



**Hrvatsko društvo za  
kliničku citologiju**  
Hrvatski liječnički zbor

# **5. HRVATSKI KONGRES KLINIČKE CITOLOGIJE**

**2. HRVATSKI SIMPOZIJ ANALITIČKE CITOLOGIJE**

**3. HRVATSKI SIMPOZIJ CITOTEHNOLOGIJE**

s međunarodnim sudjelovanjem

OPATIJA, GRAND HOTEL 4 OPATIJSKA CVIJETA

21-23. travnja 2016.

## **KNJIGA SAŽETAKA / ABSTRACT BOOK**

**ORGANIZATORI**

Hrvatski liječnički zbor  
Hrvatsko društvo za kliničku citologiju  
Sekcija za analitičku citologiju  
Hrvatska udruga citotehnologa

[www.hkcc2016.com](http://www.hkcc2016.com)

POD  
POKROVITELJSTVOM:



**KBCRI**  
KUDČIĆ BOLNICKI CENTAR RIJEKA

ZLATNI  
SPONZORI:



SREBRNI  
SPONZORI:



# **5. HRVATSKI KONGRES KLINIČKE CITOLOGIJE 5<sup>th</sup> CROATIAN CONGRESS OF CLINICAL CYTOLOGY**

**2. HRVATSKI SIMPOZIJ ANALITIČKE CITOLOGIJE  
2<sup>nd</sup> CROATIAN SYMPOSIUM OF ANALYTICAL CYTOLOGY**

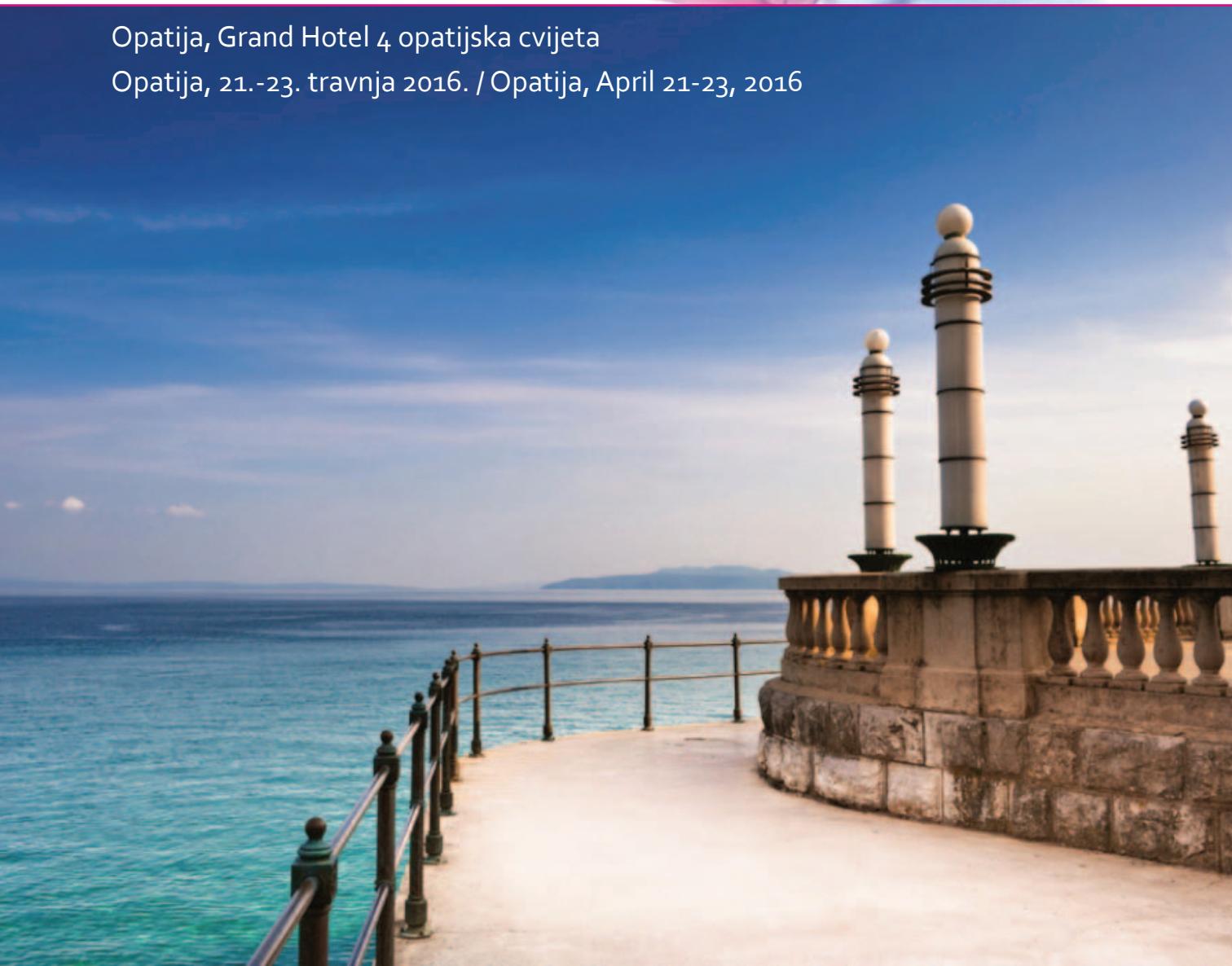
**3. HRVATSKI SIMPOZIJ CITOTEHNOLOGIJE  
3<sup>rd</sup> CROATIAN SYMPOSIUM OF CYTOTECHNOLOGY**

s međunarodnim sudjelovanjem / with international participation



Opatija, Grand Hotel 4 opatijska cvijeta

Opatija, 21.-23. travnja 2016. / Opatija, April 21-23, 2016



Poštovane kolegice i kolege, dragi prijatelji!

Izuzetno mi je zadovoljstvo pozvati vas u ime Hrvatskog društva za kliničku citologiju i Sekcije za analitičku citologiju Hrvatskog liječničkog zbora te Hrvatskog društva citotehnologa da dođete u Opatiju od 21. do 23. travnja 2016. Podijelit ćemo svoja iskustva u svakodnevnom radu, istraživanja i rezultate iz svih područja kliničke i analitičke citologije, očrtati budućnost citologije s primjenom novih, modernih tehnologija i molekularnih metoda. Posebnu pažnju posvetiti ćemo probiru za rak vrata maternice, a također ćemo predložiti ažuriranu klasifikaciju citoloških nalaza vrata maternice po uzoru na Bethesda 2014. Raspraviti ćemo primjenu uniformne nomenklature u citologiji urina, štitnjače, dojke i gušterića. Pozivamo sve kliničke citologe, specijaliste i specijalizante, imunologe, citogenetičare, molekularne biologe, citotehnologe, patologe, kliničare i sve zainteresirane za citologiju da nam se pridruže. Svi ste dobrodošli, iz Hrvatske i iz šire regije. Kongres je zamišljen kao cjelodnevno druženje svih učesnika, najprije u stručnom dijelu, a kasnije i tijekom društvenih događanja u potpunosti uključenih u kotizaciju.

Odvojite nekoliko dana, zamijenite svakodnevni naporan rad u laboratorijima i zavodima dolaskom na proljeće u Opatiju, gdje vas čekamo s mirisom mora, elegantnim šetnicama, parkovima i hotelima te smirujućom atmosferom, ali i s poticajnim i zanimljivim stručnim i znanstvenim programom.

Srdačno,

Danijela Vrdoljak-Mozetić

Dear colleagues, dear friends!

On behalf of the Croatian Society for Clinical Cytology and the Section for Analytical Cytology of the Croatian Medical Association and Croatian Society for Cytotechnology it is a great pleasure to invite you to Opatija from April 21 to 23, 2016. We will share our experience in everyday work, research and results from all areas of clinical and analytical cytology and try to delineate the future of cytology using new, modern technologies and molecular methods. Special attention will be given to cervical cancer screening and we will suggest an updated classification of cervical cytology based on Bethesda 2014. The application of a uniform terminology for reporting results of urine, thyroid, breast and pancreas cytology will be discussed. All clinical cytologists, specialists and residents, immunologists, cytogeneticists, molecular biologists, cytotechnologists, pathologists, clinicians and everyone interested in cytology is invited to join us. You are all welcome, from Croatia and its surrounding region. The congress is designed as an excellent opportunity for participants to meet and join together through daily activities, firstly in the professional part and later in the social events which are fully included in the registration fee.

Take a few days and replace your hard daily work in the laboratories with a trip to Opatija in spring. We are waiting for you with the scent of the sea, elegant promenades, parks, hotels and pleasant atmosphere, but also a stimulating and interesting scientific programme.

Sincerely,



Danijela Vrdoljak-Mozetić, MD, PhD



**Hrvatsko društvo za  
kliničku citologiju**  
Hrvatski liječnički zbor



## ORGANIZATORI / ORGANIZERS

Hrvatski liječnički zbor / Croatian Medical Association

Hrvatsko društvo za kliničku citologiju / Croatian Society for Clinical Cytology

Sekcija za analitičku citologiju / Section of Analytical Cytology

Hrvatska udruga citotehnologa / Croatian Society for Cytotechnology

## **POČASNA PREDSJEDNICA / HONORARY PRESIDENT**

Ika Kardum-Skelin

## **POČASNI ODBOR / HONORARY COMMITTEE**

Silvana Audy-Jurković, Anita Batinica-Grgurević, Dubravka Boban, Silva Boljkovac, Mara Dominis, Silva Ćurić-Jurić, Hrvoje Harambašić, Tatjana Jeren, Dubravka Kani, Gabrijela Kocjan, Marija Marinković, Mirjana Marković-Glamočak, Maja Mazzi-Maržić, Nadia Mišljenović, Melita Nakić, Ana Ovanin-Rakić, Marija Pajtler, Ivan Pongrac, Mihovil Roglić, Feti Selmani, Teodora Stanković, Đurđica Šips, Dunja Šušterčić, Adrijana Vince, Željka Znidarčić

### **Predsjednica / President**

Danijela Vrdoljak-Mozetič

### **Dopredsjednice / Vice presidents**

Irena Seili-Bekafigo, Gordana Kaić

### **Tajnica / Secretary**

Snježana Štemberger-Papić

### **Rizničarka / Treasurer**

Damjana Verša-Ostojić

---

## **ZNANSTVENI ODBOR / SCIENTIFIC COMMITTEE**

Koraljka Gjadrov-Kuveždić, Ika Kardum-Skelin, Ines Krivak-Bolanča, Vesna Mahovlić, Neven Mateša, Vesna Ramljak, Silvana Smojver-Ježek, Mirna Sučić, Tajana Štoos-Veić, Karmen Trutin-Ostović

## **ORGANIZACIJSKI ODBOR / ORGANIZING COMMITTEE**

Žana Besser-Silconi, Morana Dinter, Ljubica Fuštar-Preradović, Ana Ivanišin-Barać, Nives Ljubić, Branka Molnar-Stantić, Biljana Pauzar, Koraljka Rajković-Molek, Roberta Rubeša-Mihaljević, Lada Škopljanc-Maćina, Christophe Štemberger, Dinka Šundov, Ankica Vasilj

## **HRVATSKI SIMPOZIJ ANALITIČKE CITOLOGIJE / CROATIAN SYMPOSIUM OF ANALYTICAL CYTOLOGY**

### **Predsjednik / President**

Drago Batinić

### **Organizacijski odbor / Organizing committee**

Rajko Kušec, Ružica Lasan Trčić, Zoran Šiftar, Snježana Židovec Lepej

## **HRVATSKI SIMPOZIJ CITOTEHNOLOGIJE / CROATIAN SIMPOSIUM OF CYTO TECHNOLOGY**

### **Predsjednik / President**

Silvio Cuvaj

### **Organizacijski odbor / Organizing committee**

Veronika Anić, Silvia Canko, Suzana Harabajsa, Željka Kušen, Tina Markanjević, Robert Meandžija, Renato Rešetar, Katica Rubić

A blurry, out-of-focus microscopic image showing several cells. Some cells are stained blue, while others are stained red. The nuclei of the cells appear dark purple or black.

# ZNANSTVENI PROGRAM

---

# *SCIENTIFIC PROGRAMME*

**Četvrtak, 21. travnja 2016. / Thursday, April 21, 2016**

<b>8.30 – 9.00</b>	<b>OTVARANJE KONGRESA / CONGRESS OPENING</b>
<b>GINEKOLOŠKA CITOLOGIJA – PROBIR ZA RAK VRATA MATERNICE, KLASIFIKACIJE LEZIJA VRATA MATERNICE / GYNAECOLOGICAL CYTOLOGY – CERVICAL CANCER SCREENING, CLASSIFICATION OF THE CERVICAL LESIONS</b>	
<b>Predsjedavajući / Chairs:</b> Vesna Mahovlić, Alenka Repše-Fokter, Danijela Vrdoljak-Mozetič	
<b>9.00 – 9.20</b>	Cervical cancer screening program in Slovenia <b>Alenka Repše-Fokter</b>
<b>9.20 – 9.35</b>	Nacionalni program ranog otkrivanja raka vrata maternice. Zatvaramo li vrata budućnosti? / National cervical cancer screening programme. Are we closing the door to the future? <b>Dinka Nakić</b>
<b>9.35 – 9.50</b>	Papa test u programu ranog otkrivanja raka vrata maternice u Hrvatskoj / Pap test in cervical cancer screening in Croatia <b>Danijela Vrdoljak-Mozetič</b>
<b>9.50 – 10.05</b>	Novi pristup histološkoj klasifikaciji prekanceroza vrata maternice / New approach to the histological classification of cervical precancerous lesions <b>Marija Macan</b>

<b>PLENARNO PREDAVANJE</b>	
<b>10.05 – 10.35</b>	„The Bethesda System 2014 for reporting cervical cytology“ – novosti i primjena u Hrvatskoj / „The Bethesda System 2014 for reporting cervical cytology“ – news and implementation in Croatia <b>Vesna Mahovlić</b>
<b>10.35 – 10.45</b>	Rasprava / Discussion
<b>10.45 – 11.15</b>	Stanka za kavu / Coffee break

<b>GINEKOLOŠKA CITOLOGIJA – HPV TESTIRANJE I BIOMARKERI / GYNAECOLOGICAL CYTOLOGY – HPV TESTING AND BIOMARKERS</b>	
<b>Predsjedavajući / Chairs:</b> Ines Krivak Bolanča, Dinka Nakić, Damjana Verša Ostojić	
<b>11.15 – 11.45</b>	HPV testing in primary cervical screening <b>Matejka Rebolj</b>
<b>11.45 – 12.00</b>	Desetogodišnje iskustvo primjene HPV testa u citološkom laboratoriju Kliničkog bolničkog centra Rijeka / Ten years of cytology laboratory experience in HPV testing in Clinical Hospital Centre Rijeka <b>Damjana Verša Ostojić</b>
<b>12.00 – 12.15</b>	Citologija novog doba – uporaba biomarkera u dokazivanju lezija vrata maternice i njihova prognostička vrijednost / New age cytology – biomarkers implementation in cervical lesions analysis and their prognostic value <b>Ines Krivak Bolanča</b>
<b>12.15 – 12.30</b>	Vrijednost p16/Ki67 imunocitokemijskog biomarkera kod nalaza atipičnih glandularnih stanica vrata maternice/ Value of p16/Ki67 biomarker in assessment of atypical glandular cells of uterine cervix <b>Snježana Štemberger-Papić</b>

<b>12.30 – 12.45</b>	Uloga ginekološkog onkologa u multidisciplinarnom pristupu liječenju raka vrata maternice / <i>The role of gynaecologic oncologist in multidisciplinary approach to cervical cancer treatment</i> <b>Herman Haller</b>
<b>12.45 – 13.15</b>	Rasprava / Discussion
<b>13.15 – 14.30</b>	Stanka za ručak / Lunch break

<b>CITOLOGIJA ŠITINJAČE – ujednačavanje dijagnostičkog nazivlja citologije štitnjače / THYROID CYTOLOGY – unifying the terminology in thyroid cytology reporting</b>	
<b>Predsjedavajući / Chairs:</b> Neven Mateša, Koraljka Gjadrov Kuveždić, Biljana Pauzar	
<b>14.30 – 14.50</b>	Štitnjača – hrvatske smjernice u usporedbi s Bethesda kategorijama / <i>Thyroid – Croatian guidelines versus Bethesda categories</i> <b>Neven Mateša</b>
<b>14.50 – 15.10</b>	The grey zones in thyroid cytopathology <b>Philippe Vielh</b>
<b>15.10 – 15.25</b>	Preoperativna dijagnostika medularnog karcinoma štitnjače / <i>Preoperative diagnostics of thyroid medullary carcinoma.</i> <b>Sandra Kojić Katović</b>
<b>15.25 – 15.40</b>	SLIDE SEMINAR: Prikaz medularnih karcinoma štitnjače različitih citomorfoloških slika / <i>Cases of thyroid medullary carcinoma with different cytomorphologic appearances</i> <b>Jasenka Antulov</b>
<b>15.40 – 16.10</b>	Panel diskusija / <i>Pannel discussion:</i> Presjek citoloških dijagnoza bolesti štitnjače tijekom 2015., iskustva nekoliko centara u Hrvatskoj / <i>Cytology diagnoses of thyroid diseases in 2015, several Croatian centres experience</i> <b>Uvod / Introduction:</b> Koraljka Gjadrov-Kuveždić <b>Panelisti / Panelists:</b> Neven Mateša, Koraljka Gjadrov Kuveždić, Biljana Pauzar, Marina Piljić-Burazer, Tajana Štoos-Veić, Koraljka Rajković-Molek, Mia Šunjić Stakor
<b>16.10 – 16.30</b>	Rasprava i zaključci / Discussion and conclusions
<b>16.30 – 17.00</b>	Stanka za kavu / Coffee break

<b>PULMOLOŠKA CITOLOGIJA / PULMONARY CYTOLOGY</b>	
<b>Predsjedavajući / Chairs:</b> Silvana Smojver Ježek, Christophe Štemberger, Marina Piljić-Burazer	
<b>17.00 – 17.20</b>	Koliko je molekularna pulmološka citologija? / <i>How molecular is pulmonary cytology?</i> <b>Silvana Smojver Ježek</b>
<b>17.20 – 17.35</b>	Mjesto citologije u novoj WHO klasifikaciji tumora pluća – prikaz vlastitih rezultata / <i>Cytology within the new WHO classification of lung tumors – single center experience</i> <b>Christophe Štemberger</b>
<b>17.35 – 17.50</b>	Bronhoskopija u dijagnostici centralnih lezija pluća – suradnja kliničara i citologa / <i>Bronchoscopy in the diagnosis of centrally located pulmonary lesions – the team work of clinicians and cytologists</i> <b>Željko Kupanovac</b>
<b>17.50 – 18.00</b>	Pleuralni izljevi u dijagnostici malignih bolesti pluća / <i>Pleural effusions in the diagnosis of malignant lung diseases</i> <b>Zrinka Juroš</b>

<b>18.00 – 18.10</b>	Dijagnostika karcinoma pluća ne-malih stanica na citološkim uzorcima na odjelu za citologiju KBC Split / <i>Diagnosis of non-small cell lung cancers in cytology samples in Department of Cytology, Clinical Hospital Centre Split</i> <b>Marina Piljić-Burazer</b>
<b>18.10 – 18.30</b>	Rasprava / Discussion

**Četvrtak, 21. travnja 2016. / Thursday, April 21, 2016**

<b>CITOLOGIJA DJEČJE DOBI / PEDIATRIC CYTOLOGY</b>	
<b>Predsjedavajući / Chairs: Ika Kardum-Skelin, Ružica Lasan-Trčić, Biljana Jelić-Puškarić</b>	
<b>9.00 – 9.30</b>	Citomofologija solidnih tumora u pedijatrijskoj dobi / <i>Cytomorphology of the solid childhood tumours</i> <b>Ika Kardum-Skelin</b>
<b>9.30 – 9.45</b>	Složene citogenetske promjene u pedijatrijskom Burkittovom limfomu – prikaz slučaja / <i>Complex cytogenetics in pediatric Burkitt lymphoma: a case report</i> <b>Ružica Lasan</b>
<b>9.45 – 10.30</b>	SLIDE SEMINAR <b>Biljana Jelić-Puškarić, Ika Kardum-Skelin</b>
<b>10.45 – 11.15</b>	Stanka za kavu / <i>Coffee break</i>

<b>CITOLOGIJA GLAVE I VRATA / HEAD AND NECK CYTOLOGY</b>	
<b>Predsjedavajući / Chairs: Karmen Trutin Ostović, Ljubica Fuštar Preradović, Ankica Vasilj</b>	
<b>11.15 – 11.35</b>	Vrijednost citološke dijagnostike u preoperativnoj obradi pacijenata s bolestima paratiroidnih žljezda / <i>The value of cytology in preoperative diagnostic workup of parathyroid glands diseases</i> <b>Davorin Đanić</b>
<b>11.35 – 11.55</b>	Izazovi i ograničenja u citološkoj dijagnostici patoloških promjena glave i vrata / <i>Challenges and limitations in cytological diagnosis of the head and neck lesions</i> <b>Ljubica Fuštar Preradović</b>
<b>11.55 – 12.15</b>	Pregled citoloških dijagnoza limfnih čvorova glave i vrata – deset godišnje iskustvo u jednoj ustanovi / <i>Review of cytological diagnosis of the head and neck lymph nodes in a 10 year period – single center experience</i> <b>Ankica Vasilj</b>
<b>12.15 – 12.35</b>	Važnost timskog rada citologa i kirurga u dijagnosticiranju intraoralnih lezija / <i>The importance of team work of cytologist and surgeon in diagnosing intraoral lesions</i> <b>Karmen Trutin Ostović</b>
<b>12.35 – 12.45</b>	Mukoepidermoidni karcinom malih žljezda slinovnica pogrešno dijagnosticiran kao odontogenična upala / <i>Mucoepidermoid cancer of small salivary glands missdiagnosed as odontogenic inflammation</i> <b>Petar Đanić</b>
<b>12.45 – 13.15</b>	Rasprava / Discussion
<b>13.15 – 14.30</b>	Stanka za ručak / <i>Lunch break</i>

