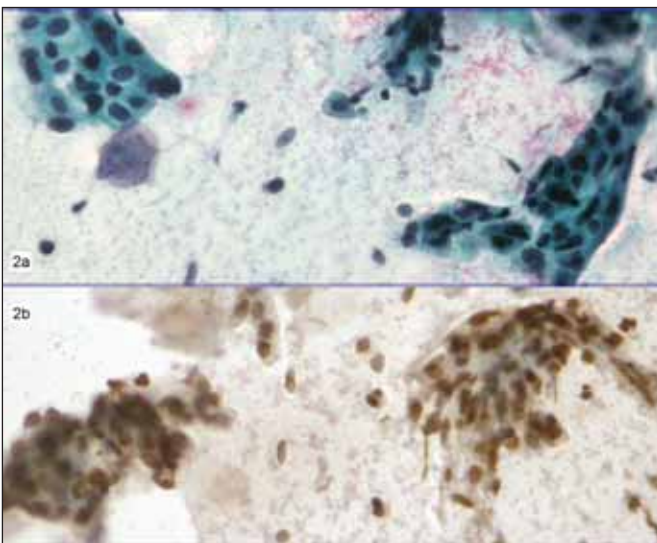
Okolnost, že atrofické stěry jsou zatíženy větším počtem nejasných nálezů ověřili na sestavě 11323 pacientek Keating a Wang (14). Poměr ASCUS k následným SIL byl v jejich souboru 2,2 pro premenopauzální pacientky, 7,5 pro perimenopauzální (v této skupině je nejvyšší zastoupení částečných atrofii) a 4,1 pro postmenopauzální. Z uvedených koeficientů vyvozují nízkou výpovědní hodnotu nálezu ASCUS pro peri- a postmenopauzální období. Úlohu kolposkopického a opakovaného cytologického vyšetření při nálezů atypických buněk

v postmenopauze hodnotili Kaminski et al. (12). Dospěli ke stejnému závěru nižší incidence skutečných lézí. V naší realitě je kolposkopie (i když většinou nikoli „expertní“) součástí vyšetření při odběru gynekologické cytologie. Transformační zóna však u postmenopauzální ženy je většinou mimo její dosah. Saminathan et al. (20) revizí 60 nátěrů pacientek přeradili 15 (25 %) do benigní kategorie cervicitis. Poukazují rovněž na interferenci artefaktů, jimiž jsou atrofické stěry zatíženy větší měrou. Acs et al. (4) naopak v sestavě 228 postmenopauzálních pacientek s atypickými nálezy jak na žlázo- (AGS), tak na dlaždicových buňkách (ASCUS, SIL) a vysokým procentem histologických došetření ověřili u došetřených pacientek poměrně vysokou incidenci lézí (celkem 45 % AGS nálezů bylo sledováno histologicky potvrzenou žlázo- nebo dlaždicovou dysplazií; u atypických nálezů ASCUS a SIL šlo o více než 30 %) – s pozorovatelnou tendencí k nadhodnocení L SIL za H SIL. Z toho vyvozují nutnost věnovat zvýšenou pozornost těmto obtížně hodnotitelným obrazům – po vyloučení artefaktů (často s pomocí vizuálního testu). Otázce diagnóz ASCUS podmíněných artefakty (zejména z vysychání) a atrofiemi se ve své studii zabývají i Cenci a Vecchione (9). Povahu velkých modravých kulovitých útvarů volně ležících v pozadí atrofických stěrů a imitujících atypická holá jádra (tzv. „blue blobs“) jakožto regresivně změněných buněčných zbytků parabazálních a dolních intermediálních buněk objasnili imunocytochemickými studiemi a elektronovou mikroskopií Abdulla et al. (3). Valente et al. (25) porovnávali cytologické obrazy pacientek užívajících medroxyprogesteronacetát. V následném útlumu maturace se sníženým vyzávacím indexem pozorovali u pětiny pacientek abnormální obrazy (ASCUS, ale i falešné pozitivita H SIL následně nepotvrzené dalšími stěry a biopsií). Podklad pro tato nadhodnocení identifikovali ve vyšším relativním zastoupení hyperchromních parabazálních buněk, obdobně jako je tomu v postpartuálních a atrofických stěrech (5). Kir et al. (16) se nověji zabývají rizikem HG léze u pacientek s dg. L SIL. V sestavě více než 20 000 vyšetření našli 3 z 27 pacientek se závěrem L SIL s následnou histologickou diagnózou CIN2-3, a dokonce osm ze 13 pacientek s dg. CIN2-3, která následovala po cytologickém závěru LASC-H (= LSIL +ASC-H buňky). Prosazují uznání této nově pojmenované kategorie, která je (i v postmenopauzálních stěrech) v praxi někdy bez zřetelného vymezení v TBS systému používána. Revizí 100 histologicky ověřených nálezů pacientek s dg. různých typů ASCUS při úplném vyřazení této dg. nebo její restrikci prokázali Pitman et al. (19) nezbytnost



