

ARTICOL DE CERCETARE

RESEARCH ARTICLE

## Corelația dintre examenul citomorfologic și cel patohistologic în displazia de col uterin

Oleg V. Lukianchuk<sup>1</sup>, Larisa G. Rosha<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Universitatea Națională de Medicină din Odessa, Odessa, Ucraina

### Autor corespondent:

Larisa G. Rosha, dr. șt. med., asist. univ.

Centrul de Medicină Reconstructivă și Reabilitare

Universitatea Națională de Medicină din Odessa

Str. Valikhovskiy, 2, Odessa, Ucraina, 65000

## Correlation between cytomorphological and pathohistological examination in dysplasia of uterine cervix

Oleg V. Lukianchuk<sup>1</sup>, Larisa G. Rosha<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine

### Corresponding author:

Larisa G. Rosha, PhD, Assistant Professor

Center for Reconstructive and Rehabilitation Medicine

Odessa National Medical University

2, Valikhovskiy str., Odessa, Ukraine, 65000

### Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Testele *screening* (testul Papanicolau și examenul histopatologic) de identificare a stărilor precanceroase și a cancerului *in situ* de col uterin nu sunt bazate pe criterii de diagnostic foarte exacte și lasă loc de interpretare subiectivă a rezultatelor. Cazurile de rezultate fals-negative sunt destul de frecvente.

### Ipoteza de cercetare

Colorația Papanicolau și Romanovski a frotiurilor, combinate cu examenul histopatologic, reduc probabilitatea rezultatelor fals-negative ale *screening*-ului pentru stările precanceroase ale colului uterin.

### Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Se reconfirmă avantajul testului Papanicolau față de alte metode diagnostice. Se constată, că rezultatele fals-negative, în mare parte, sunt determinate de efectul Koss. În cazurile suspecte sau neclare, se recomandă reevaluarea probelor colectate anterior.

### What is not known yet, about the topic

Screening tests (Papanicolau test and histopathological examination) used to identify precancerous states and *in situ* cancer of uterine cervix are not based on very exact diagnostic criteria and thus results interpretation are very subjective. False negative tests are very common.

### Research hypothesis

Papanicolau and Romanovski coloration of the smears, combined with histopathological tests, reduce the probability of false negative results of precancerous states of uterine cervix.

### Article's added novelty on this scientific topic

The advantage of Papanicolau test is reconfirmed compared to other diagnostic methods. False negative tests are attested in the majority of the cases due to Koss effect. In suspicious or unclear cases it is recommended to re-evaluate previously collected material.

### Rezumat

**Introducere.** O problemă comună în diagnosticarea stărilor precanceroase și a cancerului de col uterin prin examene citologice și histologice este interpretarea, în mare parte subiectivă, rezultatelor. Scopul lucrării a fost de a compara între ele metodele citomorfologică și patohistologică de diagnostic al leziunilor-precursor și a cancerului de col uterin, de a estima capacitatea descriptivă a diferitor tehnici de colorare a probelor citomorfologice.

**Material și metode.** Studiul a inclus 960 de paciente cu vârsta cuprinsă între 17-67 de ani, consultate (clinic, colposcopie, examinare citomorfologică și patohistologică) la Cen-

### Abstract

**Introduction.** The common problem in diagnostics of uterine cervical cancer is the difference in interpretation of the specimen using cytological and histological methods. The goal of this work was to perform the comparison of cytomorphological and pathohistological methods of diagnostics of precancer and cancer pathology of uterine cervix, estimation of informative capabilities of various types of staining of cytomorphological specimens.

**Material and methods.** During the study, 960 patients aged from 17 to 67 years underwent diagnostic procedures in the Center of reconstructive and rehabilitation medicine. The

trul de Medicină Reconstructivă și Reabilitare din Odessa. Frotiurile preparate obișnuit, colorate după Papanicolau și Romanovski. Conform indicațiilor medicale, a fost efectuată biopsia de col uterin sau conizarea electrică, cu examinarea patohistologică ulterioară a probelor. Diagnosticile citologice și histopatologice au fost, apoi, confruntate.

**Rezultate.** Studiul a demonstrat că testul Papanicolau are o sensibilitate diagnostică semnificativ mai mare decât examenul citologic, colorație Romanovski. Cauzele cele mai frecvente ale rezultatelor fals-negative au fost induse de fenomenul Koss.