GINEKOLOŠKA CITOLOGIJA – CITOLOGIJA VULVE, ANALNA CITOLOGIJA, CITOLOGIJA ENDOMETRIJA / GYNAEOLOGICAL CYTOLOGY – VULVAR, ANAL, ENDOMETRIAL CYTOLOGY	
<b>Predsjedavajući / Chairs:</b> Snježana Štemberger-Papić, Lada Škopljanc-Maćina, Senija Eminović	
<b>14.30 – 14.45</b>	Neoplasia intraepithelialis vulvae simplex (VIN simplex) – kliničko-citološko-histološka korelacija/ <i>Simplex VIN – clinical/cytology/histology correlation</i> <b>Lada Škopljanc-Maćina</b>
<b>14.45 – 15.00</b>	Usporedba citologije stidnice kroz dva razdoblja / <i>Comparison of vulvar cytology in two periods</i> <b>Ana Barišić</b>
<b>15.00 – 15.10</b>	Nenovotvorinske promjene stidnice / <i>Non-neoplastic vulvar changes</i> <b>Suzana Katalenić Simon</b>
<b>15.10 – 15.20</b>	Početna iskustva u analnoj citologiji: uzorkovanje, obrada materijala i strukturiranje nalaza/ <i>Initial experience with anal cytology: sampling, processing and reporting</i> <b>Roberta Rubeša-Mihaljević</b>
<b>15.20 – 15.35</b>	Aspiracijska Pipelle biopsija endometrija / <i>Endometrial Pipelle biopsy</i> <b>Senija Eminović</b>
<b>15.35 – 15.50</b>	Nalaz i značenje endometralnih stanica u VCE obrisku / <i>Endometrial cell findings in PAP smears – significance and further treating</i> <b>Karmela Šentija</b>
<b>15.50 – 16.00</b>	Direktna citologija endometrija u jednodnevnoj ginekološkoj klinici / <i>Direct endometrial cytology in one-day gynecology clinic</i> <b>Morana Dinter</b>
<b>16.00 – 16.10</b>	Dijagnostička vrijednost citologije endometrija TaoBrush metodom / <i>Diagnostic value of TaoBrush endometrial cytology</i> <b>Ivana Šamija Projic</b>
<b>16.10 – 16.30</b>	Rasprava / <i>Discussion</i>
<b>16.30 – 17.00</b>	Stanka za kavu / <i>Coffee break</i>
SLOBODNE TEME / FREE PAPERS	
<b>Predsjedavajući / Chairs:</b> Žana Besser Silconi, Karmela Šentija, Ivana Miše	
<b>17.00 – 17.10</b>	Analiza uspješnosti p16/Ki67 bojenja s obzirom na različite tehnike pripreme preparata/ <i>Differences in preparation techniques and evaluation of efficacy of the p16/Ki67 staining</i> <b>Ines Krivak Bolanča</b>
<b>17.10 – 17.20</b>	Citologija duktalnog carcinoma in situ (DCIS-a) dojke – pregled recentne literature i vlastita iskustva / <i>Ductal carcinoma in situ (DCIS) cytology – literature review and personal experience</i> <b>Ivana Miše</b>
<b>17.20 – 17.30</b>	Citološko razlikovanje invazivnog duktalnog od duktalnog in situ (DCIS-a) carcinoma dojke / <i>Cytological differentiation between invasive and ductal in situ (DCIS) carcinoma</i> <b>Ivana Miše</b>
<b>17.30 – 17.40</b>	Atipija stanica urotela – iskustvo jednog centra / <i>Urothelial cell atypia – single centre experience</i> <b>Žana Besser Silconi</b>

<b>17.40 – 17.50</b>	Reproducibilnost citološke dijagnostike dismorfičnih eritrocita / <i>Reproducibility of cytological diagnosis of dysmorphic erythrocytes</i> <b>Ivana Dubravac</b>
<b>17.50 – 18.00</b>	Rasprava / <i>Discussion</i>

### Četvrtak, 21. travnja 2016. / Thursday, April 21, 2016

RADIONICA / WORKSHOP	
<b>9.00 – 10.45</b>	CITOLOGIJA ŠITINJAČE / <i>THYROID CYTOLOGY</i> Voditelji / Chairs: Jasenka Antulov, Sandra Kojić-Katović, Ankica Vasilj
<b>14.30 – 16.30</b>	IMUNOCITOKEMIJA / <i>IMMUNOCYTOKHEMISTRY</i> Voditeljica / Chair: Ika Kardum-Skelin Silvana Smojver-Ježek, Ines Krivak Bolanča, Dinka Šundov

### Petak, 22. travnja 2016. / Friday, April 22, 2016

CITOLOGIJA URINA / <i>URINE CYTOLOGY</i>	
<b>Predsjedavajući / Chairs:</b> Nives Ljubić, Margareta Strojan-Fležar, Valerija Miličić	
<b>9.00 – 9.30</b>	<i>Introduction to The Paris System for Reporting Urinary Cytology</i> Margareta Strojan-Fležar
SLIDE SEMINAR	
<b>9.30 – 9.40</b>	Hematurija / <i>Hematuria</i> Karmen Trutin Ostović
<b>9.40 – 9.50</b>	Citologija urina kod bolesnika s transplantiranim bubregom / <i>Urine cytology in renal transplant patients</i> Biljana Jelić-Puškarić
<b>9.50 – 10.00</b>	Atipija stanica prelaznog epitela – slučajevi analizirani interfaznim FISH-om / <i>Urothelial atypia – Interphase FISH analysis</i> Koraljka Gjadrov Kuveždić
<b>10.00 – 10.10</b>	Carcinoma in situ prijelaznog epitela / <i>Urothelial carcinoma in situ</i> Ankica Vasilj
<b>10.10 – 10.20</b>	Multicentrični karcinom <i>in situ</i> prijelaznog epitela / <i>Multicentric urothelial carcinoma in situ</i> Christophe Štemberger
<b>10.20 – 10.30</b>	Nisko maligni urotelialjni karcinomi – mogućnosti citologije / <i>Low grade urothelial carcinomas – potentials of cytology</i> Valerija Miličić
<b>10.30 – 10.40</b>	Zaključci / <i>Conclusions</i> Nives Ljubić
<b>10.40 – 11.00</b>	Stanka za kavu / <i>Coffee break</i>

**HEMATOLOŠKA I ANALITIČKA CITOLOGIJA – LIMFOPROLIFERATIVNE BOLESTI, NEOPLAZIJE PLAZMA STANICA / HAEMATOLOGICAL AND ANALYTICAL CYTOLOGY – LYMPHOPROLIFERATIVE DISEASES, PLASMA CELL TUMOURS**

**Predsjedavajući / Chairs:** Ika Kardum-Skelin, Irena Seili-Bekafigo, Ana Planinc-Peraica

**PLENARNO PREDAVANJE**

<b>11.00 – 11.30</b>	Citološka punkcija i dodatne tehnologije u dijagnostičkom algoritmu povećanog limfnog čvora / <i>Fine needle aspiration cytology and ancillary technologies in the diagnostic algorithm of enlarged lymph node</i> <b>Ika Kardum-Skelin</b>
<b>11.30 – 11.45</b>	Molecular clonality testing in discrimination between reactive and malignant lymphoproliferations / <i>Testiranje molekularne klonalnosti u razlikovanju reaktivnih i malignih limfoproliferacija</i> <b>Mirjana Mariana Kardum Paro</b>
<b>11.45 – 12.00</b>	Povezanost morfološke plazma stanica i nekih poznatih prognostičkih čimbenika u multiplom mijelomu / <i>Correlation of plasma cell morphology and some known prognostic factors in multiple myeloma</i> <b>Irena Seili-Bekafigo</b>
<b>12.00 – 12.20</b>	Klinički značaj obilježja mijelomske stanice i mikrookoliša koštane srži tijekom praćenja bolesnika na terapiji bortezomibom / <i>Clinical significance of myeloma cell features and marrow microenvironment during the follow up of patients on bortezomib therapy</i> <b>Nives Jonjić</b>
<b>12.20 – 12.40</b>	Citologija plazmastaničnih neoplazmi, gledano očima kliničara / <i>The cytology of plasma cell neoplasms as viewed by a clinician</i> <b>Ana Planinc-Peraica</b>
<b>12.40 – 13.00</b>	Rasprava / <i>Discussion</i>
<b>13.00 – 14.15</b>	Stanka za ručak / <i>Lunch break</i>

**PLENARNO PREDAVANJE**

<b>14.15 – 15.00</b>	<i>New opportunities and challenges in clinical cytology</i> <b>Lukas Bubendorf</b>
----------------------	--

**HEMATOLOŠKA I ANALITIČKA CITOLOGIJA – AKUTNE LEUKEMIJE I MIJELODISPLAZIJE / HAEMATOLOGICAL AND ANALYTICAL CYTOLOGY – ACUTE LEUKAEMIA AND MYELODYSPLASIA**

**Predsjedavajući / Chairs:** Mirna Sučić, Sunčica Ries, Dinka Šundov

<b>15.00 – 15.15</b>	Prikaz citomorfoloških karakteristika i citogenetičkih promjena u akutnim mijeloičnim leukemijama – rezultati tima KBC Zagreb / <i>Cytomorphological features and cytogenetical changes in acute myeloid leukemias – results of the KBC Zagreb team</i> <b>Sunčica Ries</b>
<b>15.15 – 15.30</b>	Citomorfologija – temeljna sastavnica prognostičkih sustava u mijelodisplastičnom sindromu / <i>Cytomorphology – a cornerstone of prognostic systems in myelodysplastic syndromes</i> <b>Gordana Kaić</b>

<b>15.30 – 15.45</b>	Korisnost višebojne analize protočnom citometrijom u dijagnostici mijelodisplastičnog sindroma / <i>Utility of multicolor flow cytometric analysis in diagnosis of myelodysplastic syndrome</i> <b>Zoran Šiftar</b>
<b>15.45 – 16.00</b>	Citogenetika mijelodisplastičnih sindroma / <i>Cytogenetics of myelodysplastic syndromes</i> <b>Ružica Lasan-Trčić</b>
<b>SATELITSKI SIMPOZIJ: TAKEDA</b>	
<b>16.00 – 16.30</b>	Prognostička vrijednost, standardizacija testiranja i kvantificiranje ekspresije CD30 biljega u limfomima / <i>Prognostic value, quantification and standardization of CD30 expression testing in lymphoma</i> <b>Nives Jonjić</b>
<b>16.30 – 17.00</b>	Stanka za kavu / <i>Coffee break</i>

<b>CITOLOGIJA DOJKE / BREAST CYTOLOGY</b>	
<b>Predsjedavajući / Chairs:</b> Vesna Ramljak, Vedrana Buljević, Maja Sačer	
<b>17.00 – 17.20</b>	<i>Our experience of a one-day breast clinic</i> <b>Philippe Vielh</b>
<b>17.20 – 17.40</b>	Korelacija preoperativnih citoloških i postoperativnih patohistoloških nalaza kod 800 bolesnica sa rakom dojke / <i>Correlation of preoperative cytology and postoperative pathology in 800 breast cancer patients</i> <b>Vesna Ramljak</b>
<b>17.40 – 17.55</b>	Uloga i značaj citološke dijagnostike bolesti dojke u Općoj bolnici u Koprivnici / <i>Importance and the role of breast cytology in general hospital in Koprivnica</i> <b>Marija Sačer</b>
<b>17.55 – 18.10</b>	Citologija – ključna metoda u ultrazvučnoj ranoj dijagnostici raka dojke / <i>Cytology – the crucial method in early diagnosis of breast cancer</i> <b>Vedrana Buljević</b>
<b>18.10 – 18.20</b>	Jedinice za dojku – zašto su nam potrebne? / <i>Breast units – why would we need them?</i> <b>Iva Kirac</b>
<b>18.20 – 18.30</b>	Novi trendovi u kirurgiji raka dojke / <i>New trends in surgery of breast cancer</i> <b>Ivan Milas</b>
<b>18.30 – 18.40</b>	Značaj citološke evaluacije aksile u preoperativnoj obradi lezija dojke / <i>The significance of cytologic evaluation of the axilla during pre-operative workup of breast lesions</i> <b>Nina Novak</b>
<b>18.40 – 18.50</b>	Rasprava / <i>Discussion</i>

Petak, 22. travnja 2016. / Friday, April 22, 2016

HRVATSKI SIMPOZIJ CITOTEHNOLOGIJE / CROATIAN SYMPOSIUM OF CYTO TECHNOLOGY

8.30 – 8.45 OTVARANJE SIMPOZIJA / SYMPOSIUM OPENING

SEKCIJA CITOTEHNOLOGA 1 / CYTO TECHNOLOGY SESSION 1

Predsjedavajući / Chairs: Suzana Harabajsa, Irena Srebotnik-Kirbiš, Renato Rešetar

8.45 – 9.05	The role of cytotechnologists in the era of new technologies / <i>Uloga citotehnologa u eri novih tehnologija</i> <b>Maj Liv Eide</b>
9.05 – 9.25	Osiguranje i kontrola kvalitete kod imunocitokemijske analize na citološkim staklima / <i>Quality assurance and quality control for immunocytochemistry on cytology samples</i> <b>Irena Srebotnik Kirbiš</b>
9.25 – 9.35	Važnost imunocitokemijske analize u diferencijalnoj dijagnostici karcinoma pluća / <i>The importance of immunocytochemistry in differential diagnosis of lung cancer</i> <b>Suzana Harabajsa</b>
9.35 – 9.45	Primjena genotipizacijskog HPV testa metodom hibridizacije s amplifikacijom signala / <i>Application of HPV genotyping test using hybridization assay with signal amplification</i> <b>Tina Markanjević</b>
9.45 – 9.55	Analiza primjerenosti uzorka u ginekološkim ordinacijama / <i>Analysis of specimen adequacy in gynecological offices</i> <b>Marica Vilić</b>
9.55 – 10.05	Rezultati citološkog probira nacionalnog programa za rano otkrivanje raka vrata maternice u laboratoriju KBC Rijeka / <i>Cytological screening results of the National program for early detection of cervical cancer in the laboratory of Clinical Hospital Center Rijeka</i> <b>Dajana Bašić</b>
10.05 – 10.15	Citološka obrada tekućih uzoraka u „Petrovoj“ / <i>Technical preparation of liquid samples in "Petrova"</i> <b>Željka Šokac Halapir</b>
10.15 – 10.30	Rasprava / Discussion
10.30 – 11.00	Stanka za kavu / Coffee break

SEKCIJA CITOTEHNOLOGA 2 / CYTO TECHNOLOGY SESSION 2

Predsjedavajući / Chairs: Silvio Cuvaj, Veronika Anić, Katica Rubić

11.00 – 11.10	Kontrola kvalitete u ginekološkoj citologiji / <i>Quality control in gynecological cytology laboratory</i> <b>Silvio Cuvaj</b>
11.10 – 11.20	Upravljanje kvalitetom u probiru za rak vrata maternice – ispunjavamo li standarde Europske unije? / <i>Quality assessment in cervical cancer screening – do we meet European union standards?</i> <b>Renato Rešetar</b>
11.20 – 11.30	Kontrola kvalitete u neginekološkoj citologiji na odjelu kliničke citologije opće bolnice Karlovac / <i>Quality control in non-gynecological cytology General Hospital Karlovac</i> <b>Katica Rubić</b>

<b>11.30 – 11.40</b>	Kontrola kvalitete pri citokemijskim reakcijama / <i>Quality control in cytochemical reactions</i> <b>Ksenija Pavičić</b>
<b>11.40 – 11.50</b>	Mogućnosti i poteškoće citološke analize sedimenta urina kod malignih oboljenja / <i>Possibilities and difficulties of cytological urine sediment analysis concerning malignant diseases</i> <b>Silvija Canko</b>
<b>11.50 – 12.00</b>	Uloga limfnog čvora čuvara u određivanju stadija raka dojke / <i>The role of sentinel lymph node in the staging of breast cancer</i> <b>Gordana Naglić</b>
<b>12.00 – 12.10</b>	Citološki nalaz punktata štitnjače prema Bethesda klasifikaciji / <i>Thyroid cytology report according to Bethesda classification</i> <b>Robert Meandžija</b>
<b>12.10 – 12.20</b>	Akutne leukemije na klinici za internu medicinu KBC-a Rijeka od 2004. do 2013. godine / <i>Acute leukemias in the Internal medicine clinic of Clinical Hospital Centre Rijeka from 2004 to 2013</i> <b>Gordana Fumić</b>
<b>12.20 – 12.30</b>	Vrijednost endoskopske retrogradne kolangiopankreatografije (ERCP) i ultrazvučno vođene citološke punkcije (EUS-FNA) u citološkoj dijagnostici / <i>Value of endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) and ultrasound guided fine needle aspiration biopsy (EUS-FNA) in cytology diagnostics</i> <b>Sandra Šlegl</b>
<b>12.30 – 12.40</b>	Upoznajte European Advisory Committee of Cytotechnology (EACC) / <i>Meet the European Advisory Committee of Cytotechnology (EACC)</i> <b>Veronika Anić</b>
<b>12.40 – 12.50</b>	European Advisory Committee of Cytotechnology (EACC) preporuke za obuku i obrazovanje citotehnologa u Europi / <i>Recommendations of the European advisory committee of cytotechnology (EACC) for training and education of cytotechnologists in Europe</i> <b>Veronika Anić</b>
<b>12.50 – 13.00</b>	Rasprava / <i>Discussion</i>
<b>13.00 – 14.15</b>	Stanka za ručak / <i>Lunch break</i>

SLOBODNE TEME / FREE PAPERS	
<b>Predsjedavajući / Chairs:</b> Branka Lončar, Koraljka Rajković Molek, Marina Piljić-Burazer	
<b>15.00 – 15.10</b>	Uloga intraoperativne citologije u detekciji metastaza melanoma u sentinel limfnom čvoru / <i>The role of intraoperative touch-imprint cytology in detection of sentinel-node metastases in malignant melanoma</i> <b>Koraljka Rajković Molek</b>
<b>15.10 – 15.20</b>	Citološka dijagnostika lezija štitnjače – Bethesda sistem: jednogodišnja retrospektivna studija Odjela za citologiju KBC Split / <i>Cytological diagnosis of thyroid lesions –The Bethesda system: one year retrospective study in Department of Clinical Cytology KBC Split</i> <b>Marina Piljić Burazer</b>
<b>15.20 – 15.30</b>	“Borderline” serozni tumor jajnika u cervikovaginalnom obrisku – prikaz slučaja / <i>“Borderline” serous tumour of the ovary in cervicovaginal smear – a case report</i> <b>Danijela Jurić</b>

<b>15.30 – 15.40</b>	Planocelularni karcinom tijela maternice – prikaz slučaja / <i>Squamous cell carcinoma of the uterus – a case report</i> <b>Sanda Rajhvajn</b>
<b>15.40 – 15.50</b>	Citodijagnostika u programu probira ranog otkrivanja raka dojke u Osječko-baranjskoj županiji / <i>Cytology in the breast cancer screening programme in Osječko-baranjska County</i> <b>Branka Lončar</b>
<b>15.50 – 16.00</b>	Karcinom dojke kao drugi primarni tumor – morfološke i imunološke karakteristike / <i>Breast cancer as the second primary tumour – morphological and immunological characteristics</i> <b>Iva Bobuš-Kelčec</b>
<b>16.00 – 16.10</b>	Patolozi bez granica – iskustva hrvatskih citologa u edukaciji citotehnologa u Africi / <i>Pathologists beyond the borders – experience of Croatian cytologists in cytotechnologists education in Africa</i> <b>Maja Mišić</b>
<b>16.10 – 16.30</b>	Rasprava / <i>Discussion</i>
<b>16.30 – 17.00</b>	Stanka za kavu / <i>Coffee break</i>

<b>HEMATOLOŠKA I ANALITIČKA CITOLOGIJA 3 / HEAMATOLOGICAL AND ANALYTICAL CYTOLOGY 3</b>	
<b>Predsjedavajući / Chairs:</b> Snježana Židovec-Lepej, Mirjana Mariana Kardum Paro, Zoran Šiftar	
<b>17.00 – 17.15</b>	Uloga citologije u dijagnostici sistemne mastocitoze / <i>The role of cytology in the diagnosis of systemic mastocytosis</i> <b>Gorana Aralica</b>
<b>17.15 – 17.30</b>	Protočna citometrija s mikrosferama pri analizi citokinske imunosti u infekciji virusom humane imunodeficiencije tipa 1 / <i>Bead-based flow cytometry as a tool for the analysis of cytokine immune responses in human immunodeficiency virus type 1 infection</i> <b>Snježana Židovec Lepej</b>
<b>17.30 – 17.45</b>	<i>Targeting primary immunodeficiencies: polychromatic flow cytometry helps to reveal hidden immunophenotypes</i> <b>Denis Polančec</b>
<b>17.45 – 18.00</b>	Subpopulacije B-stanica u dijagnostici obične promjenljive imunodeficiencije / <i>Peripheral blood B-cell subpopulations in diagnosis of common variable immunodeficiency</i> <b>Leila Kurić</b>
<b>18.00 – 18.15</b>	Alergološko testiranje iz pune krvi: poboljšana i pouzdana metoda za detekciju aktivacije bazofila protočnom citometrijom / <i>Whole blood testing for allergies: a robust and reliable flow cytometry method for measurement of basophil activation</i> <b>Lucija Zenić</b>
<b>18.15 – 18.30</b>	Rasprava / <i>Discussion</i>

**Petak, 22. travnja 2016. / Friday, April 22, 2016**

<b>RADIONICA / WORKSHOP</b>	
<b>11.00 – 13.00</b>	CITOLOGIJA URINA / <i>URINE CYTOLOGY</i> Voditeljica / Chair: Nives Ljubić Koraljka Gjadrov Kuveždić, Ankica Vasilj

<b>15.00 – 16.30</b>	CITOLOGIJA ENDOMETRIJA / <i>ENDOMETRIAL CYTOLOGY</i> <b>Voditeljica / Chair:</b> Vesna Mahovlić Ivana Šamija-Projić, Morana Dinter, Suzana Katalenić-Simon
----------------------	--

