

2014

*Rete Oncologica Piemonte e Valle D'Aosta*

# ANATOMIA PATOLOGICA DEL TUMORE DELLA CERVICE UTERINA

*A cura del gruppo di studio Tumori Ginecologici:*

Aroasio Emiliano	Ballario Paola
Barbero Maggiorino	Beldì Debora
Bellotti Giovanna Paola	Bombaci Sebastiano
Buosi Roberta	Camanni Marco
Carnino Flavio	Chiappa Andrea
Destefanis Marinella	Di Costanzo Gianna
Enria Raffaella	Ferrero Annamaria
Franchini Loredana	Ghione Nicola
Ghiringhello Bruno	Iskra Liliana
Jura Roberto	Marenco Davide
Martra Francesca	Melano Antonella
Menato Guido	Pontiglio Enrica
Ponzone Riccardo	Prestipino Josephine
Puppo Andrea	Ravarino Nicoletta
Rigault Irene	Tessa Maria
Trifoglio Oria	Scapoli Paola
Sirotovà Zuzana	Urgesi Alessandro
Vendola Nicoletta	Vigone Alessandro
Viora Elsa	Volpi Eugenio Oreste
Zavallone Laura	

*Coordinatore Prof. Paolo ZOLA*

## 1. INTRODUZIONE

L'istologia fornisce la diagnosi finale sulla base della quale pianificare il trattamento e rappresenta il gold standard per il controllo di qualità in citologia e colposcopia. L'esame istologico è richiesto per diagnosticare il grado di atipia in donne con persistenti atipie citologiche di basso grado, includendo lesioni da HPV ( allegato 1) (1-20), come quelle di alto grado (21-22).L'accuratezza della diagnosi istopatologica dipende dalla adeguatezza del campione prelevato ottenuto dalla colposcopia direttamente con biopsie ( e curettage endocervicale se necessario) o escissione della zona di trasformazione o cono ,da un' appropriata descrizione macroscopica, processazione ed interpretazione microscopica .Il materiale sia esso biopsia , cono e reperto operatorio deve sempre essere corredato di notizie cliniche della paziente ; queste devono comprendere:

- Dati anamnestici rilevanti della paziente e la storia di screening cervicale ( se disponibile).
- Esame clinico: aspetto clinico della cervice.
- Referti istologici di precedenti biopsie e di esami radiologici.

E' fondamentale che il patologo abbia **appropriate notizie cliniche** ma anche il quadro colposcopico completo. L'esame colposcopico ha l'obiettivo di individuare le alterazioni della mucosa cervicale, di descriverne la topografia e di consentire una biopsia mirata delle lesioni. Per valutare meglio le lesioni è necessario che i colposcopisti indichino nel foglio di richiesta per l'Anatomia Patologica:

- la localizzazione della giunzione squamo colonnare
- la zona di trasformazione
- la topografia delle lesioni

Il referto dovrebbe sempre includere un disegno con indicata la zona della lesione e il sito della biopsia. Una refertazione unica e condivisa più permettere una migliore diagnosi istopatologica (Classificazione Colposcopica Internazionale IFCPC 2011 ( allegato 2) ( 23)

## 2. MATERIALI-PROCEDURE

### *A) Biopsia Cervicale mirata in corso di colposcopia*

Prelievo ottimale: frammento della lunghezza tra 2-4 mm (solo in casi particolari la biopsia può essere eseguita con ansa diatermica) e dovrebbe comprendere almeno 3-4 mm di chorion con una dimensione complessiva di almeno 5-6 mm. Ai fini diagnostici è importante la visualizzazione della giunzione squamo-colonnare (GSC). Nel caso in cui la GSC non sia visibile e quando vi siano divergenze tra una

colposcopia negativa e un PAP test positivo bisogna indagare attentamente il canale cervicale con un spazzolato endocervicale, curettage, endocervicoscopia. La letteratura evidenzia comunque che tutte le metodiche di studio del canale cervicale presentano una discreta percentuale di falsi negativi.

### Raccomandazioni

1. Non sezionare il frammento se dimensioni inferiori a 4 mm, se dimensione maggiore sezione trasversale perpendicolare alla superficie mucosa.
2. Necessario che tutto il materiale sia processato, anche minuti frammenti.
3. Ricerca accurata nel contenitore e sulla chiusura per evitare la perdita di frammenti.

### Descrizione

1. Numero di frustoli ricevuti, forma e colore.
2. Misurare se in aggregato.
3. Valutare la presenza o assenza di epitelio, irregolarità dell'epitelio, erosioni, ulcere.
4. Segnalare qualsiasi evidenza di cisti e tumori.

### Sezioni per istologia

Processare tutto il materiale tenendo separate le sedi (24, 25).

#### **B) Reperto Operatorio**

**Tipo intervento:** conizzazione a lama fredda, escissione con ansa LEEP, ampia escissione con ansa della zona di trasformazione (LLETZ) (cono /LEEP), intervento chirurgico di isteroannessiectomia.

- 1) **Conizzazione a lama fredda, escissione con ansa LEEP, ampia escissione con ansa della zona di trasformazione (LLETZ) (cono /LEEP):** la procedura viene effettuata prevalentemente per lesioni preinvasive, occasionalmente per forme microinvasive. Ha lo scopo di rimuovere tutto il tessuto neoplastico identificato in colposcopia includendo una parte endocervicale e la zona di trasformazione ed ha una valenza diagnostica e terapeutica. (21, 25). La conizzazione rappresenta l'intervento attualmente più eseguito, al tempo stesso diagnostico e terapeutico, sia per le lesioni squamose che ghiandolari.