**Concluzii.** (1) Testul Papanicolau, comparativ cu colorația Romanovski, are o sensibilitate sporită în depistarea modificărilor asociate cu infecția cu virusul papilomului uman și a stadiilor de manifestare a discariozei (81,2% vs. 78,1%, respectiv). (2) În cazul cervicitei cronice manifeste și a koilocitozei, examenul citomorfologic arată un stadiu inferior de displazie tisulară, decât este în realitate. (3) Rezultatele fals-negative ale examenului patomorfologic, în cadrul instituțiilor de nivel III, ar putea fi identificate prin examinarea repetată a probelor citomorfologice, colectate în trecut.

**Cuvinte cheie:** stări precanceroase, sistemul Bethesda, displazie de col uterin, examen citomorfologic, examen histopatologic, cancer *in situ* de col uterin.

## Introducere

Cancerul de col uterin (CCU) face parte din grupul celor mai răspândite și social importante boli oncologice. Deoarece, în majoritatea cazurilor, CCU are localizare accesibilă vizualizării directe, stabilirea diagnosticului nu necesită echipamente costisitoare și metode complexe. În prezent, metodele citologică și histologică sunt cele mai accesibile și răspândite mijloace de diagnostic ale neoplasmelor de col uterin, fiind considerate drept „standard de aur”.

Cel mai frecvent, CCU este înregistrat la persoane vârstnice (60-70 de ani și peste), însă, tot mai multe comunicări se referă atât la diagnosticarea patologiei date, cât și la constatarea de leziuni cervicale severe la femeile de vârstă reproductivă, care au mai puțin de 30-35 de ani [1, 2]. Creșterea frecvenței de CCU la femeile de vârstă reproductivă timpurie și mijlocie este un semn social alarmant, mai ales în contextul unui număr tot mai mare de femei, care planifică nașterea după vârsta de 30 de ani, deoarece tratamentul specific al CCU deseori este asociat cu dezadaptare socială și, uneori, infirmitate [3].

Există, de asemenea, studii care constată „întinerirea” patologiilor de col uterin (CU), acestea din urmă fiind diagnosticate chiar și la femeile gravide, mai tinere de 24 de ani [3, 4]. Este de remarcat faptul, că femeile gravide, mai tinere de 24 de ani și cu patologie de col uterin, au o prevalență dublă a afecțiunilor inflamatorii și a comorbidităților.

Metoda citologică este standardul de depistare precoce, la etapa preclinică, a CCU. În consecință, *screening*-ul citologic a contribuit semnificativ la reducerea morbidității și mortalității de CCU în țările, unde acest program a fost implementat. Cu

procedurile incluse examenul clinic, colposcopia, și smears preparate folosind tehnica standard și colorate după Papanicolau și Romanovski. Ulterior, în funcție de indicații medicale, s-au efectuat biopsii țintite ale cervixului uterin sau conizarea electrică, urmate de examinarea patohistologică ulterioară a probelor. Diagnosticile citologice și histopatologice au fost, apoi, confruntate.

Final cytological and histopathological diagnoses were compared.

**Results.** The study showed that staining after Papanicolau method increases the effectiveness of cytological investigation compared to staining after Romanovski method. Causes of false negative results were studied and found to be related to the Koss phenomenon.

**Conclusion.** (1) Papanicolau staining of the smears is recommended for improvement of positive detection of pathologic changes in cervical epithelium associated to human papilloma virus changes and dyskaryosis stage (81.2% and 78.1% respectively). (2) In patients with chronic cervicitis and koilocytosis, cytomorphological exam shows an inferior degree of dysplasia than in reality. (3) False negative results of pathomorphological investigation, made at level III institutions, can be identified by reviewing previous cytological specimen.

**Keywords:** precancerous states, Bethesda system, cervical dysplasia, cytomorphological exam, histopathological exam, uterine cervix *in situ* cancer.

## Introduction

Cancer of uterine cervix (CUC) belongs to the group of the most wide-spread and socially significant oncological diseases. CUC can be localized visually, and does not require costly equipment and complex methods, since it can be performed using well-known and widely available morphological and endoscopic methods. Nowadays cytological and histological methods of diagnostics are still the “golden standard”, the most affordable and widespread of all the methods of diagnostics of uterine cervix neoplasms (UC).

CUC is most frequently found in older age (60-70 years and older), but recently many announcements were published that describe cases of this pathology in women of reproductive age. The reports of heavy lesions of uterine cervix in young women aged less than 30-35 years become more frequent [1, 2]. Increased frequency of CUC in early and medium reproductive age is a threatening social sign, especially considering the increased quantity of women that plan childbirth after 30 years, because special treatment of CUC often leads to social inadequacy and sometimes invalidization of the woman [3].

There are studies of “rejuvenescence” of pathologic processes of the UC in pregnant women with established prevalence of patients aged less than 24 years [3, 4]. It’s worth noticing that the inflammatory and background pathology has almost double prevalence in pregnant women aged less than 24 years with UC pathology.