**Subota, 23. travnja 2016. / Saturday, April 23, 2016**

<b>CITOLOGIJA GASTROINTESTINALNOG SUSTAVA/ GASTROINTESTINAL CYTOLOGY</b>	
<b>Predsjedavajući / Chairs:</b> Tajana Štoos-Veić, Gordana Kaić, Romina Kanić	
<b>9.00 – 9.20</b>	Multidisciplinarni pristup bolestima pankreatobilijarnog sustava / <i>Pancreatobiliary pathology – multidisciplinary approach</i> <b>Mario Tadić</b>
<b>9.20 – 9.35</b>	Osvrt na ujednačenost nalaza i nazivlje u pankreatobilijarnoj citologiji / <i>Terminology in pancreatobiliary cytology</i> <b>Tajana Štoos-Veić</b>
<b>9.35 – 9.50</b>	Važnost ROSE-a u endoskopskom ultrazvuku – iskustvo KBC Zagreb/ <i>The role of ROSE in EUS-FNA- single center experience (KBC Zagreb)</i> <b>Romina Kanić</b>
<b>9.50 – 10.05</b>	Neke praktične značajke ujednačenog kategoriziranja pankreatobilijarnih lezija (prema preporukama Papanicolaou Society of Cytopathology) / <i>Some practical issues of uniform reporting pancreatobiliary cytology (according to Papanicolaou Society of Cytopathology guidelines)</i> <b>Gordana Kaić</b>
<b>10.05 – 10.20</b>	Usporedna analiza histoloških nalaza i citoloških nalaza otiska biopsije želuca u dijagnozi karcinoma želuca / <i>A correlative study of histology and imprint cytology of gastric mucosa biopsy in the diagnosis of gastric cancer</i> <b>Ljubica Fuštar Preradović</b>
<b>10.20 – 10.40</b>	Konfokalna endomikroskopija u dijagnostici malignih oboljenja / <i>Confocal endomicroscopy in the diagnosis of malignant diseases</i> <b>Goran Hauser</b>
<b>10.40 – 11.00</b>	Rasprrava / <i>Discussion</i>
<b>11.00 – 11.30</b>	Stanka za kavu / <i>Coffee break</i>
OKRUGLI STOL – EDUKACIJA IZ CITOPATOLOGIJE U EU / <i>ROUND TABLE DISCUSSION – CYTOPATHOLOGY EDUCATION IN EU</i>	
<b>11.30 – 11.50</b>	UVODNO PREDAVANJE / <i>INTRODUCTORY LECTURE</i> <b>Martin Tötsch</b>
<b>11.50 – 13.00</b>	RASPRAVA / <i>DISCUSSION</i> <b>Moderator: Martin Tötsch</b> <b>Sven Seiwerth, Nives Jonjić, Tinka Mohar-Hajnšek</b> <b>Ika Kardum-Skelin, Danijela Vrdoljak-Mozetič, Maja Mišić</b>
<b>13.00 – 13.30</b>	ZATVARANJE KONGRESA / <i>CONGRESS CLOSING</i> Dodjela nagrada za najbolje usmeno izlaganje i najbolji poster / <i>The best oral presentation and poster awards</i>



# **PROGRAM POSTER PREZENTACIJA**

---

## ***POSTER PRESENTATION PROGRAMME***

R. broj / Number	NASLOV POSTERA / POSTER TITLE
1	<b>Udruženost HPV infekcije i pušenja u razvoju skvamozne intaepitelne lezije vrata maternice</b> Jurić N, Šlaković M, Delić T, Smajić E, Bilalović S.
2	<b>Citološka identifikacija nevirusnih uzročnika u skvamoznim intraepitelnim lezijama / Cytological identification of non-viral agents in squamous intraepithelial lesions</b> Smajić E, Bilalović S, Jurić N.
3	<b>Jaka upala i diskarioza u VCE obrisku / Severe inflammatory changes and dyskaryosis in cervicovaginal smear</b> Bedrina Jakičić B, Stranić Lj.
4	<b>Prvi ciklus Nacionalnog preventivnog programa ranog otkrivanja raka vrata maternice – iskustvo KB Merkur-a</b> Krivak Bolanča I, Šentija K, Katalenić Simon S.
5	<b>Podudarnost nalaza citotehnologa i citologa u okviru preventivnog programa ranog otkrivanja raka vrata maternice / The concordance of the cytotechnologists cytological results and the final diagnosis by cytologists in the national screening program for early detection of cervical cancer</b> Švencbir Popovski V, Gavranović Lj, Rakek Novak S, Baburić M, Šentija K, Katalenić Simon S, Krivak Bolanča I.
6	<b>Dijagnostički značaj dualnog bojanja – prva iskustva</b> Katalenić Simon S, Krivak Bolanča I, Šentija K.
7	<b>p16/Ki-67 dual stain and HPV 16 genotype in the prediction of HSIL+ outcome of women with abnormal cervical cytology</b> Vrdoljak-Mozetić D, Verša-Ostojić D, Štemberger-Papić S, Rubeša-Mihaljević R, Dinter M, Brnčić-Fischer A, Krašević M.
8	<b>ASC-H and p16/Ki-67 dual-staining: our experiences</b> Irgel N, Šramek Zatler S, Repše Fokter A.
9	<b>ASC-H citologija – praćenje i klinički ishod / ASC-H cytology – follow up and clinical outcome</b> Baždarić D, Matić I, Vrdoljak-Mozetić D, Verša-Ostojić D, Štemberger-Papić S.
10	<b>Recognition of atypical endometrial cells in Pap smears</b> Salobir L, Šramek Zatler S, Repše Fokter A.
11	<b>Kada posumnjati na karcinom endometrija – prikaz slučaja</b> Šentija K, Krivak Bolanča I, Katalenić Simon S, Škrtić A.
12	<b>Primjena direktnе endometralne brush citologije u detekciji premalignih i malignih lezija endometrija</b> Đaković I, Valerija Miličić V, Zelić T, Prvulović I, Mardešić I, Martinek V, Dubravac I.
13	<b>Usporedba ksilola i Tissue-clearopine u postupku Papanicolaou bojanja / Comparison xylol versus Tissue-clear solution with the standard Papanicolaou stain</b> Deduš O, Knez K, Perković L, Ivanović D, Ljubić N, Sučić M.
14	<b>Role of cytomorphology alone in subtyping of lung carcinoma in paired cytology/biopsy bronchoscopic samples</b> Smojer-Ježek S, Vrabec Branica B, Juroš Z, Roglić M, Jakopović M, Pleština S, Kukulj S, Alerić I, Čučević B, Seiwerth S, Samaržija M.

R. broj / Number	NASLOV POSTERA / POSTER TITLE
15	<b>TKI-s in second line treatment of patients with advanced EGFR mutation positive NSCLC</b> Pleština S, Smojver-Ježek S, Brčić L, Seiwerth S, Jakopović M, Samaržija M.
16	<b>The value of transbronchial needle aspiration cytology in the diagnosis of sarcoidosis</b> Tatomirović Ž, Škuletić V, Peković D, Ristić S, Karličić V.
17	<b>Uloga citologije u dijagnostici adenokarcinoma u pleuralnim izljevima / Role of cytology in the diagnosis adenocarcinoma in pleural effusion</b> Kušen Ž, Flego V, Štemberger C, Risteska Z.
18	<b>Imunoekspresija CD2 i CD20 u limfatičnim stanicama izljeva</b> Ivanović D, Sučić M, Ljubić N, Perković L, Županić Krmek D, Frković Solomun G, Knežević F.
19	<b>Imunoekspresija telomeraze u limfocitima bolesnika s KLL</b> Sučić M, Ljubić N, Perković L, Ivanović D, Županić Krmek D, Frković Solomun G, Knežević F.
20	<b>Cytology and flow cytometry of malignant effusions of high grade lymphomas</b> Šoljić V, Draganović S, Godler Đ, Todorović J, Alfirević D.
21	<b>Pojava mijelodisplastičnog sindroma u bolesnice s neliječenim limfoproliferativnim poremećajem / Myelodisplastic syndrome in a patient with untreated lymphoproliferative syndrome</b> Kosanović Bajić M, Mandac Rogulj I, Kaić G, Kursar M, Ostojić Kolonić S, Planinc-Peraica A.
22	<b>Primarni non Hodgkin limfom jetre – prikaz slučaja</b> Ropar S, Friščić T, Jelić Puškarić B, Gredelj Šimec Nj.
23	<b>Dijagnostička vrijednost prstenatstih sideroblasta</b> Ljubić N, Sučić M, Perković L, Ivanović D, Županić Krmek D, Frković Solomun G, Knežević F.
24	<b>Utjecaj parvovirusne infekcije na citologiju koštane srži: prikaz slučaja</b> Miše I, Maričević I, Stevanović S, Šarkanji-Golub R.
25	<b>Rijetki sekundarizmi u slezeni / Rare secondary involvement of the spleen</b> Kosanović Bajić M, Mandac Rogulj I, Jelić Puškarić B, Planinc-Peraica A, Radić-Krišto D.
26	<b>Periodic acid – schiff (PAS) reakcija u hematološkoj citodiagnostici / Periodic acid – schiff(PAS) reaction in hematology and oncology cytodiagnostics</b> Šlegl S, Miše I, Herceg M, Grbin S, Mandžo J.
27	<b>Dijagnostička vrijednost citologije žarišnih promjena u jetri i gušterači – usporedba sa patohistološkim nalazom</b> Fröhlich I, Kovačević A, Pauzar B, Staklenac B, Perić M, Vrselja N, Miličić V, Lončar B.
28	<b>Neobična prezentacija GIST-a</b> Škoro M, Štoos-Veić T, Novak NP, Tadić M, Vukelić M.
29	<b>Dijagnostička vrijednost TFF3 proteina u tumorima dojke</b> Tolušić Levak M, Lovrić I, Belovarić T, Baus Lončar M, Blažičević V, Pauzar B.
30	<b>Citološko gradiranje invazivnog karcinoma dojke</b> Prvulović P, Miličić V, Mišić M.
31	<b>Papilarni karcinom štitnjače u scintigrafski vrućem čvoru</b> Šunjić Stakor M, Peroš K.

R. broj / Number	NASLOV POSTERA / POSTER TITLE
32	<b>Istovremena pojava papilarnog i medularnog karcinoma štitnjače</b> Peruško Kozina P, Besser Silconi Ž, Kučinar I, Igrec I.
33	<b>Renal cell carcinoma metastasis to thyroid gland: a case report</b> Blatnik J, Strojan Fležar M, Gutnik H.
34	<b>Metastaza svijetlostaničnog karcinoma bubrega u štitnu žlijezdu / Metastatic clear cell renal carcinoma to the thyroid gland</b> Šundov D, Beljan Perak R, Bogdan Pleština M, Vrdoljak Trogrić M, Brdar D.
35	<b>Intratireoidni adenom paratireoidne žlijezde – uzrok hiperkalcemične krize sa smrtnim ishodom</b> Šarkanji-Golub R, Vasilj A, Pigac B, Kojić Katović S, Mužinić D, Moslavac S.
36	<b>Pilomatrikom u desetomjesečnog dojenčeta – prikaz slučaja</b> Roganović J, Kranjčec I, Seili-Bekafigo I, Jonjić N.
37	<b>Ocular melanoma <i>in situ</i></b> Vasilj A, Kojić Katović S.
38	<b>Uloga citologije u dijagnostici oftalmoloških lezija / The role of cytology in the diagnosis of ophthalmic lesions</b> Rubeša-Mihaljević R, Dinter M, Verša-Ostojić D, Štemberger-Papić S, Novak Stroligo M, Mišljenović Vučerić T, Vrdoljak-Mozetić D.
39	<b>Sarkom interdigitalnih dentritičkih stanica u intramamarnom limfnom čvoru – prikaz slučaja</b> Rajković Molek K, Lučin K, Avirović M.
40	<b>Tumor blastičnih plazmacitoidnih dendritičkih stanica (leukemijska faza) / Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm (leukaemic phase)</b> Šundov D, Pavlović A, Srbljin J, Kvasina Vrljičak D, Karaman I.
41	<b>Citologija kao dijagnostički alat u primarnom i recidivnom tumoru mekog tkiva: slučaj leiomiosarkoma sjemenovoda</b> Šarkanji-Golub R, Vasilj A, Pigac B, Kojić Katović S, Miše I.
42	<b>Važnost citodijagnostike urina u BK virusnoj infekciji bubrežnog presatka</b> Štemberger C, Đorđević G, Pavletić Peršić M.
43	<b>Citomorfologija urina u bolesnika s poliomavirus stanicama (PVS)</b> Perković L, Sučić M, Ljubić N, Ivanović D, Knežević F.
44	<b>Dijagnostička vrijednost citologije urotrakta u KBC Osijek prije „Pariske klasifikacije“</b> Miličić V, Prvulović I, Mardešić I, Tomašković I, Zelić T, Martinek V.
45	<b>Učestalost i značaj nalaza atipičnih urotelnih stanica u citološkim uzorcima urina u O.B. dr. J. Benčević, Slavonski Brod u jednogodišnjem periodu</b> Mišić M, Fuštar-Preradović Lj, Prvulović I, Taradi R.
46	<b>Citologija u dijagnostici papilarnih <i>low grade</i> lezija urotele</b> Mardešić I, Miličić V, Prvulović I, Tomašković I, Bobuš I, Zelić T.
47	<b>Cervical squamous cell carcinoma in urinary bladder washing: a case report</b> Legen A, Gutnik H, Strojan Fležar M.
48	<b>Quantitative real-time PCR (qPCR) microRNA profiling</b> Kardum Paro MM, Mandac Rogulj I, Ostojić Kolonić S, Hoareau-Aveilla C, Quelen C, Brousset P.

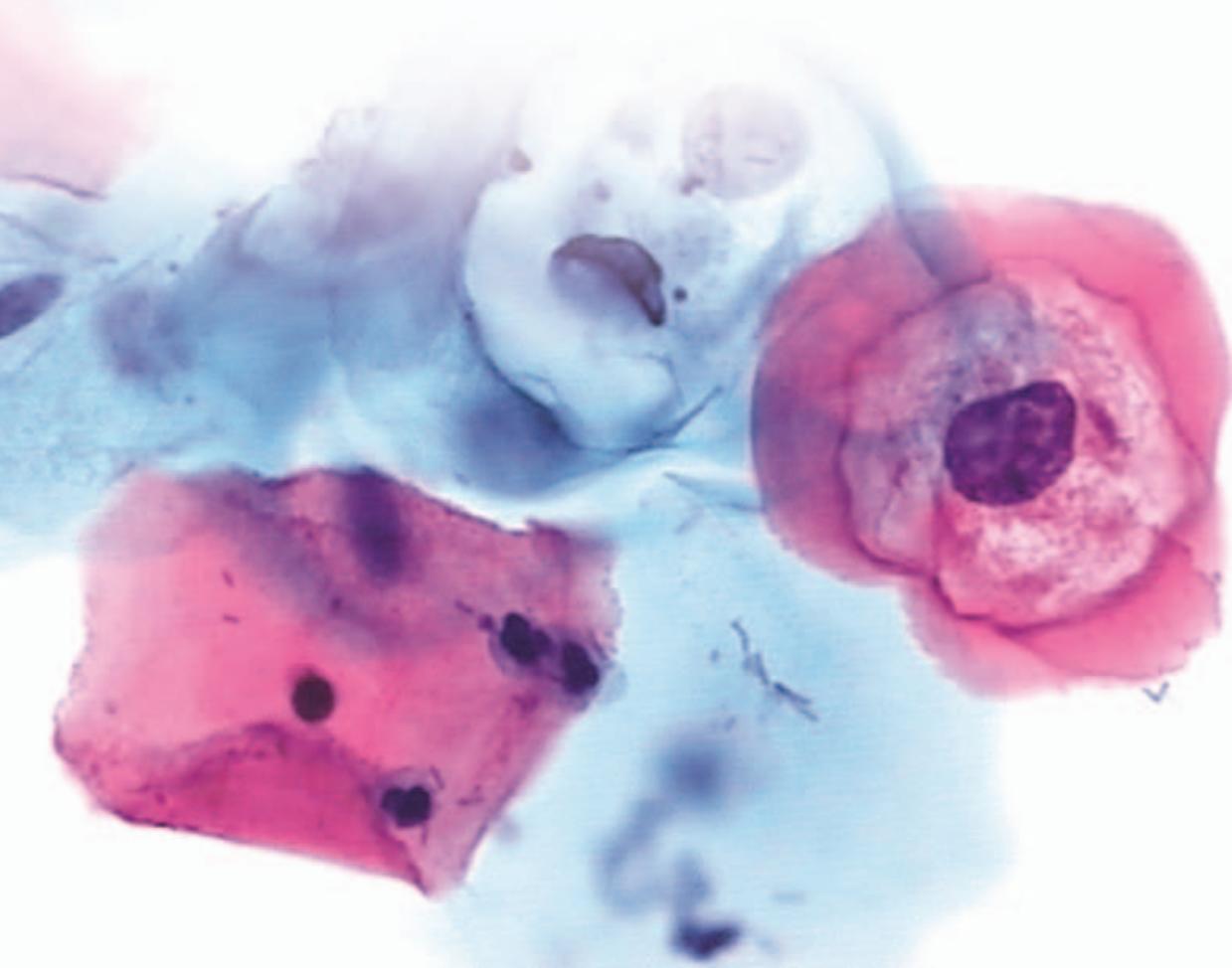
# **5. HRVATSKI KONGRES KLINIČKE CITOLOGIJE 5<sup>th</sup> CROATIAN CONGRESS OF CLINICAL CYTOLOGY**

**2. HRVATSKI SIMPOZIJ ANALITIČKE CITOLOGIJE  
2<sup>nd</sup> CROATIAN SYMPOSIUM OF ANALYTICAL CYTOLOGY**

**3. HRVATSKI SIMPOZIJ CITOTEHNOLOGIJE  
3<sup>rd</sup> CROATIAN SYMPOSIUM OF CYTOTECHNOLOGY**

s međunarodnim sudjelovanjem / with international participation

---



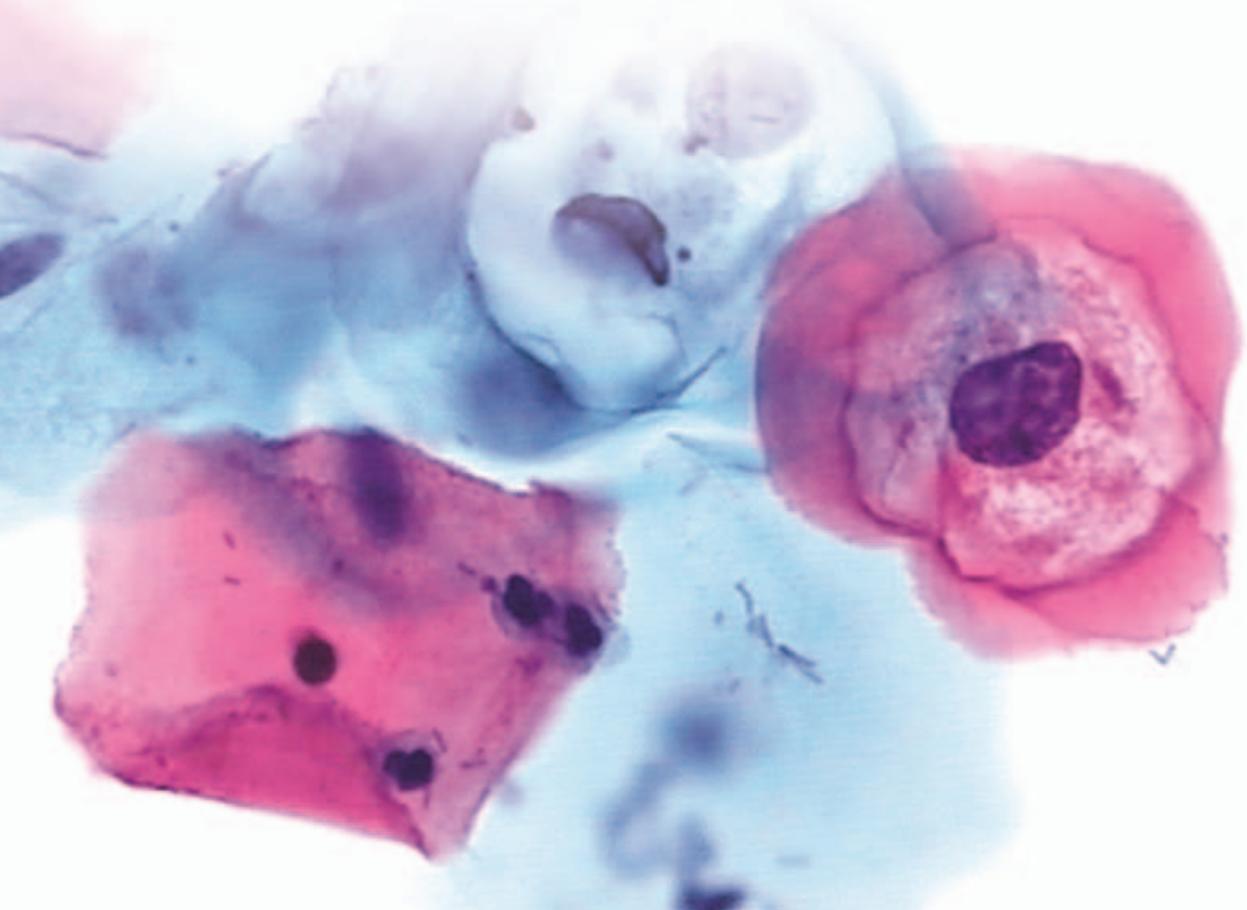


---

**SAŽETCI**  
**ABSTRACTS**

**GINEKOLOŠKA CITOLOGIJA – PROBIR ZA RAK VRATA  
MATERNICE, KLASIFIKACIJE LEZIJA VRATA MATERNICE**

**GYNAECOLOGICAL CYTOLOGY – CERVICAL CANCER SCREENING,  
CLASSIFICATION OF THE CERVICAL LESIONS**



## **PLENARNO PREDAVANJE**

### **„THE BETHESDA SYSTEM 2014 FOR REPORTING CERVICAL CYTOLOGY“ – NOVOSTI I PRIMJENA U HRVATSKOJ**

### **„THE BETHESDA SYSTEM 2014 FOR REPORTING CERVICAL CYTOLOGY“ – NEWS AND IMPLEMENTATION IN CROATIA**

**Vesna Mahovlić**

Odjel za ginekološku citologiju, Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb, Hrvatska

**Uvod.** Prije gotovo tri desetljeća (1988. g.) uvedena je „The Bethesda System“ (TBS) klasifikacija za cervikalne citološke nalaze, nastala kao potreba jedinstvene terminologije i preporuka za kliničku uporabu klasičnog Papa testa. Modifikacijom uniformne i reproducibilne terminologije (1991.g i 2001g,) na osnovi najnovijih spoznaja o cervikalnim neoplazijama, cilj je bio smanjiti velike razlike u interpretaciji citologa i postaviti jasne granice za daljnji postupak. Danas se, u svrhu otkrivanja cervikalnih lezija, umjesto konvencionalnog Papa testa, sve više primjenjuje tekućinska citologija (LBC – liquid-based cytology), kao i istovremeno testiranje na HPV visokog rizika (HR HPV) i Papa test, odnosno sve aktualniji odabir testiranja na HR HPV za primarni probir. Uz dodatno odobrenje primjene profilaktičnog HPV cjepiva, nužno dolazi do promjena strategije, kako u probiru raka vrata maternice, tako i u njegovoj prevenciji i postupku liječnja. Osim toga, principi i terminologija TBS-a značajno je utjecala i na standardizaciju citoloških nalaza drugih lokalizacija (štitnjača, gušterača, mokrača), kao i na histološku terminologiju pločastih lezija povezanih sa HPV infekcijom donjeg anogenitalnog trakta.