Il materiale inviato può essere un cono oppure si tratta di frammenti (LEEP).

### Orientamento/campionamento del materiale

- **Conizzazione a lama fredda:** Il reperto chirurgico dovrebbe essere ricevuto intatto, a fresco con punto di reperi in corrispondenza a ore 12. Mercatura con china dei margini del cono con

## *Anatomia patologica del tumore della cervice uterina*

particolare attenzione al margine endocervicale. Possibilità di dissezione sono diverse, le 2 più utilizzate sono:

- Cono campionamento con sezioni sagittale e parasagittale parallele e perpendicolari all'asse trasverso dell'orifizio esterno iniziando da ore 3 o ore 9 ( se il cono è stato marcato ad ore 12) si conducono sezioni parallele in sequenza, ove le sezioni comprendano una porzione anteriore e posteriore queste devono essere identificate. Processazione di ogni sezione in biocassette separate e numerate in sequenza per una corretta valutazione tridimensionale della neoplasia ( allegato 3)

Questo tipo di campionamento facilita la misurazione del volume del tumore di piccole dimensioni e quando l'epitelio displastico insorge su un'area ristretta o in uno sfondato angolare. Non permette la diretta correlazione con il CIN o CGIN o della neoplasia sulla base della localizzazione specifica di quadrante.

Cono campionamento con sezioni radiali: il reperto chirurgico dovrebbe essere ricevuto intatto, a fresco con punto di reperi in corrispondenza a ore 12. Apertura del cono con lama nel canale cervicale, sezione in corrispondenza a ore 12; se privo di reperi apertura arbitraria. Sezioni sagittali dell'intera cervice, iniziando da ore 3 o ore 9 ,con spessore di 2-3 mm, parallele lungo l'asse endocervicale con verifica della presenza in ogni campione della giunzione squamocolumnare . Se necessario eliminare porzioni ridondanti di stroma. Modalità per chinare i margini: marcatura con nero di china dei margini avendo cura che il margine endocervicale sia ben inchiostroato. Modalità di Fissazione: mettere su supporto il cono così aperto con superficie mucosa verso l' alto. *Fissazione ottimale*: parecchie ore anche overnight . Processazione di ogni sezione in biocassette separate e numerate in sequenza per una corretta valutazione tridimensionale della neoplasia. Identificare le sezioni del labbro anteriore e posteriore (allegato 3).

Considerazioni: sebbene il metodo possa essere utile per localizzare la lesione in pratica ha una scarsa rilevanza dal punto di vista del trattamento.

**Escissione con ansa LEEP**: il numero di frammenti deve essere indicato, è frequente ricevere un secondo frammento di ampliamento. Marcatura dei margini con nero di china .

Tutti i frammenti devono essere misurati in 3 dimensioni ed interamente esaminati.

Compito del patologo è fornire le seguenti risposte (24, 25):

1. Tipo di escissione
2. Dimensione del prelievo
3. Diagnosi di lesione (intraepiteliale; invasiva; ghiandolare; squamosa)
4. Sede della lesione

5. Estensione lineare della lesione
6. Interessamento delle cripte ghiandolari
7. Stato dei margini di resezione
8. Presenza di embolizzazione vascolare- linfatica
9. Volume tumorale
10. Altre lesioni associate
11. Stadiazione TNM (27)

I punti da 1 – 8 e 11 sono mandatori. Gli altri parametri possono essere opzionali.

### **CHECK LIST PER LA VALUTAZIONE MACROSCOPICA E IL CAMPIONAMENTO**

#### ***1) Conizzazione - LEEP***

##### *Descrizione*

- Dimensioni ( diametri e spessore), aspetto del cono; cervice completa o frammentata
- Colore dell'epitelio: presenza di irregolarità, lacerazioni, cicatrici, masse ( diametro , forma e sede), cisti( contenuto), sedi di precedenti biopsie,
- Sede della neoplasia , quadranti interessati.

#### ***2) Trachelectomia, isterectomia radicale, eviscerazione pelvica.***

Materiale inviato: colpetto vaginale, utero, parametri, tube di Fallopio, ovaie; inoltre, nei casi di eviscerazione vagina, vescica, retto. I linfonodi solitamente sono inviati a parte e divisi per sedi.

##### ***Campionamento***

1. Se i linfonodi sono inclusi (isterectomia radicale) dissezione a fresco e separati per sedi.
2. Misurare e orientare il campione anteriore e posteriore
3. Amputare con lama la cervice a circa 2,5 cm dall'orifizio uterino esterno.
4. Aprire la cervice con forbici attraverso il canale cervicale ad ore 12
5. Fissarlo su supporto rigido con orientamento della superficie mucosa in alto per parecchie ore anche overnight.
6. Marcare con china il margine di resezione vaginale ed i parametri.

### *Anatomia patologica del tumore della cervice uterina*

7. Tagliare l'intera superficie con sezioni longitudinali parallele ogni 2-3 mm. Sezioni devono essere condotte in modo tale che il rivestimento epiteliale sia sempre presente.(incluso la giunzione squamocolumnare).
8. Misurare a fresco i parametri. Il volume ed estensione dipende dalla tipologia di intervento chirurgico.

#### ***Descrizione macroscopica***

1. Cervice: colore dell'epitelio, presenza di irregolarità, erosioni, cicatrici, pregresse biopsie, siti di conizzazione.
2. Utero, caratteristiche endometrio e miometrio eventuali formazioni
3. Ovaie e tube
4. Linfonodi se presenti, numero , aspetto macroscopico.