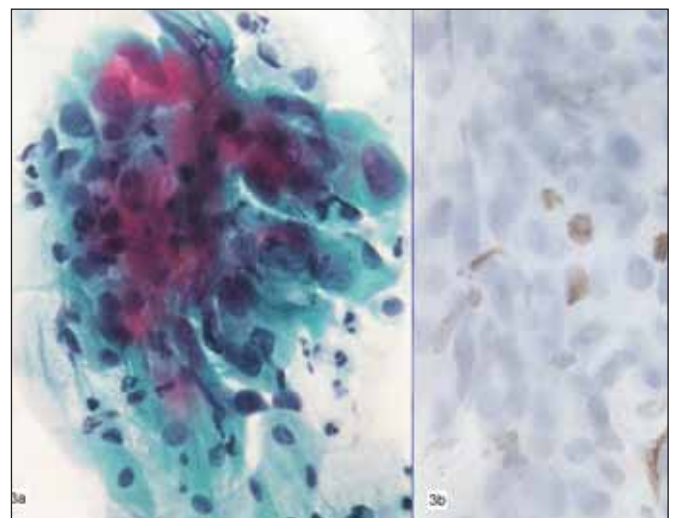
Obr. 1a-d. 71 let

1a. Nátěr – polychrom. Částečná atrofie. Anizokaryóza. Hyperchromazie. Posun nukleoplazmatického poměru. Dobrá koheze. Závěr: ASC-H. – 1b. Řídce disperzně pozitivní průkaz MIB 1 v odbarveném nátěru. – 1c. Histologický nález CIN III. – 1d. Hustě disperzní pozitivita MIB 1 v histologickém řezu



Obr. 2a-b. 68 let

2a. Nátěr – polychrom. Skupiny buněk s atypickými hyperchromními jádry. Závěr: ASC-H. – 2b. Průkaz MIB 1 v odbarveném nátěru pozitivní téměř ve všech buňkách vyšetřovaného trsu. Doporučeno histologické došetření – zatím neprovedeno



Obr. 3a-b. 70 let

3a. Nátěr – polychrom. Atypická méně zralá metaplazie. Anizokaryóza. Zánětlivá celulóza. Závěr: ASC US. – 3b. Ojedíněle pozitivní průkaz MIB 1 v odbarveném nátěru. Pozitivita neutrofilních granulocytů (endogenní peroxidáza blokována)

zachování kategorie ASCUS pro udržení citlivosti PAP – testu. Užitečnost této kategorie potvrzuje i studie Selvaggiho (21) v LBC materiálu. Z více než 9000 testů tato dg. stanovená u 25 pacientek vedla v následně bioptické verifikaci 2krát k ekvivalentu L SIL a 15krát H SIL.

Abati et al. (1, 2) ve své sestavě 90 pacientek vyšetřených před a po aplikaci vyžrávacího testu zdůrazňují, že pouhé relativní zvětšení jádra není dostatečným cytodiagnostickým znakem dysplazie v atrofii. Spolehlivějšími ukazateli byly v jejich sestavě hyperchromazie jader spolu s nepravidelnými konturami jádra. Ty však mohou v estrogen-deficitních situacích být i odrazem regresivních buněčných změn.