**Terminologija „Bethesda 2014“** za cervikalne lezije unosi minimalne promjene, usporedbom sa zadnjom klasifikacijom „TBS 2001“, a odnose se u prvom redu na endometralne stanice benignog izgleda kod žena  $\geq 45$  g, identifikaciju citomegalovirusa, zatim na poboljšanje komunikacije između citološkog laboratorija, ginekologa i pacijentice, uz primjereni postupak kod procjene rizika, te opširnije razmatranje automatskog (kompjuteriziranog) probira, ukoliko se primjenjuje.

**Primjerost (adekvatnost)** uzorka smatra se i dalje najznačajnijim komponentom osiguranja kvalitete najnovijeg TBS-a. Uzorak se označava zadovoljavajućim ili nezadovoljavajućim. Zadovoljavajući uzorci uključuju identifikaciju stanica s transformacijske zone (najmanje 10 dobro očuvanih endocervikalnih ili metaplastičnih stanica, pojedinačnih ili u nakupinama), ali i preparate kada je 50-75 % epitelnih stanica prekriveno npr. krvlju, upalnim stanicama, nekrozom. Zadovoljavajuća celularnost je 8000-12000 stanica za konvencionalne razmaze, odnosno 5000 stanica za LBC uzorak. Izuzetak je procjena celularnosti kod uzorka nakon radioterapije, odnosno upotrebe lubrikanta, naročito u LBC preparatima, kao i utjecaj adekvatnosti na HPV testiranje.

**Opća podjela** citoloških nalaza predstavlja neobaveznu kategorizaciju koja služi kliničaru za brzu trijažu nalaza. Razlikuju se kategorije: *negativno na intraepitelnu leziju ili malignitet, abnormalne epitelne stanice i drugo*, a odnosi se se na citološku interpretaciju (rezultat).

**Ne-neoplastični nalazi** (neobavezna kategorizacija) uključuju široki raspon ne-neoplastičnih promjena na stanicama (pločasta metaplazija, keratotične promjene, tubarna metaplazija, atrofija, promjene na stanicama vezane uz trudnoću), reaktivne promjene na stanicama povezane s upalom (uključujući i tipičnu reparaciju te limfocitni cervicitis), radijacijom kao i promjene vezane uz intrauterini uložak (IUD), te nalaz glandularnih stanic na histerektomije.

**Mikroorganizmi** identificirani u citološkim obriscima su Trichomonas vaginalis, gljivice morfološki povezane s Candida species-om, promjena mikroflore koja upućuje na bakterijsku vaginozu, bakterije povezane s Actinomyces, te citomorfološke promjene na stanicama povezane sa herpes simplex virusom i citomegalovirusom.



Drugo se odnosi na endometralne stanice benignog izgleda, kod žena dobi  $\geq 45$  godina, uz specifikaciju „negativno na intraepitelnu leziju“.

Citološki nalaz „*Abnormalne epitelne stanice*“ odnosi se na promjene nađene prvenstveno na pločastom i cilindričnom epitelu.

„Bethesda 2014“ ne uvodi bitne promjene za *abnormalnosti pločastog epitelja*. Za pločaste intraepitelne lezije još je TBS 1988. uveo novi naziv „skvamozna intraepitelna lezija (SIL)“ i dihotomnu podjelu u SIL niskog (LSIL) i visokog (HSIL) stupnja, koja i danas predstavlja najrecentnije razumijevanje HPV infekcija; promjene niskog stupnja predstavljaju produktivnu, većinom prolaznu HPV infekciju, dok su morfološke promjene visokog stupnja odlika prekancerozne lezije. Nova kategorija „HSIL sa sumnjom na invaziju“ uvodi „TBS 2001“ opisujući karakterističnu citomorfologiju za karcinom *in situ*, ali i promjene na stanicama i pozadinu razmaza koje upućuju i na mogućnost invazije strome. Za rijetke slučajeve kod kojih nije moguća kategorizacija SIL-a u smislu niskog ili visokog stupnja, ne uvodi se nova (trodjelna) terminologija, već se preporuča opisna interpretacija, kako bi se spriječila slaba reproducibilnost, kao i konfuzija među kliničarima, koja bi mogla dovesti do neprimjerenog postupka. Kategorija atipične pločaste stanice (ASC), najčešći je abnormalni citološki nalaz. Sub-kategorizacija ASC, u neodređenog značenja (ASC-US) i ne može se isključiti HSIL (ASC-H) predstavlja „presliku“ one za LSIL i HSIL, a smjernice omogućavaju da se uz citologiju primjeni i HPV testiranje, kao pokazatelj praćenja kvalitete kliničara i laboratorija. Citomorfološka slika planocelularnog karcinoma daje jasnou sliku za neodgovom patohistološkom verifikacijom.

*Abnormalne cilindrične epiteli stanice* znatno je teže otkriti cervikovaginalnom citologijom, za razliku od promjena na pločastom epitelu. Uvođenjem sofisticiranih sredstava za uzimanje uzorka kao i relativnim porastom incidencije endocervikalnog adenokarcinoma u odnosu na planocelularni karcinom zadnja dva desetljeća, citolozi su stekli više iskustva u prepoznavanju glandularnih lezija. „Bethesda 2001“ uvodi uz priznatu kategoriju adenokarcinoma i novu „adenocarcinoma *in situ*“. Atipične glandularne stanice (AGC) dijele se u sub-kategoriju AGC – nespecificirane („not otherwise specified“; AGC-NOS), i AGC – ne može se isključiti neoplazija („favor neoplastic“), uz navođenje porijekla cilindričnih stanica (endocervikalno, endometralno, ekstrauterino, nespecificirano)

*Druge maligne neoplazme* otkrivene cervikovaginalnom citologijom, upućuju na druge maligne lezije koje se mogu javiti na vratu maternice, bilo kao varijante cervikalnog karcinoma ili rijetki primarni tumori nastali u području tijela maternice ili adneksa.

*Dodatno testiranje* uvodi već „TBS 2001“ i uvijek je potrebno navesti vrstu primijenjenog testa (HPV, imunocitokemija – p16, K67).

*Edukacijska objašnjenja i komentari* neobavezan je dio citološkog izvještaja. Predstavljaju kratke i dosljedne upute prema recentnim smjernicama relevantnog stručnog društva.

**Zaključak.** Standardizirana terminologija TBS klasifikacije također značajno utječe na rad citoloških laboratorija i kliničara u Hrvatskoj, potičući i kod nas brojna istraživanja u biologiji raka vrata maternice, osobito povezana sa humanim papiloma virusom i isplativosti uvođenja njegovog testiranja za anogenitalne lezije. Procjenom rizika za nastanak raka vrata maternice, otvaraju se nove mogućnosti za probir i u našoj sredini.

# CERVICAL CANCER SCREENING IN SLOVENIA

**<sup>1,2</sup>Alenka Repše Fokter, <sup>3,4</sup>Maja Primic Žakelj**

<sup>1</sup>Department of Pathology and Cytology, Celje Teaching Hospital, Slovenia

<sup>2</sup>Advisory board of the national screening programme ZORA, Ljubljana, Slovenia

<sup>3</sup>Institute of Oncology, Ljubljana, Slovenia

<sup>4</sup>Head of the national screening programme ZORA, Ljubljana, Slovenia

---

In Slovenia, opportunistic cervical cancer screening was introduced in regular gynaecological practice in 1960. Although there were no standards for quality assurance and control at that time, the incidence rate of 34.0/100,000 in 1962 decreased to 14.0/100,000 in 1979. There were no major changes until 1993, but in the following years the incidence started to increase again and reached its second peak in 1996 (23/100,000). Extensive epidemiologic analysis revealed the inefficiency of opportunistic screening in Slovenia and organised cervical cancer screening was introduced in 2003. It was given a Slovenian female name ZORA which literally means "sunrise" but also contains the initials for organised cervical cancer screening programme in Slovenian language. The central coordination office with the Cervical Screening Registry is at the Ljubljana Institute of Oncology. Quality assurance guidelines for the implementation of all ZORA procedures were developed by a National Board, nominated by the Ministry of Health, and the related legal basis was published by appropriate national bodies. The operations of gynaecological cytopathology laboratories throughout the country were standardized, thus assuring monitoring of their work. At present there are 9 laboratories which comply with the regulations and standards for cytopathology laboratories and collectively process about 220,000 smears every year. In order to improve the performance of screeners, a school for screeners was established in 2006. Each woman between the ages of 20 and 64 years is invited for a preventive gynaecological examination and a conventional Pap smear once every 3 years, carried out either by her personal gynaecologist with whom she has already been registered or at the Screening Centre if she has not yet been registered. Women aged 65–74 years are not invited but are offered screening when they attend a gynaecologist for other reasons. Additionally, HPV test is performed in all patients with atypical squamous or glandular cells, patients with LSIL smears older than 35 years as well as in follow up of patients after treatment of cervical intraepithelial neoplasia. Regardless of the ability to pay, universal access to the ZORA programme is assured by including the ZORA expenditure in Slovenia's compulsory health insurance. In addition to monitoring and improving the quality of laboratories great efforts have been made especially in education of women. The results show that in almost all regions the goal of 70 % of women having a smear in one screening period (three years) has already been achieved. The coverage in the last five years (2010-2015) was 81.3 %. The incidence of cervical cancer is now declining and was 10.1/100,000 in 2014. Annual reviews on the cervical cancer screening programme ZORA are published regularly and available on the programme's web site as well (<http://www.onko-i.si/zora/>).

# **NACIONALNI PROGRAM RANO OTKRIVANJA RAKA VRATA MATERNICE. ZATVARAMO LI VRATA BUDUĆNOSTI? *NATIONAL CERVICAL CANCER SCREENING PROGRAMME. ARE WE CLOSING THE DOOR TO THE FUTURE?***

**Dinka Nakić**

Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Zagreb, Hrvatska

Nacionalni program ranog otkrivanja raka vrata maternice je započet krajem 2012. godine s ciljem smanjenja incidencije i mortaliteta od invazivnog raka vrata maternice. Prema podacima Registra za rak iz 2013. godine kod žena je rak vrata maternice na 10. mjestu po učestalosti.

U Hrvatskoj oportunistički probir Papa testom ima dugu tradiciju, provodi se od pedesetih godina prošlog stoljeća. Upravo zahvaljući oportunističkom probiru došlo je do smanjenja incidencija i mortaliteta od raka vrata maternice. U zadnja dva desetljeća primjetno je usporavanje navedenog trenda, tako da u usporedbi s drugim zemljama zapadne i južne Europe, Hrvatska ima lošije pokazatelje. Prema posljednjim dostupnim podacima Registra za rak, u Hrvatskoj je u 2013. godini 339 žena oboljelo (stopa 15,3 na 100.000 žena), a 127 žena (stopa 5,7/100.000) umrlo od karcinoma vrata maternice. Ako gledamo zastupljenost po županijama nešto viša incidencija zabilježena je u istočnim dijelovima Hrvatske i Istarskoj županiji, dok je manja u Međimurskoj i Splitsko-dalmatinskoj županiji.

Obzirom da oportunistički probir Papa testom nije dao željene rezultate, pokrenut je organizirani probir. Program se provodi na razini županije u organizaciji županijskog zavoda za javno zdravstvo. Osnova programa probira u prvoj fazi je konvencionalna citologija. U početku se odvijanje programa pratio prema računima citoloških laboratorija, a u 2015. godini počinje rad na informatičkoj aplikaciji koja pokazuje niz manjkavosti i zahtjeva doradu. Osim navedenoga i dalje perzistiraju problemi nedostatka kadrova i opreme, koji su bili prisutni i na početku pokretanja programa.

Promjene koje bi trebale dovesti do poboljšanja u organizaciji i provedbi programa probira rade se kroz europski projekt „Unaprijeđenje kvalitete nacionalnih programa za rano otkrivanje raka“ u okviru prijelaznog instrumenta EU. Hrvatskoj su partneri na tom projektu Litva i Slovenija. Iskustva zemalja s duljim provođenjem programa pokazuju da se uvođenjem organiziranih programa ranog otkrivanja može utjecati na trendove na populacijskoj razini, no neophodni preuvjeti za to uključuju postizanje zadovoljavajuće razine obuhvata i odaziva, te provođenje postupaka kontrole kvalitete.

# PAPA TEST U PROGRAMU RANOG OTKRIVANJA RAKA VRATA MATERNICE U HRVATSKOJ

## PAP TEST IN CERVICAL CANCER SCREENING IN CROATIA

Danijela Vrdoljak-Mozetič

Zavod za kliničku citologiju, KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

Katedra za ginekologiju i opstetriciju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

Konvencionalni Papa test u primjeni je u Hrvatskoj kao temeljna metoda probira od 50-ih godina prošlog stoljeća u okviru oportunističkog probira, kao i u okviru organiziranog Nacionalnog programa ranog ortkrivanja raka vrata maternice (NPP Cerviks) koji je uveden 2012. godine. Da bi probir za rak vrata maternice bio učinkovit, osim postizanja visoke pokrivenosti ciljne populacije, potrebno je kontinuirano raditi na podizanju kvalitete citoloških laboratorija. U tu svrhu pod vođenjem Ministarstva zdravlja RH i HZJZ-a procijenjivat će se kontrola kvalitete citoloških laboratorija vanjskom evaluacijom. Cilj rada je prikazati kriterije procjene kvalitete citoloških laboratorija te presjek obima Papa testova u citološkim laboratorijima uključenim u nacionalni probir. Također će se, kao primjer jednog od postupaka procjene kvalitete, prikazati audit raka vrata maternice (RVM) na primjeru KBC Rijeka.

**Metode:** Analizirani su podaci prikupljeni iz citoloških laboratorija uključenih u nacionalni probir: broj svih Papa testova te broj i udio abnormalnih nalaza Papa testova zaprimljenih u okviru NPP Cerviks za godine 2013., 2014. i 2015. Audit RVM učinjen je za sve novodijagnosticirane karcinome vrata maternice u KBC Rijeka tijekom 2014. i 2015. godine. Pacijentice su podijeljene u tri grupe prema FIGO stadiju raka: početni (stadij 1A), operabilni (IB i IIA) i inoperabilni (IIB i više). Lažno negativnim (LN) smatrali su se negativni Papa testovi u razdoblju od pet godina prije dijagnoze invazivnog karcinoma.

**Rezultati:** Ukupni broj citoloških laboratorija uključenih u NPP Cerviks u RH je 30, od čega su podaci prikupljeni za njih 20. Ukupni broj Papa testova u tri godine po laboratoriju prosječno je 54335, u rasponu od 4403 do 119577. Broj Papa testova zaprimljenih u okviru NPP Cerviks prosječno je 4392 po laboratoriju što predstavlja 8 % od ukupnog broja Papa testova. Udio abnormalnih Papa testova u okviru NPP Cerviks je 3,4 %, u rasponu od 1 % do 16 % po laboratoriju. Rezultati audita RVM: od ukupnog broja od 94 karcinoma, u početnim stadijima dijagnosticirano je 42 (44,7 %), 24 (25,5 %) u operabilnim stadijima, dok je inoperabilnih bilo 28 (29,8 %). U početnim stadijima karcinoma (mikroinvazivni), njih 61,9 % (N = 26) otkriveno je Papa testom (4 u sklopu NPP Cerviks, 22 u oportunističkom probiru). Kod 35,7 % (N = 15) slučajeva uočena je neadekvatna obrada/vođenje pacijentica s prethodnim abnormalnim nalazima Papa testa. U jednom slučaju zabilježen je lažno negativni (LN) Papa test (2,4 %). U stadijima operabilnih invazivnih karcinoma, nakon isključivanja pacijentica s nedostatnom dokumentacijom (N = 5), 68,4 % (N = 13) pacijentica neredovito se ili nikako ginekološki kontroliralo, kod 26,3 % (N = 5) uočena je neadekvatna obrada/vođenje pacijentica, a kod jedne pacijentice LN Papa test (5,3 %). Kod pacijentica s inoperabilnim rakom, nakon isključivanja slučajeva s neadekvatnom dokumentacijom (N = 10), u 88,9 % (N = 16) slučajeva pacijentice su se neredovito ili nikako ginekološki kontrolirale, dok je u dva slučaja zabilježen LN Papa test (11,1 %).

**Zaključci:** Sveobuhvatna kontrola kvalitete citoloških laboratorija preduvjet je kvalitetne prevencije raka vrata maternice. Usljed uočenih varijacija između analiziranih laboratorija potrebno je neodgodivo provesti vanjsku kontrolu kvalitete prema definiranim kriterijima. Auditom raka vrata maternice pokazano je da je u najmanjem broju slučajeva dijagnosticiranje invazivnog raka povezano s lažno negativnim Papa testom, slijedeći po učestalosti razlog je neadekvatna obrada/vođenje pacijentica, dok je najučestaliji razlog dijagnosticiranja invazivnog raka neredovito/nepostojeće ginekološko kontroliranje, osobito u višim stadijima bolesti.

# NOVI PRISTUP HISTOLOŠKOJ KLASIFIKACIJI PREKANCEROZA VRATA MATERNICE

**Marija Macan, Damir Babić**

Odjel za ginekološku i perinatalnu patologiju, Klinika za ženske bolesti i porode KBC-a Zagreb, Zagreb, Hrvatska

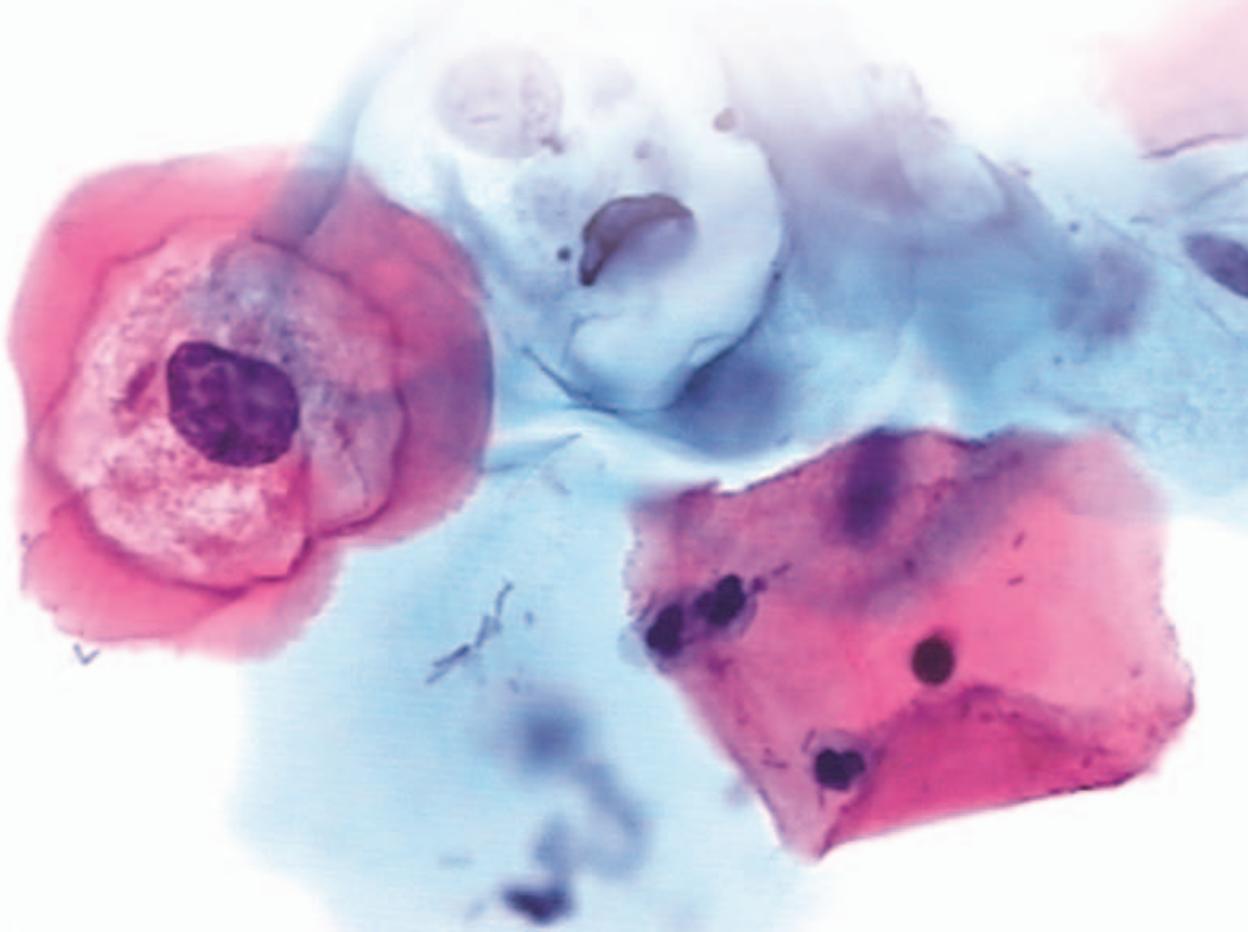
Najveći broj primarnih malignih neoplazmi vrata maternice nastaje iz pločastih epitelnih stanica. Gotovo svi tumori iz ove skupine etiopatogenetski su povezani s perzistentnom infekcijom jednim ili više karcinogenih tipova humanog papilomavirusa (HPV), koja izaziva razvoj prekursorskih displastičnih intraepitelnih lezija. Cervikalne intraepitelne pločaste lezije se od prvih godina njihovog prepoznavanja do danas kategoriziraju prema različitim klasifikacijama. Nova Klasifikacija tumora ženskih reproduktivnih organa Svjetske Zdravstvene Organizacije (SZO) iz 2014. godine preporučuje dvostupansku nomenklaturu ne-invazivnih pločastih lezija vrata maternice i njihovo svrstavanje u jednu od predloženih kategorija: 1. pločasta intraepitelna lezija niskog stupnja (*engl. low-grade squamous intraepithelial lesion, LSIL*) i 2. pločasta intraepitelna lezija visokog stupnja (*engl. high-grade squamous intraepithelial lesion, HSIL*). Prema SZO, primjena ove klasifikacije odražava biološku prirodu pločastih intraepitelnih lezija i histološki je mnogo reproducibilnija nego prethodna podjela u tri stupnja: cervikalna intraepitelna neoplazija gradusa (CIN) 1, CIN 2 i CIN 3.