#### ***Campionamenti (allegato3)***

1. Cervice: esaminare tutto il tessuto e identificare il massimo punto di invasione e la relazione del tumore con i margini di resezione. Esaminare separatamente: margine vaginale, della cervice anteriore/plica vescicale, cervice posteriore/setto retto vaginale e margini parametriali e paracervicali.
2. Colletto vaginale: esaminare l'intera linea di resezione se il tumore è distante dal piano di exeresi; campionare con porzione di neoplasia se il colletto vaginale è corto.
3. Tessuti paracervicali e parametriali di destra e sinistra: l'interessamento macroscopico di tali tessuti deve essere valutato campionando il tumore in continuità con i tessuti interessati piuttosto che procedere alla rimozione degli stessi dal pezzo chirurgico. Inclusione in toto dopo marcatura con china per valutazione dei margini. Identificare il lato.
4. Utero: campionamenti standard, documentare eventuale estensione della neoplasia nel corpo dell'utero che deve essere riportato (anche se non modifica lo stadio).
5. Ovaie e salpingi (campionamenti standard).
6. Linfonodi se presenti: otturatori destri e sinistri, interiliaci, iliaci destri e sinistri. Riportare il numero per ogni sede, le dimensioni e il numero dei linfonodi interessati. Tutti i linfonodi devono essere campionati,quelli inferiori a 5 mm sezionati ed esaminati in toto. Linfonodi di grosse dimensioni possono richiedere più di una inclusione.

#### **C) DIAGNOSI ISTOLOGICA**

**1) DISPLASIA (di basso e alto grado; CIN I, II, III/Carcinoma in situ) DELLA MUCOSA DELLA CERVICE UTERINA E CARCINOMA MICROINVASIVO.**

Il referto istopatologico dei campioni bioptici e operatori nel campo della patologia della cervice uterina costituisce il punto essenziale delle procedure diagnostiche e terapeutiche di II livello. Deve confermare la diagnosi presunta delle procedure di primo livello (PAP test, colposcopia) e fornire tutti gli elementi utili alla stadiazione patologica delle neoplasie (biopsia, conizzazione, isterectomia).

Il referto deve comprendere:

- A. Le modalità di esame macroscopico e campionamento del materiale bioptico/operatorio cervicale.
- B. La formulazione della diagnosi finale, tenendo conto di tutti gli elementi necessari alla stadiazione patologica, alla luce delle indicazioni e raccomandazioni attuali del College of American Pathologist, del Royal College of Pathologist, del W.H.O. e delle Linee Guida Europee. Seguire la Classificazione WHO 2014. Evitare terminologie ambigue o semplicemente descrittive come la coilocitosi, l'atipia coilocitica, effetti citopatici virali. La diagnosi di Condiloma piano rientra nella stessa categoria di CIN1. Pur potendole descrivere nel referto devono essere accompagnate da una diagnosi. ( allegato 4) (22,24,25,27).
- C. E' necessario che sia stato precedentemente eseguito un corretto iter diagnostico citologico, colposcopico ed istologico volto a pianificare il trattamento più adeguato. E' necessario inoltre focalizzare il problema della CIN in gravidanza, eventualità sempre più frequente con l'aumentare dell'età media in cui la donna decide di avere figli e dato che la gravidanza non modifica la storia naturale della CIN e che talvolta si osserva la scomparsa della lesione nel puerperio.

Per tutte le lesioni CIN si raccomanda la citazione dello stato dei margini di resezione. Nel caso di neoplasia infiltrante e microinvasiva il patologo deve sempre specificare lo stadio patologico nel referto diagnostico.

- 2) MICROCARCINOMA :** con l'iniziale invasione stromale la neoplasia cervicale assume una potenzialità di diffusione sistemica. Rappresenta ormai il 20% di tutti i tumori cervicali invasivi ed colpisce donne relativamente giovani. La sua diagnosi è materia di controversie in termini di definizione, fattori prognostici, selezione del trattamento.

***Criteri diagnostici***

- Reazione desmoplastica nello stroma adiacente
- Offuscamento dell'interfaccia epitelio-stromale

### *Anatomia patologica del tumore della cervice uterina*

- Perdita di polarità dei nuclei al confine epitelio stromale con assenza del pattern a palizzata caratteristico del CIN
- Smerlatura dei margini dell'interfaccia dell'epitelio-stromale
- L'apparente ripiegamento o duplicazione dell'epitelio neoplastico
- Comparsa di pseudoghiandole (meno comune)

**L'adenocarcinoma minimamente invasivo** è un'entità controversa . Vengono in aiuto: la presenza di piccoli gettoni di cellule ipereosinofile, spesso di aspetto squamoide evocanti un CGIN di alto grado; estensione oltre le normali ghiandole endocervicali; la presenza di complessa architettura ghiandolare con obliterazione delle normali ghiandole endocervicali; una reazione stromale con edema, desmoplasia e infiltrato infiammatorio.