Studii jsme podnikli k ověření proveditelnosti, výpovědní hodnoty a v případě pozitivního vyznění pilotní studie k vypracování indikačního a vyhodnocovacího algoritmu testu proliferanční aktivity.

Pracovní hypotéza vycházela z poměrně častého zpětně ověřeného nadhodnocení nálezu před použitím vyžrávacího testu, s předpokládaným výsledkem snížení četnosti jeho indikace, popř. v řešení nejasných nálezů (zejména ASC-H).

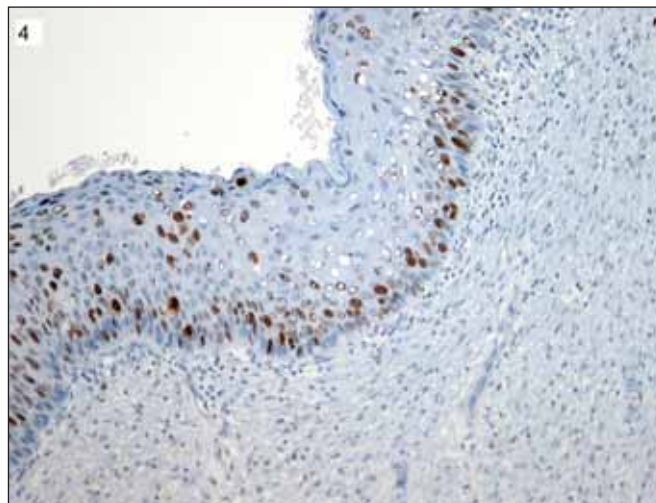
I když na klasicky montovaných nátěrech se v naprosté většině případů podaří pečlivou laboratorní prací hodnotitelný průkaz získat, uvedený výčet nálezů potvrzuje vstupní předpoklad, že průkaz proliferanční aktivity na odbarvených preparátech rozhodně není jednoduchým řešením problému ASCUS v atrofii.

Tak jako u všech imunohistochemických a imunocytochemických testů je nutno v interpretaci uvažovat o možnosti falešné negativity (ztráty některých buněčných formací v průběhu imunocytochemické procedury) a věnovat pozornost odpovídající interpretaci zjištěných pozitivit. V praxi to v případě protilátky MIB znamená v materiálu gynekologického cytologického stěru z peri- nebo postmenopauzálního období věnovat pozornost regresivně změněným buňkám, jež mohou pyknózou a následnou hyperchromazií jaderného chromatinu napodobovat buňky atypické. Již samotný instrukční list dodávaný s protilátkou MIB 1 firmou DAKO upozorňuje na riziko falešných pozitivit na narušených buňkách. Okolnost, že regresivně změněné buňky s alarmujícími cytomorfoloickými znaky zpravidla vymizí z cytologického obrazu po lokálním podání estrogenů, je podkladem praktické užitečnosti vyžrávacího testu. Zčásti se tento efekt týká i nezralé metaplazie. Vyšetření proliferanční aktivity zde napomůže zjistit, zda jde o proliferaci pravidelnou, s tendencí k vyžrávání, či atypickou, s přítomností pozitivit ve všech vrstvách skvamózních epitelových formací (i cytologických, nejen histologických), případně s doprovodnými morfoloickými znaky atypické nezralé metaplazie. Ojedinelá publikovaná sdělení dokládají vysokou užitečnost ověření proliferanční aktivity pro redukci falešně pozitivních nálezů a indikací vyžrávacího estrogenního testu (8, 9). Jeho využití v diagnostice glandulárních lézí testovali Boon et al. (7).