The standard of early (pre-clinical) detection of CUC is the cytological method. The cytology screening helped decrease

toate acestea, sensibilitatea metodei citologice este insuficientă, fiind de doar până la 83,3% [5].

Pe de altă parte, și rezultatele metodelor morfologice de diagnostic nu sunt întotdeauna clare, în special, în cazul etapei de displazie de epiteliu scuamos și în definirea formelor inițiale ale CCU [1]. Există numeroase cazuri de interpretare diferită a aceluși probe de către patologi și citologi înalt calificați. Criteriile morfologice existente pentru diagnosticul diferențiat al etapelor de progresie al tumorilor de col uterin sunt mai mult subiective și posedă reproductibilitate joasă între specialiști. Metodele auxiliare moderne, care sunt utilizate în diagnosticarea neoplaziei scuamoase intraepiteliale de col uterin (microscopia electronică, imunohistochimie și imunocitochimie, tehnici de biologie moleculară), au o precizie diagnostică redusă și costuri înalte [1].

Conform observațiilor lui Bochman Y. B., diagnosticul tardiv al CCU nu este cauzat numai de o supraveghere oncologică necalitativă (asigurată, în Ucraina, de medici generalişti), de *screening*-ului citologic, care nu acoperă populația feminină țintă, de greșelile de interpretare a rezultatelor examenului citologic, dar și de faptul că în 7%-20% dintre toate cazurile, neoplazia este localizată în canalul cervical, astfel, devenind inaccesibilă pentru metodele de *screening*.

Este cunoscut dinamismul modificărilor de epiteliu displazic: în doar 6% din cazuri acesta demonstrează o regresie inversă [10]. Uneori, modificările odată produse devin staționare, însă, în aproximativ în 30% din cazuri ele progresează, ulterior, în 40% din cazuri, se transformă în carcinom preinvaziv [6-7].

Date recente, care estimează capacitatea de diagnostic al citologiei cervicale, demonstrează o sensibilitate joasă a metodei, de la 30% la 83%, iar rata de rezultate fals-negative atinge cifra de 13%-70%; idem – pentru rezultatele fals-pozitive [5, 8]. Este cunoscut faptul, precum că o parte semnificativă a pacienților cu cancer invaziv de col uterin, au fost, în anamneză, „negativi pentru atipii celulare” în frotiurile cervicale [5, 8, 9].

O condiție indispensabilă pentru o interpretare morfologică corespunzătoare, este prelevarea corectă a frotiului. Din toate cazurile de cancer de col uterin, care nu a fost depistat la timp în timpul *screening*-ului, 30% au avut la origine prelevarea frotiului și pregătirea greșită a probelor, care a condus, drept consecință, la interpretări eronate [8].

Validarea metodelor citologice de diagnostic se face prin compararea rezultatelor lor cu cel al examenului histologic programat, luat drept referință. Astfel, concordanța diagnostică a metodelor este de 75%-90% [1]. Discordanțele diagnostice, constatate în 3%-24% din cazuri, sunt cauzate de locurile diferite de prelevare a probei, de prelevarea incorectă sau de nimerirea unei porțiuni neinformative de țesut [1, 7].

O concluzie citologică modernă nu se limitează doar la constatarea cancerului, dar precizează tipul histologic al tumorii și stadiul ei de diferențiere, în conformitate cu clasificările internaționale comune ale ICD-O și OMS. Specialiști în morfologie utilizează clasificarea Papanicolau și clasificarea patologică internațională TBS (din l. engl. *the Bethesda system*), elaborată în anul 1988 în Bethesda (SUA) și modificată, ulterior,

the morbidity and mortality rates of CUC in every country where respective program has been introduced. Nevertheless, the sensitivity of cytological method stays insufficient, up to 83.3% [5].

However the results of morphologic methods of investigation are not always well-defined, especially when it comes to estimation of stages of dysplasia of squamous epithelium and definition of initial forms of CUC [1]. There are frequent cases of different interpretation of the same specimen by highly qualified pathologists and cytologists. The suggested morphological criteria for differential diagnostics of various manifestations of tumor progression in uterine cervix stay subjective and do not suggest a high reproducibility of diagnosis by different researchers. The modern auxiliary methods that are used in diagnostics of squamous neoplasia of uterine cervix (electronic microscopy, immunohisto- and immunocytochemistry, molecular biologic methods) do not allow solving the diagnostic questions of this pathology because of their insufficient accuracy and high costs [1].