- L'identificazione dell'invasione precoce può essere più difficile da diagnosticare delle forme squamose. L'invasione precoce può presentarsi in varie forme

#### ***Fattori prognostici***

- Profondità di infiltrazione stromale: la valutazione della profondità di infiltrazione dovrebbe essere effettuata a partire dall'interfaccia epitelio-stromale più superficiale del processo intraepiteliale adiacente (allegato 5) E' il fattore prognostico più importante in quanto il progressivo incremento di tale indice comporta parallelamente un incremento degli spazi vascolari invasivi, delle metastasi linfonodali, delle recidive e della mortalità (interessamento linfonodale dello 0 – 0,4% con invasione fino a 1 mm; dell' 1% con 0,5% di recidive per invasione da 1 a 3 mm; del 7% con 2% di recidive per invasione da 3 a 5 mm)
- Invasione degli spazi linfovaskolari: consiste per definizione nella presenza di cellule tumorali all'interno di spazi delimitati da cellule endoteliali. E' un fattore prognostico più dibattuto sulla sua reale potenzialità nel predire il rischio di metastasi e di recidiva. Nello stadio IA1 nei casi con infiltrazione sino ad 1 mm sarebbe particolarmente rara , potrebbe essere espressione di particolare aggressività del tumore.

#### **TERMINOLOGIA LAST**

La terminologia istopatologica delle lesioni HPV associate del basso tratto genitale rimane disparata e complessa. L'uso di terminologie differenti per lesioni equivalenti diverse solo per sede anatomica ha creato la potenzialità di comunicazioni sbagliate tra patologi e clinici e quindi di trattamenti diversi per le stesse lesioni. Per rimediare a tutto questo un recente lavoro del 2012 “The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-associated Lesions. Background and



Consensus Recommendations From the College of American Pathologists (CAP) and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology (ASCCP)” ha cercato di:

- 1) ridurre la confusione terminologica riguardo l’insieme delle lesioni squamose del basso tratto ano-genitale associate all’infezione da HPV.
- 2) definire i marcatori disponibili.
- 3) creare una definizione chiara ed univoca, comune a tutte le lesioni HPV- associate, del tratto ano-genitale.

In citologia cervico-vaginale ed anale il problema è stato in gran parte risolto con l’introduzione del Sistema Bethesda (TBS 2001).

#### **Terminologia-revisione storica le lesioni preinvasive cervicali:**

Al 1901 risale l’introduzione del termine carcinoma di superficie o intraepiteliale e più tardi di carcinoma in situ (1932). Nel 1953 Reagan introdusse il concetto di displasia lieve, moderata e severa/carcinoma in situ e Richard nel 1967 quello della carcinogenesi cervicale come un continuum dal CIN I, CIN II, CIN III al carcinoma invasivo. Il sistema binario (LGSIL e HGSIL) risale agli inizi degli anni novanta. Nel 2001 e 2006 l’ASCCP Consensus Guidelines per la cervice confermò l’uso di quest’ultimo eccetto che in adolescenti e giovani donne.

#### **Terminologia-revisione storica le lesioni invasive precoci cervicali:**

Il carcinoma microinvasivo è una lesione prevalentemente intraepiteliale con un focus di cellule che invade sotto la membrana basale nello stroma superficiale. La sua definizione correlata alla profondità ed estensione è stata modificata varie volte nel corso degli anni.

Nel 1947 Mestwerdt diede la prima definizione di microcarcinoma: carcinoma con < 5 mm di profondità di invasione.

Tra il 1965 ed il 1981 la FIGO cambiò la definizione di stadio IA ben 6 volte con terapie consigliate variabili, dalla conizzazione all’isterectomia radicale con linfadenectomia pelvica.

Continua a esserci notevole variabilità interosservatore nella diagnosi della microinvasione (cut off diversi, diversi metodi di misurazione, etc ...).

#### **Lesioni squamose intraepiteliali**

- 1) Si raccomanda l’utilizzo di una nomenclatura unificata istopatologica per tutte le lesioni squamose pre invasive HPV - associate del tratto ano-genitale inferiore.

## *Anatomia patologica del tumore della cervice uterina*

2) Si raccomanda l'utilizzo di una nomenclatura in 2 gradi che può essere ulteriormente qualificata dalla adeguata terminologia - IN (CIN, VaIN, VIN, AIN, PAIN e PeIN).

- IN 1 = lesione di basso grado, autolimitantesi.

- IN 3 = lesione di alto grado, con il potenziale di progredire verso il carcinoma.

- IN 2 = categoria intermedia senza correlato biologico, non distinguibile con certezza sull'H&E, da non usare tranne che nelle CIN II in donne in età riproduttiva, dove si consiglia di utilizzare la terminologia in 2 gradi associata alla categoria CIN in parentesi.

3) La terminologia raccomandata è quindi LSIL/HSIL (che può essere ulteriormente classificata sulla base della categoria - IN più appropriata). Dato che la terminologia è quella utilizzata in citologia, si raccomanda di specificare sempre il tipo di campione in esame (citologico, istologico), sia in comunicazioni scritte, sia verbali.

### **Carcinoma di cellule squamose superficialmente invasivo (SISCCA superficially invasive squamous cell carcinoma).**

1) E' un carcinoma di cellule squamose minimamente invasivo, completamente esciso e curabile con la terapia chirurgica conservativa. L'invasione linfovaskolare ed il pattern di infiltrazione non fanno parte della definizione di SISCCA (ad eccezione del carcinoma del pene). Lo stato dei margini è definibile su cono o LEEP. Una punch biopsy può identificare un carcinoma invasivo, ma la loro misura è usualmente subottimale per identificare definitivamente un SISCCA.

2) Anche in presenza di margini positivi, il referto dovrebbe stabilire se: a) il tumore invasivo supera i limiti della diagnosi di SISCCA; b) il tumore è compreso nei limiti della diagnosi di SISCCA (esso è almeno un carcinoma squamoso superficialmente invasivo).

3) In caso di SISCCA il referto dovrebbe indicare: presenza o assenza di invasione vascolare (LVI) al di là del fronte di invasione; presenza, numero e dimensioni di carcinomi indipendenti multifocali, dopo aver escluso la possibilità di un carcinoma singolo.