LSIL kategorija podrazumijeva promjene pločastog epitelia koje nastaju zbog produktivne HPV infekcije i sinonim je za entitete: CIN 1, blaga skvamozna displazija, ravni kondilom, koilocitna atipija i koilocitoza. S obzirom da su morfološke promjene između navedenih promjena često vrlo blage, njihovo međusobno razlikovanje često je vrlo otežano i slabo reproducibilno te se danas u literaturi sve češće nalaze preporuke da ih se ne izdvaja pojedinačno iz ove skupine, nego da se svi nazivaju zajedničkim pojmom LSIL.

Dijagnoza CIN-a 2 je najslabije reproducibilna i više od polovice bolesnica s patohistološkom dijagnozom CIN-a 2 pri sljedećoj biopsiji ima CIN 3. Ove činjenice, kao i razumijevanje biološkog učinka visokorizičnih tipova HPV-a s kojima je ova lezija povezana, podupiru svrstavanje CIN-a 2 u skupinu HSIL zajedno s CIN-om 3. Nastojanje razlikovanja CIN 2 i CIN 3 lezije racionalno se može opravdati iznimno na zahtjev kliničara, ukoliko se radi o mlađoj bolesnici koja želi sačuvati sposobnost rađanja i izbjegći moguće komplikacije ekskisijske biopsije cerviksa.

**GINEKOLOŠKA CITOLOGIJA – HPV TESTIRANJE I BIOMARKERI**  
**GYNAEOLOGICAL CYTOLOGY – HPV TESTING AND BIOMARKERS**

---



# HPV TESTING IN PRIMARY CERVICAL CANCER SCREENING

Matejka Rebolj

Denmark

Over decades, mass screening with cytology has helped reduce the incidence and the mortality from cervical cancer. However, about a third of women with cervical cancer had recent normal cytology, suggesting a role for a screening test that is more sensitive for the detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN). The sexually transmitted Human Papillomavirus (HPV) is a necessary cause of cervical cancer. In many studies, HPV testing had a higher sensitivity for  $\geq\text{CIN}2$ . This means that women with a negative HPV test result have more reassurance for not developing the cancer than women with a negative test result on cytology. Only a minority of women testing positive for HPV will, however, ever develop CIN or even cervical cancer. This brings complex challenges for the management of women with positive HPV tests so as not to over-react on inconsequential infections. The usual response to this question is that triage testing is needed, so that a decision can be made on an immediate referral for colposcopy for women with "most severely" abnormal HPV-positive samples. Women with "less severely" abnormal HPV-positive samples would be recommended for repeated testing in e.g. 6 or 12 months. From a clinical perspective, this is a fairly safe approach because a majority of "less severe" abnormalities detected by HPV testing need no surgical intervention, given that they are likely to normalize on their own in a matter of months. A lot of research effort in this field is currently dedicated to finding a reasonable triage test for HPV-positive women to separate the "severe" from the "less severe" abnormalities. The candidate tests under investigation include, at present, HPV genotyping, p16, Ki67, methylation. However, at present the only validated test for triage is cytology. This means that the role of cytology may in the (near) future change dramatically from a primary screening test to a triage test.

Another question is, which HPV assay to choose? There are more than 200 available on the market. The chosen assay should offer high sensitivity for progressive CIN. Another prerequisite is a sufficient level of specificity. This translates into an acceptable proportion of screened women with false-positive screening tests, i.e. women with positive screening test results who do not have  $\geq\text{CIN}2$ . Several of the commercially available assays have a high sensitivity and moderate specificity, and they are relatively easy to use in high-throughput settings such primary screening.

One of the most challenging issues in cervical cancer screening has been a high proportion of women who do not participate. Most often, this was because they could not find the time for a screening appointment at the doctor's office, or because they felt embarrassed. For these women, HPV testing offers a new opportunity by allowing for accurate testing on samples that women take themselves, in the privacy of their own home and whenever it is most convenient.

# DESETOGODIŠNJE ISKUSTVO PRIMJENE HPV TESTA U CITOLOŠKOM LABORATORIJU KLINIČKOG BOLNIČKOG CENTRA RIJEKA

## TEN YEARS OF CYTOLOGY LABORATORY EXPERIENCE IN HPV TESTING IN CLINICAL HOSPITAL CENTRE RIJEKA

<sup>1</sup>Damjana Verša Ostojić, <sup>1</sup>Tina Markanjević, <sup>1</sup>Iva Lončar, <sup>1</sup>Snežana Štemberger-Papić,  
<sup>1</sup>Roberta Rubeša-Mihaljević, <sup>1</sup>Morana Dinter, <sup>2</sup>Emina Babarović, <sup>1</sup>Danijela Vrdoljak-Mozetić

<sup>1</sup>Zavod za kliničku citologiju, Klinički bolnički centar Rijeka, Rijeka, Hrvatska

<sup>2</sup>Zavod za opću patologiju i patološku anatomiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

**Cilj:** 2005. godine u citološki laboratorij Kliničkog bolničkog centra Rijeka uveden je Hybrid Capture 2 (HC2, QIAGEN, Njemačka) HPV DNA test kojeg izvode educirani citotehnolozi. Test se koristi kao trijažni test nakon graničnog citološkog nalaza ili u praćenju nakon ekszizijskog liječenja cervikalnih intraepitelnih neoplazija radi učinkovitijeg otkrivanja skvamozne intraepitelne lezije visokog stupnja (HSIL). Cilj rada je analizirati primjenu HPV testa u rutinskom radu citološkog laboratorija kao pomoćne metode u otkrivanju pacijentica s povećanim rizikom za HSIL.

**Materijali i metode:** Analizirani su rezultati 19459 HPV testova učinjenih u razdoblju od 2005. do 2015. godine i uspoređeni s uputnim citološkim dijagnozama postavljenim na konvencionalnom Papa testu. Također su analizirani podatci praćenja kroz šestogodišnje razdoblje za 1157 pacijentica s HPV testom u 2009. godini s obzirom na inicijalni citološki nalaz i HPV test. Pozitivan ishod predstavlja histološka dijagnoza HSIL+.

**Rezultati:** Od 19459 testova, HPV pozitivno je bilo ukupno 41,9 %, od toga 21,5 % s negativnom citologijom, 39,5 % ASCUS-a, 71,6 % ASC-H, 77,3 % LSIL-a, 86,2 % HSIL-a, 16,9 % AGC-a te 75 % AIS-a. HPV test je rijetko rađen u slučaju citološke dijagnoze karcinoma, a od 25 takvih slučajeva bio je negativan kod dva histološki verificirana karcinoma cerviksa i pet karcinoma endometrija.

Od 1157 pacijentica s HPV testom u 2009. godini 652 (56,4 %) je imalo abnormalnu citologiju, a 473 (40,9 %) pozitivan HPV test. Srednja dob bila je 37 godina (raspon 16-77 godina). Kod 213 pacijentica u šestogodišnjem praćenju učinjena je histološka analiza te je HSIL+ verificiran u 173 slučaja što je 25 % od svih inicijalno abnormalnih citoloških nalaza i 34 % pozitivnih HPV testova. HSIL+ nađen je kod 2,5 % pacijentica s inicijalno negativnom citologijom, kod 8,3 % s ASCUS-om, 10,9 % s LSIL-om, 10 % s nalazom AGC-a, 56,5 % s nalazom ASC-H, 63,5 % s HSIL-om te kod 100 % citoloških dijagnoza karcinoma. Za sve testirane uzorke, HPV test pokazao je 94,2 % osjetljivost, 68,4 % specifičnost, 34 % pozitivnu prediktivnu vrijednost i 98,5 % negativnu prediktivnu vrijednost. Refleksni HPV test u trijaži ASCUS-a pokazao je 86,2 % osjetljivost, 65,9 % specifičnost, 18,7 % pozitivnu prediktivnu vrijednost i 98,1 % negativnu prediktivnu vrijednost. U šestogodišnjem praćenju kod inicijalnog citološkog nalaza ASCUS-a u 8,3 % slučajeva verificirana je HSIL+ lezija, a uz dodatnu trijažu HPV testiranjem taj postotak raste na 18,7 %.

**Zaključak:** Rezultati pokazuju korelaciju pozitivnog HPV testa sa stupnjem citoloških dijagnoza. Visoka negativna prediktivna vrijednost potvrđila je vrijednost testa u trijaži graničnih citoloških nalaza. Informiranost citologa i kliničara o nalazu HPV testa može unaprijediti selekciju pacijentica s povećanim rizikom za HSIL lezije.

# CITOLOGIJA NOVOG DOBA – UPORABA BIOMARKERA U DOKAZIVANJU LEZIJA CERVIKSA I NJIHOVA PROGNOSTIČKA VRIJEDNOST

## NEW AGE CYTOLOGY – BIOMARKERS IMPLEMENTATION IN CERVICAL LESIONS ANALYSIS AND THEIR PROGNOSTIC VALUE

Ines Krivak Bolanča

Odjel za ginekološku citologiju Zavoda za kliničku citologiju i citogenetiku, KB „Merkur“, Zagreb, Hrvatska

Detekcijom lezija vrata maternice, citologija je dokazala svoju ulogu i vrijednost u smanjenju pojavnosti karcinoma tog organa. Međutim, u isto vrijeme su se pokazali i njezini nedostaci: u prvom redu niža osjetljivost i subjektivnost te slabija mogućnosti reproducibilnosti. Detekcija visoko rizičnih skupina HPV-a je postala važan faktor u različitim postupnicima probira protiv karcinoma cerviksa širom svijeta. Međutim, većina infekcija HPV-om su prolaznog karaktera, a metode dokazivanja ne omogućuju razlikovanje prolazne od transformirajuće infekcije koja je bitna u karcinogenezi lezija vrata maternice. Prava svrha probira je mogućnost izdvajanja samo onih pacijentica koje su u najvećoj opasnosti od razvoja kliničke bolesti. Sada je to omogućeno određivanjem tumorskih biomarkera. Određivanjem viralnog L1 kapsidnog antiga omogućeno je izdvojiti pacijentice s prolaznom infekcijom, a dokazivanjem p16INK4a antiga označavaju se one stanice kod kojih je došlo do integracije virusa u genom stanice domaćina, što rezultira genetskom nestabilnošću. Od ukupnog broja 339 ispitanica, tijekom dvogodišnjeg razdoblja, praćeno je kliničko ponašanje cervikalnih lezija kod ukupno 66 pacijentica kod kojih su citološki detektirane lezije cerviksa blažeg stupnja. Tijekom tog vremena citološke kontrole su pokazale poboljšanje citološkog nalaza kod pacijentica s pozitivnim HPVL1 i negativnim p16 protutijelom, a pogoršanje ili persistencija nalaza je statistički značajnije kod pozitivnog p16 bojenja ( $X^2 = 41,05$ ;  $p < 0,001$ ).

Jedan od načina za detektiranje onkogenih molekularnih promjena na stanici je detekcija staničnog proteina p16 i nuklearnog antiga Ki67 koji je ujedno i marker za proliferaciju. Naime, istovremena ekspresija oba protutijela u jednoj stanici označava prisutnu deregulaciju njezinog ciklusa koja nastaje kao posljedica onkogene transformacije tijekom infekcije visoko ongokenim tipom HPV virusa, a pojačana ekspresija Ki67 je dokaz pojačane proliferativnosti stanice i može utjecati na progresiju dokazane lezije vrata maternice.

Tijekom dvije godine, u razmacima od 6 mjeseci, je citološki praćeno 78 pacijentica, kod kojih je određivana ekspresija p16/Ki67 protutijela. Praćene su dvije pacijentice s citološkim nalazom ASCUS-a, 62 pacijentice s citološkim nalazom LSIL-a i 14 pacijentica s nalazom HSIL-a. Pogoršanje nalaza je uočeno kod 15/37 (40,5 %) pacijentica s pozitivnim bojenjem i LSIL-om, a kod HSIL-a, citološka dijagnoza je potvrđena PHD-om kod 10 pacijentica, a progresija i perzistencija je uočena kod četiri pacijentice. Kod pacijentica s negativnim rezultatom bojenja nije zabilježen niti jedan slučaj progresije nalaza.

Za potpuno razumijevanje dinamike razvoja premalignih promjena na vratu maternice, uz morfološku dijagnozu potrebna je potvrda o infekciji visoko onkogenim tipovima HPV-a ali i identifikacija specifičnih biomarkera koji daju informaciju o prognostičkom riziku i predviđaju kliničko ponašanje detektirane lezije. Time se statičnoj, morfološkoj klasifikaciji dodaje i dinamična komponenta interpretacije prognostičkog rizika lezije što doprinosi prilagodbi potrebne terapije i individualnom pristupu svakoj pacijentici.

# VRIJEDNOST P<sub>16</sub>/KI-67 IMUNOCITOKEMIJSKOG BIOMARKERA KOD NALAZA ATIPIČNIH GLANDULARNIH STANICA VRATA MATERNICE

## VALUE OF P<sub>16</sub>/KI-67 BIOMARKER IN ASSESSMENT OF ATYPICAL GLANDULAR CELLS OF UTERINE CERVIX

<sup>1</sup>Snježana Štemberger-Papić, <sup>1</sup>Danijela Vrdoljak-Mozetič, <sup>1</sup>Damjana Verša Ostojić,

<sup>1</sup>Roberta Rubeša-Mihaljević, <sup>1</sup>Morana Dinter, <sup>2</sup>Danko Perović, <sup>3</sup>Senija Eminović

<sup>1</sup>Zavod za kliničku citologiju, KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

<sup>2</sup>Klinika za ginekologiju i porodnišvo, KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

<sup>3</sup>Zavod za patologiju, KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

Citološka procjena glandularnih stanica vrlo je zahtjevna zbog često prisutnih upalnih ili hiperplastičnih promjena koje mogu nalikovati na neoplastične lezije. Abnormalnosti glandularnih stanica znatno su rjeđe od onih na pločastim stanicama pa je iskustvo citologa kod procjene tih lezija izuzetno važno. Kao dodatna metoda u diferencijaloj dijagnostici graničnih abnormalnih pločastih i glandularnih lezija koristi se biljeg p16/Ki-67. Njegova pojačana ekspresija može ukazati na prisustvo teških lezija vrata maternice.

**Cilj:** Procijeniti vrijednost p16/Ki-67 imunocitokemijskog bojenja u trijaži atipičnih glandularnih stanica (AGC) te otkrivanju intraepitelnih i invazivnih glandularnih karcinoma vrata maternice.

**Materijal i metode:** Analizirano je 94 uzorka konvencionalne citologije uzetih u razdoblju od siječnja 2012. do prosinca 2013. godine kod kojih je postavljena citološka dijagnoza AGC vrata maternice. Uvrštene su sve tri kategorije prema klasifikaciji „ZAGREB 2002“: vjerojatno reaktivne promjene, vjerojatno intraepitelna lezija i vjerojatno invazivna lezija. Analizirane su atipične glandularne stanice endocervikalnog i neodređenog porijekla. Svi uzorci obojani su dvojnim imunocitokemijskim bojenjem p16/Ki-67 (CINtec PLUS, Roche, Švicarska) i rezultati su uspoređeni s nalazima patohistoloških pretraga (konizacija, biopsija, eksplorativna kiretaža, histerektomija) ili s kliničkim praćenjem pacijentica u trajanju od najmanje 24 mjeseca. Kod 53 pacijentice učinjena je HPV DNA tipizacija na tipove visokog rizika (Hybrid Capture 2 test, Qiagen, Njemačka).

**Rezultati:** p16/Ki-67 imunocitokemijsko bojenje bilo je pozitivno kod 18 uzorka AGC (19,1%). HPV DNA tipizacija učinjena je kod 53/94 slučaja (56,4 % uzorka) i u 13 uzorka je bila pozitivna (24,5%). Kod 12 uzorka koji su bili p16/Ki-67 pozitivni rađena je HPV DNA tipizacija koja je u 11 slučajeva također bila pozitivna. Patohistološka pretraga učinjena je kod 40/94 pacijentica (42,6 % uzorka). Od 16 histološki potvrđenih *in situ* i invazivnih adenokarcinoma vrata maternice u 15 slučajeva p16/Ki-67 imunocitokemijsko bojenje bilo je pozitivno, dok je kod jednog slučaja mucinoznog adenokarcinoma (gasterični tip) reakcija bila negativna.

Na osnovi korelacijske analize p16/Ki-67 imunocitokemijskog bojenja i patohistoloških nalaza ili podataka o kliničkom praćenju pacijentica za dijagnostiku svih malignoma (vrata maternice, tijela maternice, jajnika i jajovoda) dobivena je osjetljivost od 66,7 %, specifičnost od 97,1 %, pozitivna prediktivna vrijednost od 88,9 %, te negativna prediktivna vrijednost od 89,5 %. Ukoliko određujemo vrijednosti samo za malignome vrata maternice („pročišćeni“ rezultati) p16/Ki-67 imunocitokemijsko bojenje ima osjetljivost od 88,2 %, specifičnost od 96,1 %, pozitivnu prediktivnu vrijednost od 83,3 %, te negativnu prediktivnu vrijednost od 97,4 %.

**Zaključak:** Rezultati p16/Ki-67 imunocitokemijskog bojenja na citološkim uzorcima AGC-a pokazuju visoku osjetljivost i specifičnost, pa je ovo bojenje potencijalno korisna metoda u otkrivanju i diferencijalnoj dijagnozi endocervikalne neoplazije.

# ULOGA GINEKOLOŠKOG ONKOLOGA U MULTIDICIPLINARNOM PRISTUPU LIJEČENJA RAKA VRATA MATERNICE

## THE ROLE OF GYNECOLOGIC ONCOLOGIST IN MULTIDISCIPLINARY APPROACH OF CERVICAL CANCER TREATMENT

Herman Haller, Alemka Brnčić-Fischer, Danko Perović, Marko Klarić, Danilo Vejnović,  
Lana Glavan Gačanin

Klinika za ginekologiju i porodništvo, Kliniki bolnički centar Rijeka, Rijeka, Hrvatska  
Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

Ginekološki onkolazi imaju nezaobilaznu ulogu u liječenju malignih bolesti ženskog spolnog sustava. U jedinstvenom su položaju da obogate globalnu zdravstvenu zajednicu u koju je uključena mogućnost za dalnjim obrazovanjem, provođenje potrebne i specifične naobrazbe i treninga kao i donošenje terapijskih odluka. Osim toga, ginekološki onkolazi su u povlaštenom položaju u odlučivanju o integraciji i provođenju svih modaliteta liječenja, a pritom prvenstveno mislimo na kiruršku terapiju. Specijalizirani liječnici – uži specijalisti ginekološke onkologije rade u multidisciplinarnim timovima u kojima sudjeluju citolozi, specijalizirani patolozi, radiolozi, radioterapeuti i medicinski onkolazi, klinički psiholozi, digestivni i opći kiruzi, te urolozi. Tako organizirani multidisciplinarni timovi imaju sve pretpostavke za provođenje uspješnog liječenja i postizanju najboljih kliničkih i onkoloških rezultata mjerljivih putem pet-godišnjeg preživljjenja kao i postizanja kvalitete življenja. Ovakav multidisciplinarni pristup ne samo da igra važnu ulogu u odabir najoptimalnijeg liječenja, već može pružiti i bolju ukupnu kvalitetu skrbi koja se mora osigurati bolesnica oboljelih od malignih bolesti ženskog spolnog sustava. Rak vrata maternice se u svijetu na godišnjoj razini dijagnosticira u preko 500.000 slučajeva i svake godine umre oko 55 %. Tijekom 2013. godine u Hrvatskoj se rak vrata maternice dijagnosticirao u 339 slučaja, od čega je 25 % žena bilo u reproduktivnoj dobi. U Rijeci od 990 dijagnosticiranih slučajeva raka vrata amternice sa prosjekom dobi od 48 godina starosti čak njih 50,2 % je bilo u reproduktivnoj dobi. Postoje velike razlike u provođenju preventivnih programa ranog otkrivanja raka vrata maternice što izravno utječe na pojavnost bolesti. U zemljama sa kvalitetnim programom prevencije i rane detekcije većina bolesnica se otkriva u ranoj fazi kada je stopa pet-godišnjeg preživljjenja blizu 90 %. Postoje dokazi koji ukazuju da je liječenje u većim centrima sa većim brojem bolesnica učinkovitije, posebno za slučajeve uznapredovalog oblika bolesti.

Kirurško liječenje u koje važnu ulogu imaju ginekološki onkolazi uključuje liječenje raka vrata maternice bolesnica s nezavršenom reproduksijskom funkcijom i željom za budućim potomstvom, bolesnice s operabilnim stadijima bolesti (IA<sub>1</sub> – IB<sub>1</sub>, te odabrani slučajevi stadija IB<sub>2</sub>, II<sub>A2</sub> i II<sub>B</sub>), bolesnica s inoperabilnim stadijima u smislu staging operacijskih zahvata, te konačno u bolesnica s povratom bolesti – centralni povrat bolesti u zdjelici.

U ranom stadiju raka vrata maternice konzervativni zahvat poput konizacije u većini slučajeva je dostatan za rješavanje bolesti, a istovremeno osigurava se mogućnost ostvarivanja reprodukcije. U FIGO stadiju IA<sub>2</sub> i ranom IB<sub>1</sub> stadiju (veličine tumora do 2 cm) dolazi u obzir također konzervativni operacijski zahvat – laparoskopske limfadenektomije i jednostavne odnosno radikalne trahelektomije. U novije se vrijeme javljaju pokušaji primjene neoadjuvantne kemoterapije i primjene radikalne trahelektomije za stadije IB<sub>1</sub> s promjerom tumora većim od 2 cm do stadij IB<sub>2</sub>. Radikalna histerektomija sa zjeličnom limfadenektomijom ostaje kirurški standard za FIGO stadije IB<sub>1</sub> i II<sub>A1</sub>, te pojedine slučajeve stadija IB<sub>2</sub> i II<sub>A2</sub>. FIGO stadiji II<sub>B</sub> potebuju individualnizirani pristup u odabir način liječenja – standardna kemoiradijacija odnosno kirurški operacijski zahvat radikalne histerektomije sa zdjeličnom i para-



aortnom limfadnektomijom. Pitanje konzervacije i transpozicije jajnika u slučaju raka vrata maternice je opcija u mlađih bolesnica do 45 godine života. Inoperabilnim stadijima bolesti (FIGO stadij – odabrani IIB, te IIIA i IIIB) može se ponuditi staging laparoskopske operacije radi utvrđivanja postojanja eventualnim limfogenih metastaza. Uznapredovali stadiji IVA i IVB potrebuju individualizirani pristup. U bolesnica s centralnim povratom bolesti može se ponuditi i kirurško rješenje egzenteracije zdjelice sa svim svojim mogućim prednostima i komplikacijama.