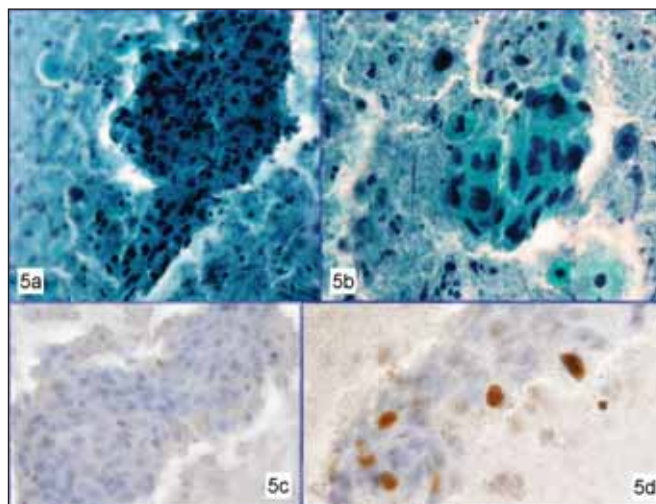
V naší úvodní zkušenosti jsme si ověřili, že vyhodnocení musí striktně respektovat pravidlo zachovalých buněk a vylučovat jednotlivé buňky s projevy možných regresivních změn. To je možná důvodem, proč jsou sdělení o použití tohoto testu zatím v literatuře ojedinelá. Při převaze PAP testů klasickou cytologií (oproti nověji prosazované LBC) může hrát roli i otázka montování preparátů – umělé médium je levnější, avšak jeho sejmutí a odbarvení není snadno proveditelné.

Na otázku, zda a za jakých okolností má toto technicky vcelku proveditelné vyšetření smysl, jsme zhodnocením prvních zkušeností dospěli k závěru, že jeho praktické využití je v oblasti atypických atrofických obrazů omezené. Nepovažujeme je za indikované při nálezu ASC US, při němž je v případě negativního kolposkopického nálezu riziko existence prekancerózy velmi malé. Zde je nepochybně postačující kratší kontrolní interval 6–12 měsíců.

Může však mít určitou výpovědní hodnotu pro modifikaci klinicko-morfoloického vyšetřovacího algoritmu pacientek s atrofickým obrazem vykazujícím znaky ASC-H popř. H SIL v atrofii v polychromatickém preparátu. V takovém případě



Obr. 4. 48 let
CIN II a III. Variabilita hustoty jader dysplastických epitelů pozitivních v průkazu MIB 1



Obr. 5a-d. 65 let
5a, b. Nátěr – polychrom. Limit pro hodnocení daný silným zánětem (smíšená flóra, MOP II-III) v pozadí. Skupiny buněk s atypickými hyperchromními jádry. Závěr: ASC US v atrofii se zánětem

5c,d. Průkaz MIB 1 v odbarveném nátěru pozitivní v některých kompaktních skupinách ojedinelě, v jiných řídko disperzně. Morfologie jader lépe hodnotitelná. Závěr: NILM. Doporučena terapie zánětu a kontrola v kratším intervalu

doporučujeme archivaci obrazu suspektních diagnostických buněčných shluků a MIB 1 test na odbarveném preparátu. Pokud bude pozitivita suspektních buněčných skupin silná, je to důvodem k bioptickému došetření. Slabé a střední pozitivitě jsou kandidáty pro E-test a kontrolu po půl roce.

Vzhledem k nízkému výskytu lézí v perimenopauzálním a postmenopauzálním období není jednoduché propojení hledisek etických (maximální bezpečí pacientky s atypickým cytologickým obrazem v částečné nebo úplné atrofii; narušení psychologického komfortu doplňujícími vyšetřeními a častějšími kontrolami) a ekonomických. Nicméně jak naše rozsahem limitovaná studie, tak kritické oponentní práce většího rozsahu prokázaly možnost falešné negativity MIB 1 jak v cytologickém, tak histologickém obraze těžké dysplazie (23). Vykládají ji vlivem buď nedostatečné fixace, nebo existencí nízké proliferující buněčných klonů s výraznými dysplastickými cytologickými rysy, jejichž existence vysvětlí

známou skutečnost mírného klinického průběhu části těžkých dysplazií.

Na druhé straně i v atrofickém terénu dochází k (zpočátku nezralé a někdy atypické) metaplazii a regeneraci epitelu s vystupňovanou proliferací aktivitou.