Per la cervice attualmente vengono impiegati due principali sistemi classificativi per il carcinoma microinvasivo:

1) SGO (USA): invasione dello stroma =  $o < 3$  mm (dalla base dell'epitelio), in assenza di invasione linfo vascolare e con margini liberi; non considera l'ampiezza della lesione (CAP Procol – 2009: ampiezza massima di 7 mm).

2) FIGO (simile a AJCC): estensione alla cervice, non visibile macroscopicamente o clinicamente (ma può essere visibile alla colposcopia). Stadio IA: invasione stromale  $< o = 5$

mm (dalla base dell'epitelio) ed ampiezza  $< o = 7$  mm; nessun ruolo dell'invasione linfoc vascolare (stadio IA1  $< o = 3$  mm di invasione, stadio IA2  $> 3$  mm).

Le evidenze supportano che la classificazione migliore è quella FIGO e che il SISCCA corrisponde allo stadio FIGO IA1.

Il SISCCA della cervice è quindi un carcinoma squamoso invasivo, non visibile macroscopicamente con profondità di infiltrazione  $< o = 3$  mm dalla membrana basale del punto di origine e diffusione orizzontale  $< o = 7$  mm e margini liberi.

La presenza di displasia sui margini non esclude la diagnosi di SISCCA.

#### **D) MARCATORI DI PROGRESSIONE/ ruolo della p 16**

##### **Utilizzo della p16 nelle lesioni squamose intraepiteliali:**

- 1) Discriminare tra CIN (2 o 3) e lesione simil neoplastica (metaplasia squamosa immatura, atrofia, riparazione, taglio tangenziale).
- 2) Mancata correlazione cito-istologica.
- 3) Discriminare nei casi di CIN 2 tra una lesione di basso e alto grado;
- 4) Utilizzo nei casi di discordanza tra patologi nell'interpretazione del grado di displasia (CIN 2 o 3).

**La positività è definita come positività marcata nucleare e nucleare e citoplasmatica continua e coinvolgente almeno 1/3 dello spessore dell'epitelio.**

- 5) Non utilizzare la p16 nelle CIN I in quanto non ci sono prove che una CIN I p16 positiva richieda un trattamento diverso da un CIN I negativo.
- 6) Non usare p16 come strumento routinario su biopsie con diagnosi morfologica (sicura) negativa di CIN1 o di CIN 3.
- 7) Non va usata per discriminare tra CIN 1 e negativo. (29)

##### **Utilizzo della p16 nelle lesioni ghiandolari intraepiteliali:**

Utile nella distinzione tra lesioni benigne, quali la metaplasia tubo-endometriale, endometriosi ed iperplasia microghiandolare, e HGGIN. (30)

Utilizzo della p16 nelle lesioni invasive:

La quasi totalità dei carcinoma squamosi e gli adenocarcinomi più frequenti (tipo usuale, villoghiandolare, endometrioide) sono HPV alto rischio correlati e quindi p16 positivi, a meno che non

vi sia perdita genetica o inattivazione del locus p16. Tra i rari sono anche positivi il carcinoma adenosquamoso, l'adenoido cistico ed l'adenoido basale.

Il carcinoma mucinoso tipo gastrico è p16 negativo o focalmente positivo, mentre il tipo a cellule ad anello con castone è p16 negativo o positivo. Il mesonefrico è focalmente p16 positivo.

Il pattern di espressione della p16 può aiutare nella diagnosi differenziale, prevalentemente su materiale bioptico, tra adenocarcinoma endometriale versus endocervicale (forte e diffusa nel primo, focale nel secondo < 50 delle cellule). (31)

Comunque bisogna ricordare che la diffusa espressione di p16 può essere presente in neoplasie non HPV correlate.

### **E) REFERTAZIONE STANDARDIZZATA PER IL TUMORE SU BIOPSIA ESCISSORIALE E SU MATERIALE CHIRURGICO**

Il referto diagnostico deve comprendere in caso di biopsia escissionale ed isterectomia:

- Tipo di neoplasia
- Grado del neoplasia
- Dimensioni della neoplasia ( almeno 2 diametri)
- Stato dei margini
- presenza o assenza di invasione linfovaskolare

Reperti aggiuntivi in caso di isterectomia

- spessore minimo di stroma cervicale libero da neoplasia e posizione
- margine di resezione radiale più vicino alla neoplasia
- presenza o assenza di linfonodi e crescita extranodale
- interessamento di altri organi o tessuti

In caso di cono/ LEEP e biopsie ed isterectomia la presenza di neoplasia cervicale intraepiteliale deve essere riportata ed il grado CIN1,2,3. La neoplasia cervicale ghiandolare intraepiteliale deve essere segnalata e suddivisa in alto e basso grado. Dal momento che nella LEEP e nel cono nel caso di neoplasia non completamente escissa, includendo CIN o CGIN sui margini lo stadio FIGO non può essere applicato.

### **Tumore**

- In caso di cono/ LEEP e biopsie ed isterectomia la presenza di neoplasia cervicale intraepiteliale deve essere riportata ed il grado CIN1,2,3. La neoplasia cervicale ghiandolare

## *Anatomia patologica del tumore della cervice uterina*

intraepiteliale deve essere segnalata e suddivisa in alto e basso grado. In caso di LEEP e cono non è applicabile la stadiazione FIGO se la neoplasia non è stata completamente escissa, includendo la presenza CIN o CGIN sui margini.