Zaključno, uži specijalisti ginekološke onkologije imaju nezaobilaznu ulogu u multidisciplinarnom timu koji sudjeluje u liječenju bolesnica s rakom vrata maternice. Ginekološki onkolozi imaju također važnu ulogu u edukaciji i prijenosu znanja njihovim kolegama. Edukacija je specifična i potrebno je dulje razdoblje upoznavanja, proučavanja, treniranja, primjene stačenih znanja, te konačno praćenja bolesnica s rakom vrata maternice, a sve sa ciljem osiguranja boljih rezultata preživljjenja i postizanja zadovoljavajuće kvalitete življena.

**GINEKOLOŠKA CITOLOGIJA – CITOLOGIJA VULVE, ANALNA  
CITOLOGIJA, CITOLOGIJA ENDOMETRIJA**

**GYNAEOLOGICAL CYTOLOGY – VULVAR, ANAL, ENDOMETRIAL  
CYTOLOGY**



# VULVARNA INTRAEPITELNA NEOPLAZIJA (VIN) SIMPLEX – KLINIČKO-CITOLOŠKO-HISTOLOŠKA KORELACIJA

## *VULVAR INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA (VIN) SIMPLEX – CLINICAL-CYTOLOGIC-HISTOLOGIC CORRELATION*

<sup>1</sup>Lada Škopljanc-Maćina, <sup>1</sup>Vesna Mahović, <sup>1</sup>Ana Barišić, <sup>1</sup>Sanda Rajhvajn,

<sup>1</sup>Danijela Jurić, <sup>1</sup>Ivana Šamija Projic, <sup>3</sup>Joško Zekan, <sup>2</sup>Damir Babić

<sup>3</sup>Odjel za ginekološku citologiju, Klinički zavod za patologiju i citologiju, KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Odjel za ginekološku patologiju i perinatologiju, Klinički zavod za patologiju i citologiju, KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup>Klinika za ženske bolesti i porode, KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska

**Uvod:** Vulvarna intraepitelna neoplazija (VIN) simplex ili dVIN (diferencirani VIN) rijetko se dijagnosticira, a smatra se prekursorom HPV negativnog orožnjavajućeg planocelularnog karcinoma stidnice. Ovaj tip raka stidnice javlja se u starijoj životnoj dobi, češći je u populaciji i ima lošiju prognozu, za razliku od HPV pozitivnog planocelularnog karcinoma mlađe dobi. VIN simplex često je povezan s kroničnim benignim promjenama kože stidnice (lichen sclerosus, hyperplasia squamosa i lichen simplex chronicus) i subjektivnim tegobama. Inspekcijom vulve nalaze se nespecifične promjene, te se VIN simplex klinički preklapa sa benignim promjenama. Citološki, VIN simplex se izrazito rijetko opisuje u literaturi. Identificiraju se velike atipične stanice s ekscentričnim jezgrama i prominentnim nukleolima, te relativno obilnim citoplazmama, ali isto tako citološki nalazi mogu biti potpuno nesuspektni, kao i sumnjivi na premaligne i maligne lezije. Histološki VIN simplex kao vrlo diferencirana promjena također predstavlja dijagnostički problem i zahtijeva iskustvo u tom području.

**Prikaz slučaja:** Pacijentica dobi 70 godina prvi put je pregledana u Klinici u listopadu 2010. godine, zbog suspektnih promjena na stidnici, kada je Collinsonov test bio slabo pozitivan, a citologija obriska je upućivala na VIN I-II. Nakon 6 mjeseci Collinsonov test bio je pozitivan, citološki nalaz negativan u oskudnom uzorku, a nalaz biopsije sa suspektnog mjesta opisuje: „na površini blago akantotičan višeslojni pločasti epitel poremećenog bazalnog sloja s eozinofilnim citoplazmama te istaknutim intercelularnim mostićima, pozitivan na Ki67 i p53 u bazalnom sloju“. U sljedeće dvije godine imala je pet citoloških nalaza, od kojih su dva bila negativna i oskudna te tri od VIN I do VIN II. U 2014. godini kontrolni citološki nalaz je ASC-H ( atipične skvamozne stanice, skvamozna intraepitelna lezija visokog stupnja se ne može isključiti), dominirale su atipične orožnjele stanice. Učini se preporučena biopsija, a histološki su „opisane promjene koje upućuju na VIN simplex“. Tijekom 2015. godine u tri obriska perzistira citološki nalaz ASC-H, te se u siječnju 2016. godine učini ekskizija anteromedijalnog dijela stidnice sa suspektnim promjenama (veličine 5x2x0,9 cm ). Histološki nalaz potvrđuje prethodno opisani VIN simplex, a promjene mjestimice dopiru neposredno do ruba resekcije.

**Zaključak:** Kronične benigne promjene na stidnici kod žena u starijoj životnoj dobi mogu biti udružene sa VIN simplex. Za njegovo otkrivanje, uz primjereno citološki uzorak uzet četkicom i Collinson test, preporuča se i primjena vulvoskopije, u svrhu ciljanog uzimanja histološkog uzorka kao „zlatnog standarda“.

# USPOREDBA CITOLOGIJE STIDNICE KROZ DVA RAZDOBLJA VULVAR CYTOLOGY COMPARING TWO PERIODS

<sup>1</sup>Ana Barišić, <sup>1</sup>Vesna Mahovlić, <sup>1</sup>Lada Škopljanc-Maćina, <sup>1</sup>Sanda Rajhvajn,  
<sup>1</sup>Danijela Jurič, <sup>1</sup>Ivana Šamija Projić, <sup>1</sup>Iris Fabijanić, <sup>2</sup>Joško Zekan, <sup>3</sup>Damir Babić

<sup>1</sup>Odjel za ginekološku citologiju, Klinički zavod za patologiju i citologiju, KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Klinika za ženske bolesti i porode, KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup>Odjel za ginekološku patologiju i perinatologiju, Klinički zavod za patologiju i citologiju, KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska

**Cilj rada:** Usporediti adekvatnosti citološkog obriska sa stidnice ovisno o načinu uzimanja.

**Materijal i metode:** Analizirani su citološki nalazi obriska stidnice uzeti u dva razdoblja u trajanju od 18 mjeseci: od 1.7.2011. do 31.12.2012. godine te od 1.7.2014. do 31.12.2015. godine i s obzirom na to da li su uzeti u ginekološkoj ordinaciji primarne zdravstvene zaštite (primarna ordinacija) ili u onkološkoj ambulanti Klinike za ženske bolesti i porode KBC Zagreb (onkološka ambulanta). U studiju su uključene ordinacije sa >10 uzoraka /18 mjeseci. U prvom periodu u primarnim ordinacijama uzorci su uzimani na uobičajen način drvenom špatulom (N = 185). Endocervikalnom četkicom, nakon vlaženja promjena fiziološkom otopinom, najčešće su uzeti uzorci u onkološkoj ambulanti u oba perioda (N = 685; N = 708) kao i u nekim primarnim ordinacijama u drugom periodu (N = 140).

**Rezultati:** U primarnim ordinacijama, uspoređujući prvo i drugo razdoblje, bilo je 14,59 % (27/185) odnosno 5,71 % (8/140) nezadovoljavajućih, preoskudnih uzoraka za citološku analizu (nezadovoljavajući). Zadovoljavajućih, ali oskudnih uzoraka (oskudni) nađeno je 22,16 % (41/185) odnosno 20,71 % (29/140); u prvom razdoblju bilo je 68,29 % (28/41) negativnih na intraepitelnu ili invazivnu leziju (negativni) te 31,72 % (13/41) s abnormalnim stanicama (abnormalni), a u drugom 79,31 % (23/29) negativnih odnosno 20,69 % (6/29) abnormalnih. Zadovoljavajućih, primjerenih uzoraka nađeno je 57,29 % (106/185) odnosno 59,28 (83/140); u prvom razdoblju 50,94 % (54/106) negativnih te 49,06 % (52/106) abnormalnih nalaza, a u drugom razdoblju 73,49 % (61/83) negativnih i 26,50 % (22/83) abnormalnih. U onkološkoj ambulanti nezadovoljavajućih uzoraka u dva razdoblja bio je 4,82 % (33/685) odnosno 3,39 % (24/708). Oskudnih uzoraka je bilo 11,24 % (77/684) odnosno 7,91 % (56/708); u prvom razdoblju nađeno je 71,43 % (55/77) negativnih i 28,57 % (22/77) abnormalnih citoloških nalaza, a u drugom 76,78 % (43/56) negativnih i 23,22 % (13/56) abnormalnih. Među zadovoljavajućim, primjerenim uzorcima (80,00 %; 548/685 odnosno 84,32 %; 597/708) bilo je u prvom periodu 67,34 % (369/548) negativnih te 32,66 % (179/548) abnormalnih nalaza odnosno 77,21 % (461/597) negativnih i 22,78 % (136/597) abnormalnih u drugom razdoblju.

**Zaključak:** Uzimanjem uzorka sa stidnice za citološku analizu endocervikalnom četkicom uz prethodno vlaženje stidnice fiziološkom otopinom dobivaju se mnogo celularniji razmazi nego drvenom špatulom. Ginekolozi koji češće uzimaju uzorake za citološku analizu sa stidnice imaju i više iskustva u tome pa su im i uzorci celularniji, a citološka analiza je adekvatnija, sa manje abnormalnih nalaza. Citologija stidnice ne može zamijeniti biopsiju, ali kao jednostavna, neinvazivna i bezbolna metoda može pomoći u pronaalaženju i praćenju žena koje imaju povećan rizik od razvoja neoplastičnih bolesti stidnice.

## NE-NOVOTVORINSKE PROMJENE STIDNICE

<sup>1</sup>**Suzana Katalenić Simon**, <sup>1</sup>**Ines Krivak Bolanča**, <sup>1</sup>**Karmela Šentija**, <sup>2</sup>**Anita Škrtić**,  
<sup>3</sup>**Gojko Zovko**

<sup>1</sup> Odjel za ginekološku citologiju, Zavod za kliničku citologiju i citogenetiku, KB Merkur, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup> Klinika za patologiju i citologiju, KB Merkur, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup> Klinika za ženske bolesti i porode, KB Merkur, Zagreb, Hrvatska

Ne-novotvorinske promjene stidnice predstavljaju entitet u grupi neinfekcijskih papuloskvamoznih dermatозa koje zajedno s grupom infekcijskih i buloznih dermatозa koriste citologiju kao poveznicu između kliničara i histopatologa. Pošto se dijagnoza svih tih benignih lezija temelji jedino na patohistološkim preparatima postavlja se pitanje koja je uloga citologije u ne-novotvorevinskim promjenama stidnice? Naime, promjene koje se javljaju na epidermisu, kao posljedica poremećaja sazrijevanja, mijenjaju normalni oružnjeli epitel. Lezije se klinički najčešće očituju bijelim mrljama (leukoplakijom). Simptomi su obično pruritus, bol, dispareunija, pečenje. I mada se mogu javiti kod djece, najčešće se javljaju u postmenopausalnom razdoblju te mogu dovesti do suženja introitusa i sljepljivanje malih usana. Često se javljaju uz VIN i karcinom. Bilo da su promjene suhe, vlažne ili ulcerirane, jednostavno je uzimanje uzoraka za citološku analizu, s mogućnošću ponavljanja, te uz adekvatan materijal, citološki nalaz predstavlja vodilju kliničaru za praćenje promjene lezije i/ili daljni postupnik; odnosno za praćenje nakon histološke verifikacije, gdje nastojimo pravovremeno uočiti razvoj diskarioze na pločastim epitelnim stanicama. Posebnu pažnju zahtjevaju ne-novotvorinske promjene stidnice ili lichen sclerosus. Naime, iako se ističe da se radi o lezijama koje nemaju zločudni potencijal, lichen sclerosus je povezan s pločastim karcinomom (61% pacijenata s karcinomom ima lichen sclerosus te 9% pacijentica sa simptomatskim lichenom razvije VIN lezije i 21% invazivni karcinom prema Leibowitch i sur.). Vremenski medijan od simptomatskog lichena do razvoja karcinoma kreće se oko 4 godine. Dakle, postoji vremenski interval u kojem možemo pravodobno izdijagnosticirati prekancerozne lezije i smanjiti pojavnost pločastog karcinoma stidice. Kod pacijentica s patohistološkom verifikacijom lichena upravo klinički pregled i citološka analiza omogućuje praćenje razvoja lezije po algoritmu svakih šest mjeseci. Citološki obrisci stidnice se očituju izraženom površinskom reakcijom u obliku hiperkeratoze, koja se javlja u grudičastim nakupinama; parakeratozom te pločastim stanicama gotovo svih slojeva pločastog epitela ponekad s povećanim i diskariotičnim jezgrama. Upravo su te stanice koje dijagnosticiramo kao VIN simplex ili HSIL te zahtjevaju daljnje praćenje ili obradu pacijentice. U entitetu benignih promjena stidnice još se izdvajaju infekcijske dermatозe u kojima citologija daje brze informacije kliničaru o uzročnicima (gljivice, gardnerella, miješana flora, HPV) s popratnom upalnom i površinskom reakcijom epitela (hiper i parakeratoza). Kod buloznih dermatозa uz kliničku sliku i stadij bolesti (mjehurići ili kasnije ulceracije), uzorci za citološku analizu budu prilično oskudni s manjom površinskom reakcijom epitela, s mogućim identificiranjem uzročnika (HSV) te nalazom „tombstone“ bazalnih stanica (pemphigus), koje nas uvijek zavedu diferencijalno dijagnostički prema HSIL-u ili pločastom skvamoznom karcinomu. U suradnji s kliničarem, pravovremeno i adekvatno uzorkovanje te pažljivom citološkom analizom možemo dijagnosticirati razvoj vulvarnih intraepitelnih lezija te spriječiti razvoj ne-novotvorinskih promjena stidnice u teže dijagnoze i razvoj invazivnog karcinoma.

# **POČETNA ISKUSTVA U ANALNOJ CITOLOGIJI: UZORKOVANJE, OBRADA MATERIJALA I STRUKTURIRANJE NALAZA**

## ***INITIAL EXPERIENCE WITH ANAL CYTOLOGY: SAMPLING, PROCESSING AND REPORTING***

**<sup>1</sup>Roberta Rubeša-Mihaljević, <sup>1</sup>Morana Dinter, <sup>1</sup>Damjana Verša Ostojić,**

**<sup>1</sup>Snježana Štemberger-Papić, <sup>2</sup>Marko Klarić, <sup>3</sup>Gordan Lakoš, <sup>1</sup>Danijela Vrdoljak-Mozetič**

<sup>1</sup>Zavod za kliničku citologiju, KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

<sup>2</sup>Klinika za ginekologiju i porodništvo, KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

<sup>3</sup>Klinika za dermatovenerologiju, KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

**Cilj:** Analna citologija se sve više primjenjuje u otkrivanju preinvazivnih i invazivnih lezija analne sluznice osobito u visoko rizičnoj populaciji. Unatoč činjenici da je još 2001. godine uključena u Bethesda sustav klasifikacije, mnogi laboratoriji ne rade analizu ovog tipa uzorka i nisu upoznati s njihovim mogućnostima. Cilj ovog rada je prikazati učinkovitost analnog Papa testa kao testa probira za analne displazije u bolesnika s povećanim rizikom od analnog karcinoma i prezentirati naša početna iskustva tijekom prve godine primjene.

**Materijali i metode:** Analizirani su analni Papa testovi zaprimljeni iz kolposkopske i dermatovenerološke ambulante u laboratorij Zavoda za kliničku citologiju kao test probira za analne displazije kod muškaraca i žena. Definiran je optimalan način uzimanja, obrade uzorka, adekvatnost materijala kao i način strukturiranja citološkog nalaza. Analiziran je broj i postotak abnormalnih nalaza u odnosu na ukupan broj uzorka, kao i rezultati HPV testiranja. Analizirana je povezanost između abnormalnih cervikalnih citoloških nalaza s istodobnom detekcijom analnih intraepitelnih lezija.

**Rezultati i zaključak:** Sveukupno je obrađeno 30 uzorka. Analiza uzorka tehnikom tekuće citologije pokazala se optimalnom metodom uzimanja i obrade što je rezultiralo malim brojem neprimjerenih uzorka (3%). Ukupan broj abnormalnih nalaza bio je 27 % pri čemu je većina ulazila u kategoriju ASCUS(10 %) i LSIL/AIN1(7 %). U samo jednom slučaju detektirana je analna intraepitelna lezija visokog stupnja. Kod pacijentica obrađivanih u kolposkopskoj ambulanti zbog promjena u Papa testu u jednom slučaju detektiran je istovremeno i abnormalni analni Papa. Iskustvo našeg laboratorija potvrđuje primjenjivost analnog Papa testa kao metode probira za intraepitelne lezije analnog kanala.

# **ENDOMETRIAL PIPELLE BIOPSY**

**Senija Eminović**

Department of pathology, Clinical Hospital Centre Rijeka, Rijeka, Croatia

---

Abnormal uterine bleeding is one of the major gynaecological problems so endometrial biopsy is an essential procedure in women having abnormal uterine bleeding. Endometrial biopsy can be taken either by a curette under general anaesthesia, or by a Pipelle sampler, as a more simple procedure. Dilatation and curettage is the "gold" standard for endometrial sampling, however, it is an aggressive method and some complications can occur during and after the procedure. Possible complications include bleeding, uterine perforation, cervical laceration, post procedural infection, intrauterine adhesions or anesthetic complications. This has resulted in developing of new and simple methods for endometrial sampling. Various devices are on market at the present time. One of those is the Pipelle device. It is a thin plastic suction tube, 3mm in diameter which has a 2.4 mm or smaller side port at the distal end, through which the endometrial sample is obtained. It is a low-pressure endometrial suction device. Because of its design and flexibility, it does not require general anaesthesia, analgesia or cervical dilatation. With the Pipelle, it takes only a few minutes to perform the biopsy (it is similar to having a smear test). It is most convenient, causing less pain and has very low risk of perforation compared with other devices. It is a cost effective and safe procedure and has many advantages comparing to curettage. However, it has some disadvantages and limitations. Using Pipelle device, some focal lesions like endometrial polyp or submucosal leiomyoma, can be missed. Also, the specimen obtained by Pipelle sampler can be, in some cases, 'unassessable', with very scant tissue. Pipelle can be used for diagnostic purposes, and has no therapeutic benefits. Anyway, despite of these facts, endometrial sampling with Pipelle is widely used in the investigation of perimenopausal and postmenopausal women with abnormal uterine bleeding. It has high sensitivity and specificity for detection of endometrial hyperplasia and endometrial adenocarcinoma so endometrial sampling using Pipelle could replace conventional methods.

# ENDOMETRALNE STANICE U VCE RAZMAZU – ZNAČAJ I DALJNA OBRADA

**Karmela Šentija, Suzana Katalenić Simon, Ines Krivak Bolanča**

Odjel za ginekološku citologiju, Zavod za kliničku citologiju i citogenetiku, KB Merkur, Zagreb, Hrvatska

Iako je karcinom endometrija najčešći malignom genitalnog trakta žene, ne postoji djelotvoran skrining test za detekciju premalignih lezija endometrija. Endometralne stanice mogu se naći u VCE razmazima žena generativne dobi, u peri i postmenopauzalnom razdoblju. Nalaz endometralnih stanica u VCE razmazu kod žena generativne dobi smatra se normalnim u proliferacijskoj fazi do 13. dana ciklusa, kod nosioca IUD-a, mioma uterusa. Morfološki, eksfolirane endometralne stanice mogu biti urednog, atipičnog ili malignog izgleda. Često eksfoliraju zajedno sa tkivnim histiocitima i stanicama strome, praćeni upalnim stanicama. Morfologija endometralnih stanica mijenja se ovisno o hormonalnom statusu. Dijagnostika endometralnih stanica u VCE razmazima je ponekad otežana radi sličnosti sa stanicama endocervikalnog cilindričnog epitela, histiocitima, stomalnim stanicama, limfocitima i parabazalim stanicama.

Značaj nalaza endometralnih stanica u VCE razmazu ovisi primarno o morfologiji stanica, dobi žene, citohormonalnom statusu, prisutnim kliničkim simptomima.

Po preporuci Bethesda sustava 2001 potrebno je navoditi uredne endometralne stanice u VCE razmazu kod žena starih 40 i više godina bez obzira na citohormonalni status, te prisustvo atipičnih endometralnih stanica bez obzira na dob i menstrualni ciklus u kategoriji atipičnih glandularnih stanica. Ukoliko se endometralne cilindrične stanice uredne morfologije nađu kod žena generativne dobi izvan ciklusa bez prisutnih simptoma, nemaju klinički značaj te nije potrebna daljnja dijagnostička obrada. Istraživanja su pokazala da nalaz endometralnih stanica uredne morfologije kod asimptomatskih žena u premenopauzi stare 40 god i više, također nema kliničkog značaja i ne nose rizik od patoloških promjena endometrija te se u tim slučajevima preporuča samo konzervativno praćenje. Kod nalaza urednih endometralnih stanica u VCE razmazu kod žena u generativnoj dobi i postmenopauzi ukoliko su prisutni simptomi, najčešće nepravilno vaginalno krvarenje, potrebna je daljnja dijagnostička obrada.

Nalaz urednih endometralnih stanica kod asimptomatskih žena u postmenopauzi ima klinički značaj i zahtijeva daljnju dijagnostičku obradu. Iako rijetko, uredne endometralne stanice bez drugih znakova maligniteta mogu se naći u VCE razmazima asimptomatskih žena s premalignim i malignim lezijama endometrija. Morfološki atipične endometralne stanice u VCE razmazu zahtijevaju daljnju obradu, klinički pregled, direktni uzorak endometrija, kiretažu i patohistološku verifikaciju. Nalaz malignih stanica zahtijeva patohistološku verifikaciju. Nalaz endometralnih cilindričnih stanica u pre i postmenopauzi uz prisutne kliničke simptome zahtijeva u svakom slučaju daljnju dijagnostičku obradu. Incidenciju nalaza endometralnih cilindričnih stanica kod asimptomatskih žena u populaciji RH istražili smo u okviru nacionalnog probira za rano otkrivanje raka vrata materinice. U prvom ciklusu probira obrađeno je ukupno 3771 žena. Endometralne stanice u premenopauzalnih žena izvan ciklusa nađene su samo u jednom slučaju, kao i atipične endometralne stanice. U postmenopauzi nađene su u 7 slučajeva te dva AGCUS-a i jedan adenokarcinom. Kod svih je indicirana daljnja obrada. U jednom slučaju se radilo o endometralnom polipu, dok o ostalim nema podataka o dalnjim dijagnostičkim postupcima. Budući da probir traje svega 3 godine, radi se o prospektivnoj studiji koja će pratiti razvoj patologije endometrija tijekom praćenja.