As noticed by Y. B. Bochman, the reason of late exposure of CUC lies not only in bad oncological observation of the doctors of common medical network, insufficient coverage of female population by cytological screening, mistakes of the screening and mistaken interpretation of the results of cytological investigation, but also in the fact that in 7%-20% of all cases neoplasia is localized in cervical channel, which lets it “slip away” from screening measures.

There's known dynamism of the changes of dysplastic epithelium, only 6% of which demonstrate reverse regression [10]. In some other cases the processes after a while are characterized by static character, in about 30% dysplasia is progressing, and in 40% it transforms into pre-invasive carcinoma [6-7].

Analysis of modern state of effectiveness of cervical cytological diagnostics, according to foreign references, demonstrates limited sensitivity of the method, which, according to data of various authors, varies from 30% to 83% [8]. The percentage of false negative results makes 13%-70%, equal for false positive results [5, 8]. It is known that a significant percentage of the patients with invasive cervical cancer have “negative for cellular atypia” cervical smears in anamnesis [5, 8, 9].

The necessary conditions for precise estimation of cellular morphology in cytological investigations are high quality and adequacy of the smear; 30% of cervical cancer cases that have not been recognized on time are the cases in which mistakes in taking and preparation of specimens and their interpretation during cytological screening investigation have been made [8].

The criteria of validity of cytological methods are based on the results of the scheduled histological investigation. The validity of cytological diagnostics of cervical pathology is up to 75%-90% [1]. About 3%-24% of the total numbers of investigations (depending on the localization and the way of acquiring the specimen) are unsuccessful due to inadequate, non-informative acquired material [1, 7].

Modern cytological conclusion not only verifies the presence of cancer, but also specifies that histological type of tumor and stage of differentiation according to common inter-

în 1991 și 2001 [11]. Clasificarea TBS se centrează pe descrierea leziunilor scuamoase intraepiteliale de grad scăzut (l. engl. *low grade squamous intraepithelial lesion*, LSIL), de grad înalt (respectiv, HSIL) și cancer invaziv. LSIL include modificările asociate cu infecția cu virusul papilomului uman și displazia ușoară (CIN I); HSIL include CIN II, CIN III și carcinomul *in situ*.

Conform criteriilor OMS, displazia de gradul I corespunde cu CIN I; displazia de gradul II – cu CIN II; displazia de gradul III și carcinom *in situ* – cu CIN III. Hiperplazia glandulară atipică cu atipie ușoară corespunde cu CIN I al epitelului glandular; hiperplazia glandulară atipică cu atipie moderată – cu CIN II, iar hiperplazia glandulară atipică cu atipie semnificativă – cu CIN III al epitelului glandular.

De multe ori, apar probleme de diagnostic citologic al leziunilor epiteliale, care includ leziuni reactive și neoplazii, fapt ce a condus la introducerea termenului de „celule scuamoase atipice, cu semnificație nedeterminată” (l. engl. *atypical squamous cells of undetermined significance*) – ASCUS, în clasificarea TBS.

Astfel, scopul acestei lucrări a fost de a compara între ele metodele citomorfologică și patohistologică de diagnostic al leziunilor-precursor și a cancerului de col uterin, de a estima capacitatea descriptivă a diferitor tehnici de colorare a probelor citomorfologice.

### Material și metode

În studiu au intrat toate pacientele (n=960), care în perioada ianuarie 2013 – noiembrie 2014 au fost îndreptate cu diagnosticul sau diagnosticate cu patologii de col uterin în Centrul de Medicină Reconstructivă și Reabilitare (cu statut de Clinică Universitară) a Universității Naționale de Medicină din Odessa. Vârsta pacientelor a fost cuprinsă între 17-67 de ani. Pe lângă examenul clinic, a fost efectuată colposcopia și examenul citomorfologic. O serie de frotiuri au fost pregătite standard, colorare Papanicolau. O altă serie de frotiuri obișnuite au fost colorate după Romanovski (tehnică Pappenheim modificată); toate au fost examinate în conformitate cu practica citologică standard, printr-un studiu orb, în scopul stabilirii diagnosticului citologic.

Ulterior, conform indicațiilor medicale, a fost efectuată biopsia de col uterin sau conizarea electrică, cu cercetarea patohistologică ulterioară a probelor.

În total, s-au selectat 124 de cazuri de pacienți cu frotiuri cervicale satisfăcătoare (în termeni de estimare) și diagnostic histologic verificat, pentru cercetare ulterioară.

Drept metodă de referință a fost luat examenul histologic al probelor colectate din colul uterin prin biopsie sau după conizare electrică; aceste probe au fost fixate în formalină tamponată de 10%, prelucrate și studiate conform practicii histopatologice standard.