- Tipo istologico ( classificazione sec. WHO 2014 , allegato 4)
- Grado istologico: è un fattore prognostico controverso (32). Questo riflette la varietà dei sistemi in uso. I sistemi che hanno dimostrato una maggiore correlazione con la prognosi sono quelli in cui multipli criteri sono considerati come quello di Stendahl ed il grado del fronte invasivo. Nel primo otto parametri morfologici del tumore, consistenti di 4 caratteristiche della popolazione di cellule tumorali (struttura, grado di differenziazione cellulare, pleomorfismo nucleare ed attività mitotica) e 4 caratteristiche della relazione tumore-ospite (modo di invasione, stadio di invasione, estensione dell'invasione vascolare, grado della risposta infiammatoria dell'ospite) vengono considerati (33). Nel secondo le caratteristiche morfologiche al fronte di invasione: grado di cheratinizzazione, pleomorfismo nucleare, pattern di invasione ed infiltrato linfocitario (34). Comunque il più usato universalmente è una modificazione del sistema originale di Broder consistente in tre gradi basati sulla quantità della cheratina, il grado di atipia nucleare e l'attività mitotica ((27). Esso si è rilevato utile soprattutto nel fornire una classificazione uniforme morfologica (35, 36). La maggior parte dei carcinomi squamosi sono moderatamente differenziati. Gli adenocarcinomi vengono graduati in tre gradi tenendo conto dell'architettura e dell'atipia nucleare (come il carcinoma endometriode) o solo dell'atipia nucleare (36, 37). La maggior parte degli adenocarcinomi son ben-moderatamente differenziati.
- Dimensioni della neoplasia (almeno 2 diametri vanno valutati, asse maggiore e minore).
- Invasione stromale la profondità di invasione deve essere misurata in tutti i casi (profondità di invasione, vedi allegato 5).
- Margini: documentare sempre lo spessore del tessuto libero da tumore, margine di resezione vaginale e radiale ( spessore minimo di stroma cervicale libero da neoplasia) e la distanza. Precisare se i margini esocervicale, endocervicale, profondo laterale e radiale di resezione sono interessati da CIN,CGIN o carcinoma invasivo.
- Invasione linfovaskolare
- Stadiazione TNM ( allegato 6) (28)

### **3. REGRESSIONE TUMORALE**

Effetti cito-istologici della radioterapia e chemioterapia nel carcinoma della cervice. I carcinomi localmente avanzati della cervice (soprattutto squamosi) necessitano di radio-chemioterapia combinata prima dell'intervento chirurgico. La sua funzione è quella di eliminare eventuali micrometastasi linfonodali e di ridurre la massa tumorale primitiva in modo tale da poter eseguire un intervento radicale. I risultati della terapia sono variabili: un quarto delle pazienti risponde in maniera completa dopo pochi cicli di chemioterapia, la metà ha una risposta parziale e le rimanenti non rispondono affatto nonostante la massiva dose somministrata a rischio di tossicità (38, 39) Gli effetti sono correlati alle dimensioni del tumore, allo stadio, al tipo istologico (maggiore resistenza dell'adenocarcinoma rispetto al carcinoma squamoso), alla sensibilità della lesione (numero di cellule neoplastiche uccise) (40), al ripopolamento tumorale. Il razionale della combinazione dipende dal fatto che l'indice proliferativo (Mib-1) delle cellule tumorali è aumentato (quindi i 2 hanno un effetto sinergico) ma il danno morfologico sul tumore non differisce da quello della sola radioterapia (41). Nonostante i progressi delle tecniche di immagine (RM, PET/CT) la diagnosi patologica rimane insostituibile nel determinare la risposta alla terapia e quindi la prognosi.

Istologicamente gli aspetti morfologici del cancro cervicale trattato con radioterapia e chemioterapia ricordano quelli del cancro in altri organi: necrosi tumorale, perdita dell'architettura con formazione di isole di cellule tumorali, discoesione cellulare e aumento della cheratinizzazione (formazione di perle cornee e cheratina acellulare). Compaiono macrofagi schiumosi e cellule giganti reattive e c'è un aumento dei linfociti e granulociti eosinofili attorno alle cellule tumorali residue. L'indice proliferativo è basso.

Gli effetti regressivi riguardano sia le cellule che lo stroma. E' aumentata la dimensione delle cellule, senza un aumento del rapporto nucleo citoplasma, e compaiono cellule neoplastiche sinciziali. I nuclei possono andare incontro ad ingrandimenti, vacuolizzazione, picnosi, carioressi, multinucleazioni; il citoplasma può essere eosinofilo o chiaro con aspetto vacuolato o schiumoso. Particolare attenzione è stata data al riconoscimento delle cellule tumorali vitali: si definiscono tali quelle che hanno distinta cromatina nucleare ed intatta membrana nucleare e citoplasmatica. Lo stroma è aumentato, prima lasso poi denso (fibrosi, collagenizzazione, ialinizzazione), con accumuli di colesterolo, depositi di emosiderina, presenza di macro e/o microcalcificazioni e neovascolarizzazione. Lo strato miointimale della parete dei vasi va incontro ad ispessimento e fibrosi con restringimento dei lumi (38, 39, 42, 43).

Nel complesso la differenziazione ed il grado del tumore peggiorano dopo terapia (42) o rimangono uguali ed in alcuni casi non valutabili, quindi è necessario graduarli prima del trattamento. (39)

Gli aspetti morfologici del tumore con residuo macroscopico sono gli stessi di quelli prima del trattamento con una quantità variabile di fibrosi ed infiammazione.