# DIREKTNA CITOLOGIJA ENDOMETRIJA U JEDNODNEVNOJ GINEKOLOŠKOJ KLINICI

## DIRECT ENDOMETRIAL CYTOLOGY IN ONE-DAY GYNECOLOGY CLINIC

<sup>1</sup>**Morana Dinter, <sup>1</sup>Snježana Štemberger-Papić, <sup>1</sup>Damjana Verša-Ostojić,**

<sup>1</sup>**Roberta Rubeša-Mihaljević, <sup>2</sup>Maja Krašević, <sup>3</sup>Miljenko Manestar, <sup>1</sup>Danijela Vrdoljak-Mozetič**

<sup>1</sup>Zavod za kliničku citologiju, KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

<sup>2</sup>Zavod za opću patologiju i patološku anatomijsku, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

<sup>3</sup>Klinika za ginekologiju i porodništvo, KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

**Cilj** ovog rada je analizirati primjenu četkanja endometrija *uterobrush* (UB) metodom kod pacijentica s potrebom evaluacije endometrija u jednodnevnoj klinici kao i u ostaloj bolničkoj i vanbolničkoj praksi sa svrhom procjene vrijednosti metode u usmjeravanju kliničkog postupka u donošenju odluke o potrebi za kiretažom endometrija.

**Materijali i metode:** U razdoblju od siječnja 2013. do prosinca 2014. godine analizirano je ukupno 694 pacijentica s UB-om uključujući pacijentice obrađivane u jednodnevnoj ginekološkoj klinici. U sklopu jednodnevne kliničke i ultrazvučne obrade pacijentica sa sumnjom na promjenu endometrija koje nemaju jasnu indikaciju za kiretažu endometrija, ginekolog koristi citodiagnostiku endometrija. UB metoda je manje invazivna pretraga koja ne zahtijeva primjenu anestezijskih postupaka u usporedbi s kiretažom. Takvi citološki uzorci obrađuju se unutar 2 sata te se već nakon kratkog vremena može donijeti odluka o potrebi kiretaže ili otpustu pacijentice.

Analizirani citološki nalazi UB podijeljeni su u četiri kategorije: negativan nalaz (endometrijske stanice inaktivnog, proliferativnog, sekretornog ili hiperplastičnog tipa bez atipije), nalaz atipičnih glandularnih stanica, suspektan nalaz (sumnja na malignu bolest) i pozitivan (nalaz malignih stanica). Analizirani su dob, menstruacijski status pacijentica i citološko-histološka korelacija. Nalazi su uspoređeni s patohistološkim nalazima kiretmana i/ili s kliničkim praćenjem u trajanju od 6 do 36 mjeseci.

**Rezultati:** Srednja dob pacijentica bila je 60 godina (raspon 27-88), od kojih je 586 (84 %) bilo u posmenopauzi, 73 (11 %) u perimenopauzi i 35 (5 %) u premenopauzi.

Neadekvatnih uzoraka bilo je 59 (8,5 %). Citološki negativan nalaz nađen je kod 597 (86 %), atipične glandularne stanice kod 22 (3,2 %), suspektan nalaz kod 5 (0,7 %), a pozitivan nalaz malignih stanica kod 11 (1,6 %) pacijentica.

Na osnovi korelacije nalaza pacijentica s histološkom pretragom ili dostupnim podacima o praćenju (N = 386) za dijagnostiku raka endometrija *uterobrush* metodom dobivena je osjetljivost od 73,9 %, specifičnost 95,3 %, pozitivna prediktivna vrijednost 50 % te negativna prediktivna vrijednost 98,3 %.

Dodatnom analizom pacijentica iz jednodnevne ginekološke klinike (N = 85) u 60 (70,6 %) slučjeva citološki nalaz UB otklonio je potrebu za zahvatom eksplorativne kiretaže, kod 16 (18,8 %) indicirana je kiretaža, dok je 9 (10,6 %) pacijentica kiretirano ali je dobiveni materijal bio neadekvatan za procjenu endometrija.

**Zaključak:** Naši rezultati ukazuju na visoku vrijednost *uterobrush* direktne citologije u dijagnostici promjena endometrija u jednodnevnoj klinici, bolničkoj i vanbolničkoj praksi. Negativna prediktivna vrijednost od 98,3 % ukazuje na visoki postotak nalaza koji ne zahtijevaju invazivne zahvate. U jednodnevnoj ginekološkoj klinici kod pacijentica je brzom i pouzdanom obradom proveden dijagnostičko-terapijski postupak unutar jednog dana.

# DIJAGNOSTIČKA VRIJEDNOST CITOLOGIJE ENDOMETRIJA TAO BRUSH METODOM

## DIAGNOSTIC VALUE OF ENDOMETRIAL CYTOLOGY USING TAO BRUSH METHOD

<sup>1</sup>Ivana Šamija Projić, <sup>1</sup>Sanda Rajhvajn, <sup>1</sup>Lada Škopljanac-Maćina, <sup>1</sup>Ana Barišić,

<sup>1</sup>Danijela Jurić, <sup>1</sup>Iris Fabijanić, <sup>2</sup>Damir Babić, <sup>1</sup>Vesna Mahovlić

<sup>3</sup>Odjel za ginekološku citologiju, Klinički zavod za patologiju i citologiju, KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Odjel za ginekološku patologiju i perinatologiju, Klinički zavod za patologiju i citologiju, KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska

**Cilj:** utvrditi dijagnostičku vrijednost citoloških uzoraka endometrija dobivenih TaoBrush metodom usporedbom citoloških i patohistoloških rezultata.

**Materijal i metode:** U razdoblju od 01.07.2011. do 30.06.2015. evaluirano je, kod 182 bolesnice, 190 direktnih citoloških uzoraka endometrija uzetih četkicom (Tao brush). Učinjena su četiri citološka razmaza, a ostatak uzorka, zajedno s četkicom, uronjen je u tekuću otopinu (Cytolyt, Cytyc, Co) za doradu ne-ginekoloških uzoraka metodom tekućinske citologije. Centrifugiranjem u citocentrifugi (Sakura, Cyto-tek, Japan) učinjena su najmanje dva sedimenta i/ili razmaza sedimenta uzorka. Citološki uzorci obojeni su standardnim citološkim bojanjem (Papanicolau, Pappenheim).

Citološki i patohistološki nalazi klasificirani su kao nezadovoljavajući, benigni (funkcionalni endometrij, polip), hiperplazija bez atipije, hiperplazija s atipijom, suspektni i maligni. U evaluaciji osjetljivosti (O), specifičnosti (S), pozitivne (PV+) i negativne prediktivne vrijednosti (PV-) te dijagnostičke točnosti (DT), benigni nalaz i hiperplazije bez atipije ocijenjene su kao negativan nalaz, dok su atipična hiperplazija, suspektni i maligni uzorak smatrani pozitivnim nalazom.

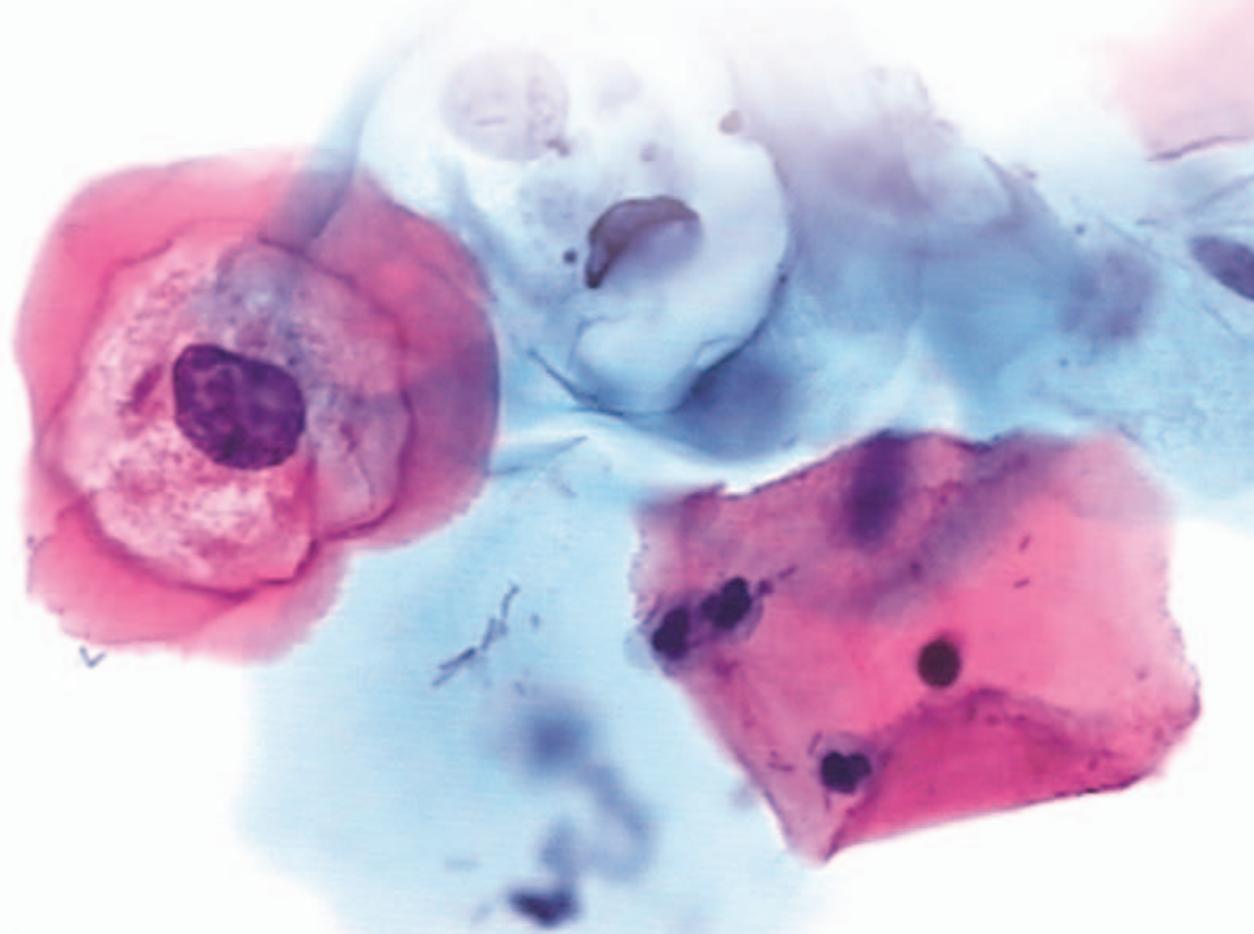
**Rezultati:** Nezadovoljavajući citološki nalaz identificiran je u 13,7 % (26/190) uzoraka. Većina zadovoljavajućih citoloških nalaza bila je benigna (60,5 %; 115/190), slijedi hiperplazija bez atipije (16,8 %; 32/190), hiperplazija s atipijom (2,1 %; 4/190), te suspektni (3,7 %; 7/190) i maligni citološki nalaz (3,2 %; 6/190). Frakcionirana eksplorativna kiretaža bila je indicirana kod 28,9 % (55/182) ispitanica, ali je 18,2 % (10/55) kiretmana bilo preoskudno za patohistološku analizu. Isključenjem nezadovoljavajućih uzoraka, citološko-patohistološka korelacija učinjena je kod 40 ispitanica.

Od 16 citološki benignih nalaza samo u jednom je histološki nađena hiperplazija bez atipije. Kod 14 ispitanica s citološkim nalazom hiperplazije bez atipije, patohistološki je dijagnosticirano 12 benignih nalaza (uključujući 7 polipa i 1 adenomiozu), 1 hiperplazija bez atipije i 1 atipična hiperplazija. Kod 2 ispitanice s citološkim nalazom hiperplazije s atipijom, jednoj je histološki potvrđena dijagnoza, dok je kod druge nalaz bio benign. Kod 4 suspektna citološka nalaza, patohistološki su dijagnosticirana dva benigna nalaza te po jedna hiperplazija s atipijom i karcinom endometrija. Od 4 citološki maligna nalaza tri su patohistološki potvrđena, a četvrti je histološki bio suspektan na neoplastični proces. Osjetljivost citologije endometrija Tao brush metodom bila je 87,5 %, specifičnost 90,6 %, PV+ 70 %, PV- vrijednost 96,7 %, a dijagnostička točnost 90 %.

**Zaključak:** Tao Brush metoda dobivanja citoloških uzoraka endometrija visoko je osjetljiva i specifična dijagnostička metoda u otkrivanju benignih i malignih stanja endometrija. S obzirom da se primjenjuje bez anestezije, jednostavno i brzo u ginekološkoj ambulanti, osim indiciranja daljnog dijagnostičkog postupka može se primjeniti kako u kontroli terapije benignih stanja endometrija, tako i u probiru visokorizičnih ispitanica za nastanak raka endometrija.

## CITOLOGIJA ŠТИТНЈАЧЕ / THYROID CYTOLOGY

---



# THYROID: CROATIAN GUIDELINES VERSUS BETHESDA CATEGORIES

Neven Mateša

KBC Sestre milosrdnice, Department of Oncology and Nuclear Medicine, Zagreb, Croatia

Thyroid nodules always raise the question of cancer. FNA is the most important tool in the evaluation of thyroid nodules because it is fast, inexpensive, and highly accurate. The rate of thyroid FNAs is increasing rapidly, most probably due to increased use of more sensitive neck imaging tools. Nowadays, the thyroid FNA is the most common type of FNA specimens in a cytology laboratory.

In the recent years, a variety of 4- to 6-tiered classification schemes for thyroid FNA have been proposed by different societies and institutions. With the aim to standardize the diagnostic terminology in thyroid FNA, in 2007 in United States National Cancer Institute has proposed a 6-tiered reporting Bethesda system for thyroid cytology based on the NCI Thyroid FNA State-Of-Science Consensus Conference. In Italy and UK, national 5-tiered classifications are proposed.

In Croatia, in 2012, on the basis of data reported in literature and our own experience we implemented the following 4-tiered diagnostic scheme:

The *non-diagnostic* category is usually consisted of those specimens that contain virtually no or very few follicular cells. This category also includes lesions when the specimen shows material without any suspicious cellular features but the lack or paucity of follicular cells makes it insufficient to comfortably make a diagnosis of a benign lesion. The most common lesion from this category is pseudocystic lesions. Cytological diagnosis of these lesions indicate close follow-up or repeat FNA.

The *benign lesions* category includes lesions that could be cytologically diagnosed as benign with confidence and accuracy. More common diagnoses in this category are nodular goiter, Hashimoto thyroiditis and adenomatoid nodule. Lesions in this group can be managed conservatively, and if the nodules continue to enlarge, then the repetition of FNA is indicated.

The *indeterminate lesions* category comprises a large spectrum of lesions with cytological features more or less suggestive of, but not diagnostic for, malignancy. More common diagnoses in this category are cellular follicular lesion, atypia of undetermined significance, follicular neoplasm, Hürthle cell neoplasm and suspicious of papillary carcinoma. Individual approach is recommended and, in most cases, clinical data and ancillary methods determine further treatment.

The *malignant neoplasms* category includes all specimens in which an unequivocal diagnosis of malignancy can be made. The overwhelming majority in this category are papillary carcinomas, followed by medullary carcinomas and anaplastic carcinomas.

The main difference between Bethesda system and Croatian guidelines lies in a different number of categories. In Bethesda 6-tiered system indeterminate lesions are divided in 3 separate categories according to the different risk of malignancy and therefore somewhat different treatment. In Croatian thyroid FNA guidelines all indeterminate lesions are in the same category to stress the importance of individual approach, diagnostically and therapeutically, to these patients. Clinical data, age, patient's preferences, and ancillary methods, such as immunocytochemistry and molecular methods, are the clue for further treatment.

The most important to all newly proposed classification schemes is unique terminology. Implementation of terms atypia of undetermined significance and follicular lesion of undetermined significance (or its synonym cellular follicular lesion) is widely accepted.

# THE GREY ZONE IN THYROID CYTOPATHOLOGY

Philippe Vielh

National Laboratory of Health, Luxembourg

We will first remember the audience the role of thyroid fine needle aspiration cytology as a diagnostic and screening method.

Then, the grey zone in thyroid cytopathology will be defined in the frame of The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology and the challenges will be illustrated.

The today and tomorrow tools we can use for reducing the number of difficult cases will be depicted as well as their limits.



# PREOPERATIVE DIAGNOSTICS OF THYROID MEDULLARY CARCINOMA

**Sandra Kojić Katović, Ankica Vasilj**

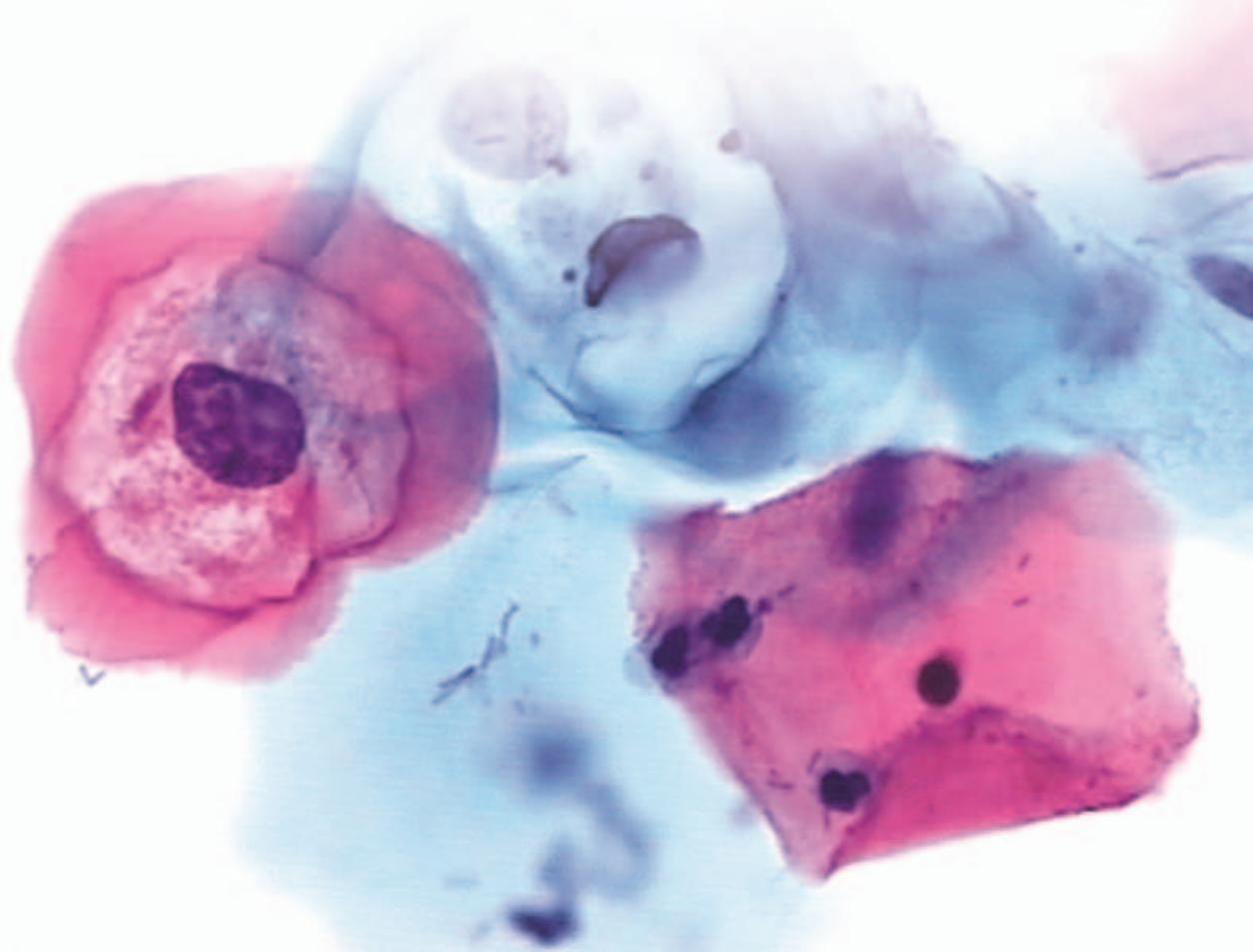
Department of Clinical Cytology, „Sestre Milosrdnice“ University Hospital Center, Zagreb, Croatia

---

Medullary thyroid cancer is a rare neuroendocrine neoplasm that arises from the parafollicular C cells that produce calcitonin, a hormone essential for the regulation of calcium metabolism. It makes 4-10 % of all thyroid cancers. In most cases (75-80 %) occurs as sporadic, while in other cases is a part of multiple endocrine neoplasia syndrome (MEN). Most often medullary thyroid carcinoma is presenting as a solitary nodule. At the time of diagnosis, about half of the patients have increased cervical lymph nodes, while a small number of patients has distant metastases in liver, lungs, bones and brain. If the tumor is hormone active, the patient may have systemic symptoms, such as diarrhea or flushing. Ultrasonically, medullary carcinoma usually appears as a hypoechoic node with marked vascularity and uneven contours which can sometimes contain microcalcifications and in most cases is located in the upper poles of the thyroid. Sample obtained by fine needle aspiration is usually cellular, tumor cells are disseminated or arranged in poorly cohesive groups. They are most often plasmacytoid, but sometimes can also be spindled. The nuclei are eccentric and chromatin shows features of neuroendocrine tumors. Cytoplasms of tumor cells are abundant, triangular or polygonal, amphophytic, finely granulated and unsharply limited. Background is clean and sometimes amyloid can be found. Depending on cytologic picture, differential diagnostic problems can be well differentiated thyroid tumors, primarily follicular neoplasm, lymphomas, poorly differentiated insular carcinoma, metastatic small cell carcinoma, mesenchymal tumors or melanoma. In the case of differential diagnostic difficulties of great help is to determine calcitonin immunocytochemically or in aspirate or serum. Medullary carcinoma may show slow progression and long-time survival, but can also be a rapidly progressive tumor where survival is measured in months. Good prognostic indicators are younger age, female gender, tumor size, tumor localization only in the thyroid gland and the absence of local or distant metastases. In conclusion, medullary thyroid carcinoma is a rare tumor, in which we still have to think in diagnosing thyroid nodules, mainly due to adequate preoperative preparation in terms of exclusion pheochromocytoma in MEN syndrome. Cytological picture in some cases is typical, however immunocytochemistry evidence of calcitonin is of great help to confirm the morphologic diagnosis.