Diagnosticul morfologic (cel citologic și cel histopatologic) s-a efectuat în mod orb, pentru a evita *bias*-ul produs de diagnosticul „propus”. Diagnosticul citomorfologic a fost efectuat conform sistemului Bethesda și clasificării Papanicolau. Pacientele cu LSIL și leziunile cu semne de infecție cu virusul papilomului uman (CIN I), HSIL (CIN II), carcinomul *in situ* (CIN III) și cu cancer invaziv au format grupuri separate.

national classifications (ICD-O and WHO). Morphologists use Papanicolau classification and international pathologic classification developed in 1988 in Bethesda (USA) – TBS, with the changes introduced in 1991, 2001, in their practice [11]. The TBS classification single out squamous intraepithelial lesions of low (LSIL) and high (HSIL) stages and invasive cancer. LSIL includes the changes associated with human papilloma virus infection and weak dysplasia (CIN I); HSIL includes CIN II, CIN III, carcinoma *in situ*.

According to WHO criteria, dysplasia of I stage corresponds with CIN I; dysplasia of II stage – CIN II; dysplasia of III stage and carcinoma *in situ* – CIN III. Atypical glandular hyperplasia with weak atypia corresponds with CIN I of glandular epithelium, atypical glandular hyperplasia with moderate atypia – with CIN II of glandular epithelium, atypical glandular hyperplasia with significant atypia – with CIN III of glandular epithelium.

Often problems occur in cytological diagnostics of epithelial lesions, which are connected with reactive changes and neoplasia, which led to introduction of the term “atypical squamous cells of undetermined significance – ASCUS” into TBS classification.

Thus, the goal of this work was to perform the comparison of cytomorphological and pathohistological methods of diagnostics of pre-cancer and cancer pathology of uterine cervix, estimation of self-descriptiveness of various types of staining of cytomorphological specimens.

### Material and methods

The study included 960 patients that, during the period from January of 2013 to November of 2014, addressed or were referred to the cervical pathology consulting room of the Center for Reconstructive and Rehabilitation Medicine (University Clinic) of the Odessa National Medical University. The patients were aged from 17 to 67 years. The complex of diagnostic measures included obligatory colposcopy and cytomorphological investigation, besides clinical examination. The smears were prepared using standard technique and stained after Papanicolau. Traditional smears were also stained after Romanovski (modified Pappenheim’s technique) and examined according to standard cytological practice, through a blind study in order to establish the histological diagnosis.

Afterwards, by medical indications, target biopsy of uterine cervix or electric conization with consequent pathohistological examination of the uterine cervix material was performed.

In total, 124 cases of patients with satisfactory (in terms of estimation) cervical smears and verified histological diagnosis were picked for consequent investigation.

Histological investigation of the material of uterine cervix that was acquired by target biopsy and electric conization was picked as the referential method and used in all cases. The acquired material was fixed in 10% buffered formalin, processed and studied according to standard histopathological practice.

Morphological diagnoses (cytological and histopathological) were established using a blind study, to avoid mistakes of “bias towards suggested diagnosis”. Interpretation of cytomorphological diagnoses was performed according to Bethes-

Diagnosticul citologic definitiv a fost comparat cu diagnosticul histopatologic.

### Rezultate

Cel mai important prag de sensibilitate al metodei citologice de diagnostic al leziunilor scuamoase intraepiteliale, în general și, în particular, al HSIL, este considerată prezența oricăror semne de atipie scuamoasă, atât timp cât sub masca ASCUS se pot ascunde LSIL și, în special, HSIL [7].

Interpretarea imaginii citologice a început cu estimarea calității frotiului. Frotiuri „nesatisfăcătoare pentru evaluare” au fost obținute în 3,6% din cazuri; restul de 96,4% au fost examinate. Motivul de obținere a frotiurilor neinformativă a fost fie contaminarea cu elemente inflamatorii sau sânge, fie – cu grăsime și surplus de celule. Frotiurile singulare au fost considerate necorespunzătoare din cauza unei cantități insuficiente de celule în eșantionul de analiză (absența epiteliului cilindric în toate cele 17 cazuri, dintre care 16 cazuri au provenit de la pacienți cu vârsta de peste 50 de ani, posibil din cauza deplasării zonei de transformare în sus, în canalul cervical.

Rezultatele diagnosticului de pe frotiurile cervicale cu colorație Papanicolau au fost comparate cu cele colorate prin metoda Romanovski. S-a constatat că sensibilitatea colorației Papanicolau este cu 3,1% mai mare la scara tuturor patologiilor cervicale, iar în grupul CIN I (leziunile cu semne de infecție cu virusul papilomului uman) – cu 5,5% ( $p > 0,05$ ).