## *Anatomia patologica del tumore della cervice uterina*

In alcuni casi per differenziare le cellule giganti neoplastiche da quelle reattive è necessario ricorrere all'ausilio dell'immunoistochimica: citocheratine (CAM 2.5, AE1-AE3) e CD68. (39)

L'epitelio squamoso non neoplastico mostra acantosi e focale iperparacheratosi, in alcuni casi cervicite erosiva (effetto della radioterapia). L'epitelio ghiandolare non neoplastico può mostrare atipia nei tumori con regressione parziale e totale (diagnosi differenziale con l'iperplasia atipica ed il carcinoma in situ).

L'unico studio riguardo la graduazione degli effetti istopatologici della radioterapia nel cancro cervicale è quello di Shimosato (1970) (usato in estremo oriente):

- 0 Il danno delle cellule neoplastiche non è notato e i nidi neoplastici non sono stati distrutti.
- I Il danno delle cellule neoplastiche non è notato ma i nidi neoplastici non sono stati distrutti.
- II Il danno delle cellule neoplastiche è notato ed i nidi neoplastici sono stati distrutti.
  - II a Cellule neoplastiche vitali sono frequentemente osservate.
  - II b Cellule neoplastiche vitali sono poche.
- III Cellule neoplastiche non vitali\* sono presenti ma cellule neoplastiche vitali sono difficilmente osservate.
- IV Cellule neoplastiche né vitali né non vitali sono osservate.

\*cellule neoplastiche non vitali sono definite come quelle che dimostrano picnosi, carioressi, cariolisi, o nuclei bizzarri ed eccessivo rigonfiamento del citoplasma. (41)

Universalmente la risposta alla terapia viene classificata sec il TNM/AJCC usando la categoria R. Questa categoria non è incorporata nel TMN, comunque può essere riportata nel referto. Le categorie R sono:

- R0: nessun tumore residuo
- R1: tumore residuo microscopico
- R2: tumore residuo macroscopico
- RX: il tumore residuo non può essere determinato. (44)

Il pR0 risposta patologica completa: assenza di cellule neoplastiche residue che invadono lo stroma cervicale; le risposte possono mostrare SIL di alto e basso grado.

Il pR1 risposta patologica parziale: evidenza di singoli o multipli aggregati di cellule neoplastiche (diametro massimo  $\leq 0,3$  cm) che infiltrano lo stroma cervicale.

Il pR2 nessuna risposta patologica: evidenza di residuo macroscopico neoplastico (diametro minimo > 0,3 cm) che infiltra lo stroma cervicale.

La classificazione pR1 e pR2 indica persistenza di malattia.

## BIBLIOGRAFIA DI RIFERIMENTO:

- 1) Schiffman MH, Hildesheim A. Cervical Cancer. In: Schottenfeld D, Fraumeni JF editors. Cancer epidemiology and prevention. 3rd Oxford: Oxford University Press 2006; 1044-67.
- 2) De Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, Zur Hausen H (2004) Classification of papillomaviruses. Virology 324: 17–27
- 3) Longworth MS, Laimins LA. Pathogenesis of human papillomaviruses in differentiating epithelia. Microbiol Mol Biol Rev. 2004 Jun;68(2):362-72. Review
- 4) Münger K, Baldwin A, Edwards KM, Hayakawa H, Nguyen CL, Owens M, Grace M, Huh K. Mechanisms of human papillomavirus-induced oncogenesis. J Virol. 2004 Nov;78(21):11451-60. Review.
- 5) Bernard HU, Burk RD, Chen Z, van Doorslaer K, zur Hausen H, et al. (2010) Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. Virology 401: 70–79.
- 6) de Villiers EM (2013) Cross-roads in the classification of papillomaviruses. Virology, 445: 2–10
- 7) Muñoz N, Castellsagué X, de González AB, Gissmann L. HPV in the etiology of human cancer. Vaccine. 2006; 24:1-10.
- 8) Frazer IH. Prevention of cervical cancer through papillomavirus vaccination. Nature Reviews Immunology. 2004; 4:46-55
- 9) Kalantari M, Karlsen F, Kristensen G, Holm R, Hagmar B, Johansson B. Disruption of the E1 and E2 reading frames of HPV 16 in cervical carcinoma is associated with poor prognosis. Int J Gynecol Pathol. 1998; 17: 146-153.
- 10) Kalantari M, Blennow E, Hagmar B, Johansson B. Physical state of HPV16 and chromosomal mapping of the integrated form in cervical carcinomas. Diagn Mol Pathol. 2001; 10: 46-54.
- 11) Schwarz E, Freese UK, Gissmann L, Mayer W, Roggenbuck B, Stremlau A, zur Hausen H. Structure and transcription of human papillomavirus sequences in cervical carcinoma cells. Nature. 1985; 314: 111-114.