Závěrem lze tedy říci, že naše limitovaná studie a kritické zhodnocení dostupné literatury ohledně významu doplňujícího vyšetření proliferací aktivity s protilátkou MIB 1 na odbarvených polychromatických nátěrech nás řadí do skupiny spíše rezervovaných autorů. V této aplikaci se jedná o pomocnou reakci s omezeným potenciálem, nikoli o nástroj pravidelně usnadňující rozhodnutí v případě možné závažné diagnózy ASC-H v atrofii.

Seznam zkratk

AGS	– Atypical Glandular Cells
ASCUS	– Atypical Squamous Cells not otherwise specified
ASCUS H	– Atypical Squamous Cells of Uncertain Significance, can not exclude high-grade squamous intraepithelial lesion
ASC-H	– Atypical Squamous Cells, can not exclude a high-grade squamous intraepithelial lesion
ASCUS L	– Atypical Squamous Cells of Uncertain Significance suggestive of L SIL
ASC US	– Atypical Squamous Cells of Uncertain Significance
H SIL	– High Grade Squamous Intraepithelial Lesion
LSAB	– Labelled StreptAvidin-Biotin
LBC	– Liquid Based Cytology
L SIL	– Low Grade Squamous Intraepithelial Lesion
LUCIA	– Laboratory Universal Computer Image Analysis
EFCS/QUATE	– European Federation of Cytology Societies, Committee for Quality Assurance, Training and Education
NILM	– Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy (Bethesda 2001)
TBS	– The Bethesda System 1991, 2001 verze klasifikací nálezů v cytologii cervixu