Un supra-diagnostic a fost prezent doar într-un singur caz (0,8% din materialul de cercetare), atunci când o neoplazie de epiteliu cilindric de gradul III a fost suspectată pe fundalul inflamației cronice a endometriozei colului uterin. Totuși, de atunci, pacienta este reexaminată la fiecare 6 luni.

Rezultatele identice a examenului citologic cu cel histologic au fost obținute la 111 (89,5%) paciente, divergențe – în 13 (10,5%) cazuri, fals-negative – în 7 (5,6%) cazuri și în 4 (3,2%) cazuri – rezultate fals-pozitive. Frecvența medie a rezultatelor fals-negative în studii similare, descrise în literatură, a fost de 7,5%.

Retrospectiv, motivul de divergență în diagnostic a fost: în 5 cazuri din cele 7 fals-negative a fost fenomenul Koss de „caracter înșelător de frotiu repetat” [6]. Fenomenul Koss se întâlnește în practica cotidiană destul de frecvent (de ex., în frotiuri repetate, luate după mai puțin de 3 luni de la primul frotiu, deseori se identifică un grad mai scăzut de atipii a epiteliului, sau chiar lipsa atipiei, comparativ cu prima investigație). Explicația este că pacienta cu patologie de col uterin este mai întâi îndreptată spre clinica prenatală, apoi – la cabinetul de patologie a colului uterin sau la un oncolog. În unele cazuri, pacientele decid de sine stătător să apeleze la o altă instituție medicală, pentru a avea o „a doua opinie”. Prin urmare, într-o perioadă scurtă de timp, procedura de obținere a mostrelor pentru investigație de la o femeie, poate fi efectuată de mai multe ori.

În trei cazuri de diagnostic patomorfologic fals-negativ, examenul patohistologic al biopsiei conice a explicat motivul de divergență (Fig. 1).

În examenul citomorfologic negativ, atunci când există date

da system and Papanicolau classification. Squamous low stage intraepithelial lesions included signs of human papilloma virus infection and CIN I; squamous high stage intraepithelial lesions – CIN II and CIN III; patients with invasive cancer formed separate groups.

Final cytological diagnoses were compared with histopathological diagnoses.

### Results

The most important threshold of sensitivity of cytological method for diagnostics of squamous intraepithelial lesions in general and specifically high stage lesions is usually considered to be the presence of signs of any squamous atypia in the smears, since the “mask” of “atypical squamous cells of undetermined significance” diagnosis may hide both low stage and, what’s especially important, high stage intraepithelial lesions [7].

The interpretation of cytological picture started with estimation of quality and adequacy of the smear. “Unsatisfactory for estimation” smears were acquired in 3.6%. In 96.4% of all cases cytological specimen were adequate. The reasons of non-informative smears were contamination with inflammatory elements, blood, or fat smear with surplus amount of cells in the specimen. Singular smears were considered inadequate because of insufficient amount of cells in the specimen for analysis (absence of cylindrical epithelium – all 17 cases, 16 of them were patients after 50 years of age, with possible shifting of the transformation zone higher into cervical channel.

Staining of cervical smears after Papanicolau was estimated in comparison with Romanovski method. The estimation showed that staining after Papanicolau increases the effectiveness of cytological investigation: sensitivity in the diagnostics of all the cervical pathology increased by 3.1%, and in the group of CIN I with signs of human papilloma virus infection by 5.5% ( $p > 0.05$ ).

Hyperdiagnostics was present in one case (0.8% of the material investigated during our study), when neoplasia of cylindrical epithelium of III<sup>rd</sup> grade was suspected on background of chronic inflammation and endometriosis of uterine cervix. However, the patient is observed dynamically every 6 months.

Concurrent results of cytological and histological investigations were found in 111 (89.5%) patients, divergence was found in 13 (10.5%) cases; 7 false-negative (5.6%) (the average index according to literature is 7.5%) and 4 (3.2%) false-positive results were attested.

Retrospectively, in 5 out of 7 false-negative cases the reason of divergent diagnoses was the Koss phenomenon of “de-lusiveness of repeated smear” [6]. The Koss phenomenon is found in casual practice frequently (in repeated smears that were taken after less than 3 months after the first smear quite often lesser stage of atypia of the epithelium, or no atypia at all, is found in comparison with the first investigation). This is explained by the fact that the patient with uterine cervical pathology is first directed to antenatal clinic, then to the cervical pathology consulting room or to the oncologist. In some cases, the patients decide to address another medical institution in order to have a “second opinion”. Therefore, during a short

precedente de modificări neoplazice, este posibil de a examina repetat speci­me­nele citomorfo­logice, colectate anterior.