*Anatomia patologica del tumore della cervice uterina*

- 12) Ciaran B. J. Woodman, Stuart I. Collins & Lawrence S. Young. The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues. *Nature Reviews Cancer*. 2007; 7: 11-22.
- 13) Jiang M. Milner J. Selective silencing of viral gene E6 and E7 expression in HPV-positive human cervical carcinoma cells using small interfering RNAs. *Methods Mol. Biol.* 2005; 292: 401-420.
- 14) Hall AH, Alexander KA. RNA interference of human papillomavirus type 18 E6 and E7 induces senescence in HeLa cells. *J. Virol.* 2003; 77: 6066-6069.
- 15) Goodwin EC, Naeger LK, Breiding DE, Androphy EJ, DiMaio D. Transactivation-competent bovine papillomavirus E2 protein is specifically required for efficient repression of human papillomavirus oncogene expression and for acute growth inhibition of cervical carcinoma cell lines. *J. Virol.* 1998; 72:3925-3934.
- 16) Schiller JT, Day PM, Kines RC. Current understanding of the mechanism of HPV infection. *Gynecol Oncol.* 2010; 118:12-17.
- 17) zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nature Reviews Cancer* 2002; 2:342-350.
- 18) Richart RM, Barron BA (1967) The intrauterine device and cervical neoplasia. A prospective study of patients with cervical dysplasia. *Jama* 199:817-819
- 19) Stoler MH (2002) New Bethesda Terminology and Evidence-Based Management Guidelines for Cervical Cytology Findings, *Jam* 287;2140-2141
- 20) Broccolo F. *Carcinoma della cervice uterina*. Springer (2008)
- 21) Darragh et al. The Cap-Asccp Last Project (2012). *International Journal of Gynecological Pathology* 32:76–115
- 22) Arbyn M., Antilla A., Jordan J., Ronco G., Schenck U., Segan N., Wiener H.G., Herbert A., Daniel J., von Karsa L. (2008) European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening [2nd Edition]. International Agency for Cancer Research and EU, Health & Consumer protection Directorate-General.
- 23) European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening. Second edition-summary document. *Annals of Oncology* 21; 448-458,2010.
- 24) Bornstein, Jacob MD, MPA; Bentley, James MB, ChB; Bösze, Peter MD; Girardi, Frank MD; Haefner, Hope MD; Menton, Michael MD; Perrotta, Myriam MD; Prendiville, Walter MD; Russell, Peter MD; Sideri, Mario MD; Strander, Björn MD; Tatti, Silvio MD; Torne, Aureli MD; Walker, Patrick .2011 Colposcopic Terminology of the International Federation for

Cervical Pathology and Colposcopy. Obstetrics & Gynecology: July 2012 - Volume 120 - Issue 1 - p 166–172.

- 24) The Royal College of Pathology. Standards and datasets for reporting cancers. Dataset for histological reporting of cervical neoplasia ( 3° edition).April 2011.
- 25) College of American of Pathology CAP: Protocol for examination of specimens from patients with Carcinoma of the uterine cervix. December 2013
- 26) Allen D.C. Camerun R I: Histopathology specimen. Clinical pathological and laboratory aspects. Springer 2004
- 27) WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. 2014.
- 28) UICC TNM Classification of Malignant Tumours.7° ed. Wiley Blackwell 2009.
- 29) The lower anogenital squamous terminology standardization projet for HPV associated lesions: background and consensu recomendations from the College of American Pathologists and American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. T.M. Darragh, L.A. Fatheree e al. International Society of Gynecological Pathologists. 2012.
- 30) Endocervical glandular lesions: controversial aspects and ancillary techniques. W.G. Mc Cluggage. J Clin Pathol 2003; 56: 164-173.
- 31) p16 immunoreactivity may assist in the distinction between endometrial and endocervical adenocarcinoma. Mc Cluggage, D Jenkins. Int J Gynecol Pathol 2002 jul 22(3): 231-5.
- 32) The pathology of cervical tumors. Titman AJ. Best Pract Clinic Obstet Gynecol 2005; 19: 485-500.
- 33) Classification and grading of nvasive squamous cell caarcinoma of uterine cervix. U. Stendahl, H Willen H, R Willen. Acta Radial Oncol 18: 481, 1979.
- 34) Tumor size, depth of invasion, and grading of invasive tumor front are the main prognostic factors in early squamosu cell cervical carcinoma. Kristensen G.B, Abel VM ed al. Gynecol Oncol 1999.
- 35) Histologic cell type and DNA value in the prognosis of squamous cell cancer of uterine cervix. A.B.P. Ng e N.B. Atkin. Br J Cancer oct 1973; 28 (4): 322-331.
- 36) Barts Health NSH. Guidelines for reporting histopathology of cervical carcinoma. Naveena Singh.
- 37) Adenocarcinoma of uterine cervix: prognostic significance of clinopathologic parameters. M Nola, I Tomicic et al. Croat Med J 2005.

*Anatomia patologica del tumore della cervice uterina*

- 38) Accuracy of Papanicolaou smears in patients treated with radiochemotherapy followed by radical surgery. G.F. Zannoni, VG Vellone. Am J Clin Pathol 2008; 130: 787-794.
- 39) Morfological effects of radiochemotherapy on cervical carcinoma: a morfological study of 50 cases of hysterectomy specimens after neoadjuvant treatment. G.F. Zannoni, VG Vellone et al. In J Gynecological Oncology. 2008; 27: 274-281.
- 40) Prognostic factors for carcinoma of the uterine cervix treated with concurrent chemoradioterapy. Monoj Kumar Gupta, Swaroop Revannasiddaiah e al. Global Journal of Oncologist, 2013, 1, 50-70.
- 41) Histopathological radiation effect by radioterapy with or without cisplatino. Lin Kurnia, Tatsuya Ohno et al. Austral-Asian Jurnal of Cancer ISSN 0972-2556 Vol. 4. October 2005.
- 42) Histopatholgc changes following neoadiuvant chemotherapy in various malignancies. Divya Sethi, Rajeev e al. International Journal of Applied Basic Medical Research. 2012. Vol. 2. Issue 2, page 111-112.
- 43) Il sistema Bethesda per refertare la citologia cervicale. D. Solomon, R. Nayar. II Edizione. 2004.
- 44) AJCC Cancer Staging Manual Seventh Edition. 2010.