LITERATURA

1. **Abati, A., Fetsch, P., Filie, A.:** If cells could talk. The application of new techniques to cytopathology. *Clin. Lab. Med.* 1998 Sep;18: 561-583.
2. **Abati, A., Jaffurs, W., Wilder, A.M.:** Squamous atypia in the atrophic cervical vaginal smear: a new look at an old problem. *Cancer*, 1998 Aug 25;84: 200-201.
3. **Abdulla, M., Hombal, S., Kanbour, A. et al.:** Characterizing "blue blobs". Immunohistochemical staining and ultrastructural study. *Acta Cytol.* 2000 Jul-Aug;44: 547-550.
4. **Acs, G., Gupta, P.K., Baloch, Z.W.:** Glandular and squamous atypia and intraepithelial lesions in atrophic cervicovaginal smears. One institution's experience. *Acta Cytol.* 2000 Jul-Aug;44: 611-617.
5. **Batrinis, M., Eustratiades, M.:** The diagnostic significance of parabasal cells. I. Correlation with the clinical diagnosis in 209 patients. *Acta Cytol.* 1975 Mar-Apr;19: 97-99.
6. **Bibbo, M.:** *Comprehensive Cytopatology.* WB Saunders, Philadelphia, 1991. 1101 stran, ss. 153-160.
7. **Boon, M.E., Vinkestein, A., van Binsbergen-Ingelse, A., van Haften, C.:** Significance of MiB-1 staining in smears with atypical glandular cells. *Diagn. Cytopathol.* 2004 Aug;31: 77-82.
8. **Bulten, J., de Wilde, P.C., Boonstra, H., Gemmink, J.H., Hanselaar, A.G.:** Proliferation in "atypical" atrophic pap smears. *Gynecol. Oncol.* 2000 Nov;79: 225-229.
9. **Cenci, M., Vecchione, A.:** Atypical squamous and glandular cells of undetermined significance (ASCUS and AGUS) of the uterine cervix. *Anticancer Res.* 2000 Sep-Oct;20(5C): 3701-3707.
10. **DeMay, R.M.:** *The PAP test.* ASCP Press, Chicago 2005, ss. 66-69.
11. **Ejersbo, D., Jensen, H.A., Holund, B.:** Efficacy of Ki-67 antigen staining in Papanicolaou (Pap) smears in post-menopausal women with atypia-an audit. *Cytopathology.* 1999 Dec;10: 369-374.
12. **Kaminski, P.F., Stevens, C.W. Jr., Wheelock, J.B.:** Squamous atypia on cytology. The influence of age. *J. Reprod. Med.* 1989 Sep; 34(9):617-620.
13. **Kashimura, M., Baba, S., Nakamura, S., Matsukuma, K., Kamura, T.:** Short-term estrogen test for cytodagnosis in postmenopausal women. *Diagn. Cytopathol.* 1987 Sep;3: 181-184.
14. **Keating, J.T., Wang, H.H.:** Significance of a diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance for Papanicolaou smears in perimenopausal and postmenopausal women. *Cancer*, 2001 Apr 25;93: 100-105.
15. **Keebler, C.M., Wied, G.L.:** The estrogen test: an aid in differential cytodagnosis. *Acta Cytol.* 1974 Nov-Dec;18: 482-493.
16. **Kir, G., Cetiner, H., Gurbuz, A., Karateke, A.:** Reporting of "LSIL with ASC-H" on cervicovaginal smears: is it a valid category to predict cases with HSIL follow-up? *Eur. J. Gynaecol. Oncol.* 2004;25: 462-464.
17. **Koss, L.G.:** *Diagnostic cytology and its histopathological bases.* 4th ed. J.B. Lippincott, Philadelphia, 1992, 1657 stran, ss. 276-313
18. **Pinto, A.P., Tuon, F.F., Tizzot, E.L., Torres, L.F., Collaco, L.M.:** Nonneoplastic findings in loop electrical excision procedure specimens from patients with persistent atypical squamous cells of uncertain significance in two consecutive pap smears. *Diagn. Cytopathol.* 2002 Aug;27: 123-127.
19. **Pitman, M.B., Cibas, E.S., Powers, C.N., Renshaw, A.A., Frable, W.J.:** Reducing or eliminating use of the category of atypical squamous cells of undetermined significance decreases the diagnostic accuracy of the Papanicolaou smear. *Cancer.* 2002 Jun 25;96: 125-127.
20. **Saminathan, T., Lahoti, C., Kannan, V., Kline, T.S.:** Postmenopausal squamous-cell atypias: a diagnostic challenge. *Diagn. Cytopathol.* 1994;11: 226-230.
21. **Selvaggi, S.M.:** Reporting of atypical squamous cells cannot exclude a high-grade squamous intraepithelial lesion (ASC-H) on cervical samples: is it significant? *Diagn. Cytopathol.* 2003 Jul;29: 38-41.
22. **Smedts, H.:** Efficacy of Ki-67 antigen staining in Papanicolaou (pap) smears in postmenopausal women with atypia-an audit. *Cytopathology*, 2001 Apr;12: 130-132.
23. **Solomon, D., Frable, W.J., Vooijs, G.P. et al.:** ASCUS and AGUS criteria. International Academy of Cytology Task Force summary. *Diagnostic Cytology Towards the 21st Century: An International Expert Conference and Tutorial.* *Acta Cytol.* 1998 Jan-Feb;42: 16-24.
24. **Thomas, A., Correa, M.M., Kumar, K.R.:** Clinical profile and cervical cytomorphology in symptomatic postmenopausal women. *Indian J. Pathol. Microbiol.* 2003 Apr;46: 176-179.
25. **Valente, P.T., Schantz, H.D., Trabal, J.F.:** Cytologic changes in cervical smears associated with prolonged use of depot-medroxyprogesterone acetate. *Cancer*, 1998 Dec 25;84: 328-333.
26. **Wied, G.L., Bibbo, M., Keebler, C.M., Koss, L.G., Patten, S.F., Rosenthal, D.:** *Compendium on diagnostic cytology.* 8th ed., Chicago, Illinois, USA, 1997, 420 stran, ss. 117-118.

Doc. MUDr. J. Dušková, CSc., FIAC
Ústav patologie 1.LF UK
Studničkova 2
128 00 Praha 2
e-mail: jaroslava.duskova@lf1.cuni.cz