### Discuții

O problemă majoră a citologiei este diagnosticul diferențiat al diferitor stadii de modificări displazice și a cancerului intraepitelial. În eșantionul nostru de paciente, în urma examenului citomorfo­logic, la 4 dintre ele a fost suspectat un cancer, confirmat, ulterior, la 3 persoane. În 5 cazuri, examenul patohistologic a schimbat diagnosticul citomorfo­logic din displazie de grad înalt în carcinom *in situ*, dar, care în plan de tratament, nu a produs schimbări. Cu toate acestea, deocamdată nu există criteriile citologice exacte pentru un diagnostic diferențiat al acestor patologii.

Modificările reactive ale epiteliului (în special, tablou inflamator sau țesut în fază de regenerare) de asemenea, pot induce erori de diagnostic citologic. CCU rareori se dezvoltă pe fundalul epiteliului nemodificat. Conform datelor lui Sumenco V. (2007), leziunile de fond constituie 10%-15% din structura bolilor ginecologice la femeile de vârstă reproductivă [3]. Până la 94% din toate cazurile de tumori de col uterin sunt consecința modificărilor patologice preexistente ale epiteliului cervical.

În probele citologice și histologice examinate cu modificări CIN I-III, au fost constatate koilocite în 59 (47,6%) din cazuri, tablou inflamator cronic – în 51 (41,1%) din cazuri. La pacientele cu patologie de fundal manifestă, între diagnosticul citomorfo­logic și cel patohistologic au fost documentate 11 (18,6%) cazuri de divergență, majoritatea dintre care au fost din rândul CIN I-II, iar investigațiile patohistologice au avut o tendință de subestimare a gradului de modificări patologice. De exemplu, investigația patohistologică a identificat doar koilocitoza și tabloul inflamator asociat, nu și modificările CIN I din probele care aveau, pe lângă modificări patologice, și fond inflamator. Toate cele 5 cazuri de diagnostic citomorfo­logic de displazie de grad II al epiteliului pe fond patologic preexistent, au fost evaluate ca și CIN I în cadrul examenului patohistologic.

### Concluzii

Testul Papanicolau, comparativ cu colorația Romanovski, are o sensibilitate sporită în depistarea modificărilor asociate cu infecția cu virusul papilomului uman și a stadiilor de manifestare a discariozei (81,2% vs. 78,1%, respectiv).

În cazul cervicitei cronice manifeste și a koilocitozei, exa-



**Fig. 1** Modificări displazice în epiteliul scuamos metaplastic al glandelor epidermizate (săgeata roșie); microfocalizare pe epiteliul displazic tegumentar (săgeata neagră). Colorație: hematoxilină și eozină (×100)

**Fig. 1** Dysplastic changes in the metaplastic squamous epithelium of epidermized glands (red arrow), micro focus on dysplastic integumentary epithelium (black arrow). Stained with hematoxylin and eosine (×100)

period of time the procedure of taking the specimens from the woman for the cytological investigation is performed several times.

In three cases of false-negative pathomorphological result, the pathohistological investigation of cone biopsy explained the reason of divergence of diagnoses (Fig. 1).

In negative cytomorphological investigation, and if there are data of previous neoplastic changes, it is possible to review the previous cytomorphological specimens.

### Discussion

A big problem of cytology is the differential diagnostics of various stages of dysplastic changes and intraepithelial cancer. During our study, cancer

was suspected in 4 cases based on cytomorphological investigation data, and in 3 cases it was proven. In 5 cases pathohistological investigation changed the diagnosis of cytological investigation of high stage dysplasia into *in situ* cancer, which did not affect the amount of planned treatment. However, even today there are no developed cytological criteria of differential diagnostics for this pathology.

The reactive changes of epithelium (especially in significant inflammation, regeneration) also are the cause of inadequate cytological diagnostics. CUC rarely develops on background of unchanged epithelium. According to Sumenco V. (2007) background lesions take 10%-15% in the structure of gynecological diseases of women of reproductive age [3]. Up to 94% of all cases of tumor are preceded by various pathological changes of cervical epithelium (background diseases).

In the investigated cases of CIN I-III, both in cytological smears and histological specimen, koilocytes were found in 59 (47.6%) cases, cellular elements of chronic inflammation – in 51 (41.1%) cases. Between the cytomorphological and pathohistological diagnoses in significant background pathology 11 (18.6%) cases of divergence were documented, all of which were connected with CIN I-II, and pathohistologic investigation resulted in “lowered” stage of neoplasia. For example, in CIN I and koilocytosis on background of chronic inflammation pathohistological investigation resulted in proving only koilocytosis with inflammation. All 5 cases of cytomorphological diagnosis of dysplasia of epithelium of II<sup>nd</sup> stage on background of stated pathology were estimated as CIN I in pathohistological investigation.

### Conclusions

In order to improve the positive detection of signs of human papilloma virus infection and stage of manifestation of

menul citomorfologic arată un stadiu inferior de displazie tisulară, decât este în realitate.

Rezultatele fals-negative ale examenului patomorfologic, în cadrul instituțiilor de nivel III, ar putea fi identificate prin examinarea repetată a probelor citomorfologice, colectate în trecut.

### Abrevieri și notații convenționale

ASCUS – celule scuamoase atipice cu semnificație nedeterminată; CIN – neoplazie cervicală intraepitelială; CCU – cancer de col uterin; HSIL – leziune intraepitelială scuamoasă de risc înalt; ICD-O – clasificarea internațională a maladiilor pentru oncologie; LSIL – leziuni scuamoase intraepiteliale de grad redus; TBS – sistemul Bethesda; CU – col uterin; OMS – Organizația Mondială a Sănătății.

### Contribuția autorilor

OL a conceput studiul, a efectuat prelucrarea probelor și analiza comparativă a diferitelor metode de examinare. LR a efectuat examenul histologic de specimene. Manuscrisul final a fost citit și aprobat de către ambii autori.

### Declarația de conflict de interese

Autorii declară lipsa conflictului de interese.

### Referințe / references

1. Глухова Ю. К. Сравнительная цитологическая и гистологическая диагностика новообразований шейки матки. Диссертационная работа. М., 2004; 119 с.
2. Parkin D., Bray F., Ferlay J., Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin*, 2005; 55: 74-108.
3. Суменко В. В. Цитологічна діагностика і прогнозування малігнізації епітелію шийки матки у вагітних. *Морфологія*, 2007; 1(2): 75-81.
4. Boardman L., Goldman D., Cooper A. et al. CIN in pregnancy: antepartum and postpartum cytology and histology. *J Reprod Med*, 2005; 50(1): 13-8.
5. Родионова О. М. Цитологический скрининг рака шейки матки. Автореферат диссертации. Владивосток, 2007; 139 с.
6. Бохман Я. В. Руководство по онкогинекологии. Л.: Медицина, 1989, 464 с.
7. Скрининговый этап диагностики онкологических заболева-

dyskaryosis it is recommended to stain the smears after Papanicolau (sensitivity using Papanicolau staining is 81.2%; sensitivity using Romanovski staining is 78.1%).

In cases of significant chronic cervicitis and koilocytosis the cytomorphological picture usually “anticipates” the stage of histological dysplasia.

False negative results of pathomorphological investigation on III<sup>rd</sup> stage of medical help can possibly be leveled by reviewing cytomorphological preparations from previous stages.

### Abbreviations

ASCUS – Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance; CIN – Cervical Intraepithelial Neoplasia; CUC – Cancer of Uterine Cervix; HSIL – High-grade Squamous Intraepithelial Lesion; ICD-O – International Classification of Diseases – Oncology; LSIL – Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion; TBS – The Bethesda System; UC – Uterine Cervix; WHO – World Health Organization.

### Author's contributions

OL conceived the study, performed the processing of specimens and comparative analysis of different methods of examination. LR performed the histological examination of specimen. Final manuscript was read and approved by both authors.

### Declaration of conflicting interests

Nothing to declare.

ний женской половой сферы. Анализ результатов цитологического скрининга 2004-2008 гг. *Заместитель главного врача*, 2009; 7: 92-110.

8. Чепурная Ю. Ю. Клиническое значение жидкостной цитологии в диагностике заболеваний шейки матки. Диссертационная работа. М., 2004; 161 с.
9. Сельков С. А., Рищук С. В., Костючек Д. Ф., Веденева Г. Н. Ранняя диагностика и лечение предраковых состояний шейки матки. *Акушерство и гинекология*, 2005; 3: 17-20.
10. Минкина Г. Н., Минкина О. В., Чепурная Ю. Ю., Поросова Е. Н. Сравнительная эффективность традиционной цитологии и кольпоскопии в скрининге заболеваний шейки матки. Материалы VI Российского форума «Мать и дитя», 12-15 октября 2004. Москва, 2004. с. 420.
11. Solomon D., Nayar R. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. Second edition. *NY Springer-Verlag Telos*, 2004; 191 p.