## PULMOLOŠKA CITOLOGIJA / PULMONARY CYTOLOGY

---



# HOW MOLECULAR IS PULMONARY CYTOLOGY?

Silvana Smoјver-Ježek

Department of Pathology and Cytology, Division of Pulmonary Cytology Jordanovac, University Hospital Centre Zagreb,  
School of Medicine, University of Zagreb, Zagreb, Croatia

---

Lung cancer is still a leading cause of cancer death, with the overall surviving less than 5 years. Non-small lung cancer NSCLC) is predominant form in 80 % of patients. Targeted therapy is oriented on specific molecular subtypes of NSCLC, leaving the number of patients on standard chemotherapy modalities.

Recent 2015.WHO Lung Cancer Classification as extension of IASLC/ATS/ERS 2011. Lung Adenocarcinoma Classification and Molecular Testing Guideline 2013. clearly recognises the molecules of interest and methods of identification. There are different ways of oncogene activation in lung cancer cells: by mutations in EGFR, KRAS, BRAF and ERBB2; by translocation in ALK, ROS1 and RET; amplification is crucial for MET and FGFR1 in lung cancer. Detection of EGFR and ALK alterations has been implemented in routine protocols (RT-PCR, direct sequencing), mostly addressed to adenocarcinomas and NSCLC –NOS subgroup of lung carcinoma. Next-generation sequencing (NGS) enables the simultaneous detection of multiple mutations in multiple genes, using multiple captures of targeted gene regions analysed by sophisticated bioinformatics tests. NGS has perspective to serve as routine molecular diagnostic in different samples, including cytological samples.

NSCLC is recognized to provoke an endogenous immune response, opening the chance for immunotherapeutic agents as immune checkpoint inhibitors, points out the importance of PD1 and PDL1 receptors identification on tumour and immune cells.

Careful and strategic usage of different cytology samples as bronchial brushing and transbronchial fine needle aspiration, bronchial aspirates, pleural effusions, percutaneous transthoracic fine needle aspiration is crucial for routine molecular analysis. Routinely MGG stained cytology samples are still samples of choice for PCR based techniques, compared with formalin fixed, paraffin embedded tissue samples. Usage of limited panel of immunocytochemistry markers for accurate subtyping is important if molecular testing is required for therapy selection and cytologist has to pay more attention on morphology itself.

There is still a space for improvements in preanalytical requirements; especially in immunocytochemical and FISH detection of molecular targets as ALK fusion protein, ROS, RET. Cytologist still have to judge about quality and number of preserved cells and to choose the best preservation methods (freezing, preservation fluids, cell blocks).

Yes, pulmonary cytology is more molecular every day, but cytomorphology is still the basis.

# MJESTO CITOLOGIJE U NOVOJ WHO KLASIFIKACIJI TUMORA PLUĆA UZ PRIKAZ VLASTITIH REZULTATA

## CYTOTOLOGY WITHIN THE NEW WHO CLASSIFICATION OF LUNG TUMORS – SINGLE CENTER EXPERIENCE

<sup>1</sup>**Christophe Štemberger**, <sup>2</sup>**Koviljka Matušan-Ilijas**, <sup>1</sup>**Morana Dinter**,  
<sup>1</sup>**Roberta Rubeša-Mihaljević**, <sup>1</sup>**Koraljka Rajković-Molek**

<sup>1</sup>Zavod za kliničku citologiju, KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

<sup>2</sup>Zavod za patologiju, KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

**Cilj:** Adekvatna klasifikacija tumora je temelj za odabir optimalnog terapijskog protokola pacijenata oboljelih od tumora, uvažavajući najnovija dijagnostička i terapijska dostignuća. Nova predložena klasifikacija Svjetske zdravstvene organizacije uključila je i područje klasifikacije tumora na malim uzorcima odnosno malim biopsijama i citološkom materijalu, što predstavlja značajan iskorak budući da je oko 70 % pacijenata, u vrijeme postavljanja dijagnoze, u inoperabilnoj fazi bolesti, te jedini morfološki dijagnostički materijal predstavljaju male biopsije i/ili citološki uzorci. U ovom radu pokušali smo prikazati novosti iz područja klasifikacije tumora pluća vezanih za dijagnostiku raka pluća na malim uzorcima, kao i dosadašnje vlastite rezultate u dijagnostici tumora pluća u malim bioptatima/citološkom materijalu.

**Materijali i metode:** Iz baze podataka Zavoda za kliničku citologiju KBC Rijeka, kao i Zavoda za patologiju KBC Rijeka prikupljeni su podaci o svim bronhoskopski dijagnosticiranim tumorima tijekom 2015. godine, te su rezultati uspoređeni sa konačnim patohistološkim/kliničkim zaključkom. Testirana je osjetljivost, pouzdanost, specifičnost, kao i pozitivna (PPV) i negativna (NPV) prediktivna vrijednost citološke metode i malih biopsija.

**Rezultati:** Radi procjene pouzdanosti morfološke dijagnostike na citološkom materijalu kao i malim biopsijama, rezultati su uspoređeni sa konačnim kliničkim zaključkom ili patohistološkim nalazom ukoliko je pacijent bio operiran, što je bilo moguće napraviti za 220 bronhoskopski dijagnosticiranih malignih tumora pluća. Dobiveni rezultati pokazali su osjetljivost od 91,8 %, specifičnost od 96,8, PPV i NPV od 99 % i 83 % za citološke uzorke, dok je kod malih biopsija dobivena osjetljivost 81,9 %, specifičnost i PPV od 100 % i NPV od 70 %. Testirana je i pouzdanost citološke analize u određivanju najčešćih podtipova karcinoma pluća, te su rezultati pokazali pouzdanost citološke analize od 95,4 % za adenokarcinom, 92,7 % za karcinom pločastih stanica, te 96,8 % za karcinom malih stanica.

**Zaključak:** Obje metode pokazale su visoku dijagnostičku pouzdanost u detekciji malignih bolesti pluća. Analiza citoloških rezultata pokazala je i visoku dijagnostičku pouzdanost u određivanju osnovnih podtipova raka pluća, što je posebno značajno budući da se razvojem tehnologije i znanosti otvaraju brojne nove terapijske opcije koje ovise upravo o preciznom određivanju morfološkog i molekularnog podtipa raka pluća.

# **BRONHOSKOPIJA U DIJAGNOSTICI CENTRALNIH LEZIJA PLUĆA – SURADNJA KLINIČARA I CITOLOGA**

## ***BRONCHOSCOPY IN THE DIAGNOSIS OF CENTRALLY LOCATED PULMONARY LESIONS – THE TEAM WORK OF CLINITIANS AND CYTOLOGISTS***

**Željko Kupanovac**

Klinika za internu medicinu, Zavod za pulmologiju KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

Bronhoskopija i kompjuterizirana tomografija (CT) prsnog koša su temeljne metode za dijagnostiku tumora pluća. U kliničkoj praksi najčešće se radi o zlučudnim tumorima epitelnog podrijetla, odnosno karicinomima. Bronhoskopom možemo vizualizirati dušnik i bronhe, najčešće do šeste generacije grananja, dok periferne lezije bronhoskopski nisu vidljive. Sukladno tome tumore koji su lokalizirane u središnjoj i intermedijarnoj zoni pluća možemo bronhoskopski vizualizirati te uzeti uzorke za citološku i patohistološku analizu. Uzorke u pravilu uzimamo četkicom i kliještim, a u nekim slučajevima možemo ih uzeti iglom. Uzorke iz perifernih lezija, odnosno onih koje nisu vidljive bronhoskopski, možemo uzeti ciljano prema nalazu CT-a, odnosno konvencionalnog radiograma. Ako ne uspijemo dobiti adekvatan uzorak bronoskopski, onda na raspolaganju imamo druge dijagnostičke metode, primjerice transtora-kalnu biopsiju ili otvorenu biopsiju.

Iako očekujemo da prilikom uzimanja uzoraka tumorskog tkiva iz središnje i intermedijarne zone, kada je tumor u pravilu vidljiv, nema nikakvih dijagnostičkih nedoumica i da će svako uzimanje uzoraka rezultirati materijalom primjerenim za ciotološku i/ili patohistološku analizu, ne mora uvijek biti tako. Dijagnostičke probleme mogu predstavljati visok udio nekroze u tumoru, rastrganost tkiva prilikom uzimanja uzoraka, upalne promjene i edem sluznice koje mogu biti slične infiltrativnom rastu tumora, prisustvo indirektnih znakova tumora bez infiltracije površnog sloja sluznice, primjese krvi i raspadnutih stanica u uzorku. Prilikom ciljanog uzimanja uzoraka iz perifernih lezija nemamo nikakvih podataka o primjerenosti uzorka dok se ne učini citološka i/ili patohistološka analiza. Kako ne bismo morali ponavljati bronhoskopiju te da što prije dođemo do dijagnoze iznimno je važna neposredna suradnja pulmologa i citologa prilikom obavljanja bronohskopije, a sadržana je u brzoj citološkoj procjeni dobivenih uzoraka.

Brza citološka procjena se na Zavodu za pulmologiju Klinike za internu medicinu Kliničkog bolničkog centra Rijeka počela raditi 2014. Važno je istaknuti da se brza citološka procjena mora obavljati u istoj prostoriji gdje se radi bronhoskopija, a u našoj ustanovi članovi tima su pulmolog, citolog, medicinska sestra-asistent i citotehnolog. Presudna je verbalna komunikacija i sustav dogovorenih komunikacijskih kanala o primjerenosti uzorka, radi li se o pozitivnom, negativnom ili suspektom uzorku, potrebi za uzimanjem dodatnih uzoraka (citoloških i/ili patohistoloških), prepostavljenoj vrsti tumora i primjerenosti uzorka za dodatne dijagnostičke postupke (imunocitokemija, molekulska dijagnostika). Tijekom 2015. brzom citološkom procjenom analizirano je 278 uzoraka, od toga je 151 bio negativan (124 stvarno negativna), a 127 pozitivnih (123 stvarno pozitivnih), dok je 5 uzoraka bilo suspektno. Na temelju ovih rezultata pouzdanost metode je 89 %, osjetljivost 82 %, a specifičnost 97 %. Pozitivna prediktivna vrijednost bila je 97 %, a negativna prediktivna vrijednosti 82 %. Ovi rezultati su usporedivi s rezultatima iz literature, a po uspješnosti se nalaze pri vrhu.

# PLEURAL EFFUSIONS IN THE DIAGNOSIS OF MALIGNANT LUNG DISEASES

Zrinka Juroš

Department of Pathology and Cytology, Pulmonary Cytology Division Jordanovac, Clinical Hospital Centre Zagreb, University Hospital of Zagreb, Medical School Zagreb, Zagreb, Croatia

Pleural effusions are associated with a number of pathological medical conditions but it is in most cases caused by malignant diseases. Pleural fluid cytological analysis has important diagnostic role in most cases so primary aim should be to establish the correct diagnosis with minimal investigation. Lung carcinoma is the leading cause of malignant pleural effusions. Pleural effusions occur with all types of lung carcinomas but most frequently with adenocarcinomas. The presence of pleural effusions typically signals an advanced stage of disease so it is associated with poor prognosis. The accuracy of cytologic examinations of malignant pleural effusion is in high range (from 40 % to 87 %). Several factors influence the diagnostic yield of cytology such as presence of paramalignant pleural effusion, tumor types, repeated examinations etc. One of the most important diagnostic doubts in pleural effusion analysis is distinguishing adenocarcinoma from mesothelioma and mesothelioma from benign mesothelial cells. In most cases the diagnose is based on regular cytomorphology analysis and immunocytochemistry is necessary in low percent of cases to establish the diagnose. The use of immunocytochemical panel of antibodies with combination of high sensitivity and specificity is the only way for precise distinguishing of adenocarcinomas from mesothelioma in those cases.



# DIJAGNOSTIKA KARCINOMA PLUĆA NE – MALIH STANICA NA CITOLOŠKIM UZORCIMA, ODJEL ZA CITOLOGIJU KBC SPLIT: JEDNOGODIŠNJI RETROSPEKTIVNI PRIKAZ

Marina Piljić Burazer

Klinički zavod za patologiju, sudske medicine i citologiju, KBC Split, Split, Hrvatska

---

**Cilj:** Prikaz broja novootkrivenih karcinoma pluća ne-malih stanica (NSCLC) iz citoloških uzoraka i dijagnostičkih postupaka sa citološkim uzorcima tijekom 2015. godine na Odjelu za citologiju KBC Split.

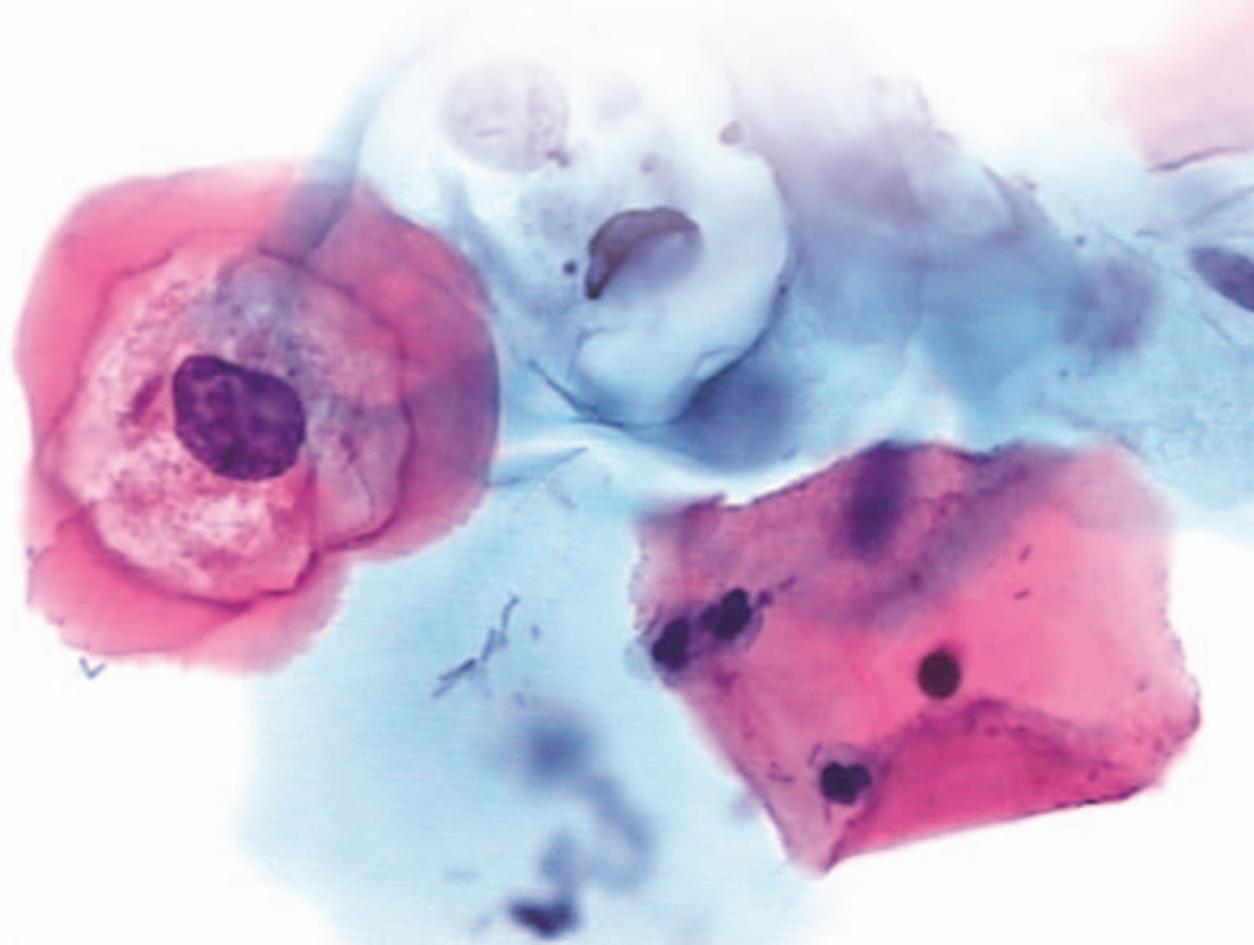
**Materijali i metode:** Uvidom u pismohranu, izdvojili smo bolesnike s karcinomom pluća ne-malih stanica i vrste citoloških uzoraka. Imunocitokemijska (ICK) analiza malignih stanica u pleuralnom izljevu, otiscima transbronhalne i transtorakalne aspiracije tankom iglom, rađena je kod nejasnih morfoloških obilježja ili nepoznatog primarnog tumora. Molekularna analiza EGFR statusa iz citoloških uzoraka adenokarcinoma rađena je u nedostatku bioptičkog materijala.

**Rezultati:** Analizirano je približno 7000 plućnih citoloških uzoraka. Dijagnosticirano je 165 primarnih karcinoma pluća, od toga 133 (81 % ) karcinoma pluća ne-malih stanica. Citološki uzorak korišten je kod 42 bolesnika s adenokarcinomom pluća za dijagnostiku EGFR statusa. Mutacija je nađena u 7(16 %) bolesnika. ICK analizira malignih stanica izvršila se u 37 pleuralnih izljeva i 11 otisaka aspiracija tankom iglom.

**Zaključak:** Citološki uzorci pridonose dijagnostici NSCLC, time i individualiziranoj terapiji, stoga bi svaki citološki laboratorij trebao odrediti optimalne dijagnostičke postupke s plućnim citološkim uzorcima.

**PEDIJATRIJSKA CITOLOGIJA / PEDIATRIC CYTOLOGY**

---



# CITOMOFOLOGIJA SOLIDNIH TUMORA U PEDIJATRIJSKOJ DOBI

## CYTOMORPHOLOGY OF THE SOLID CHILDHOOD TUMOURS

<sup>1,2</sup>Ika Kardum-Skelin, <sup>1</sup>Gordana Kaić, <sup>1</sup>Biljana Jelić-Puškarić, <sup>1</sup>Marina Pažur,  
<sup>3,4</sup>Gordana Jakovljević, <sup>3</sup>Aleksandra Bonevski, <sup>2,3</sup>Jasminka Stepan-Giljević

<sup>1</sup>Zavod za kliničku citologiju i citogenetiku, Klinička bolnica Merkur, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup>Klinika za dječje bolesti, Zagreb, Hrvatska

<sup>4</sup>Medicinski fakultet Sveučilišta u Osijeku, Osijek, Hrvatska

Citologija se sve više koristi u dijagnostici solidnih tumora dječje dobi. Najčešći su tumori malih okruglih stanica: Ewingov sarkom, neuroblastom, limfom, nefroblastom (Wilmsov tumor), hepatoblastom, rabdomiosarkom, dezmostazični tumor malih okruglih stanica. Predstavljaju heterogenu skupinu različitog podrijetla, slične morfologije s nediferenciranim, uniformnim, malim okruglim stanicama velikih, hiperkromatskih jezgara.

*Ewingov sarkom* se citološki prezentira u kohezivnim grupama kao nediferencirane male okrugle stanice bez utiskivanja jezgara, prisutnih pseudorozeta, imunofenotipa CD99 ++, Vimentin+, NSE+/-, CK-/+), često s genetskim abnormalnostima (t(11;22)(q24;q12), MIC2 gen +). *Neuroblastom* karakteriziraju male primitivne stanice s oskudnom citoplazmom uz slabo do dobro formirane rozete te fibrilarni matrix, mjestimično i multinuklearne ganglijske stanice. Imunofenotipski su NSE++, CK-, NF+, CD99-, Vimentin+/- i Sinaptofizin+, genetski se može naći del1p, n-myc i DNA hiperploidija. *Rabdomiosarkom* se dijeli u embrionalni, alveolarni te pleomorfni tip. Nezrele tumorske stanice su citokemijski i imunocitokemijski pozitivne na PAS, vimentin i dezmin, a citogenetska analiza, protočna citometrija, molekularna analiza u nekim slučajevima dovode do definitivne dijagnoze. *Wilmsov tumor* se citološki sastoji od epitelne, sarkomske i blastomske komponenete u različitim proporcijama. Prisutna je umjerena celularnost pojedinačnih ili u rahlim nakupinama malih okruglih stanica, slabo vidljivih nukleola, srednje obilne citoplazme uz izvjestan polimorfizam, imunofenotipa (CD10+, VIM+ i CK+), i citogenetskim abnormalnostima (del16p13, del11p13, del11p15.5). *Non-Hodgkin limfomi (NHL)* – najčešći su limfoblastični (LBL) T ili B. T-LBL čine 85-90 % limfoblastičnih limfoma. Često je tumorska masa u medijastinumu (50 % LBL) ili drugom tkivu, a nisu rijetki niti pleuralni izljevi. *Burkittov limfom (BL)* je agresivni limfom koji se morfološki dijeli u klasičan BL, BL s plazmacitoidnom diferencijacijom i atipični Burkitt/Burkitt-like (MYC translokacija). Najčešće se sastoji od monomorfnih limfatičnih stanica, okruglih jezgara, bazofilnih nukleola, bazofilne citoplazme s lipidnim vakuolama, a brojni makrofagi daju sliku zvjezdano neba. Ima karakterističan imunofenotip IgM+, panB+, CD10+, BCL6+, Ki-67+, CD5-, CD23-, BCL2- i citogenetiku s t(8;14). *Hodgkinov limfom (HL)* se morfološki dijeli u dvije grupe: klasični HL (nodularna skleroza, limfocitima bogat klasični, miješana celularnost te limfocitna deplecija) i nodularna limfocitna predominacija (NLPH). Uz „upalni“ pozadinski infiltrat sastavljen od malih limfocita, histiocita, eozinofilnih i neutrofilnih granulocita te plazma stanica nalaze se tipične mononuklearne Hodgkinove i multinuklearne Reed-Sternbergove stanice. Tipovi klasičnog HL imaju karakterističan fenotip: CD30+, CD15+/-, CD45-, CD20+/-, dok je imunofenotip NLPHL-a: CD20+, CD30-, CD15-, ALK-, EBV-, EMA+/-, CD45+. *Anaplastični limfom velikih stanica (ALCL)* je uglavnom T stanični limfom vrlo karakteristične morfološke slike s velikim, pleomorfnim limfatičnim stanicama pozitivnim na CD30 i EMA-u, u 75 % slučajeva na T builjege (CD3 ili CD4), a u 60-85 % na ALK. U 90 % slučajeva je prisutna preuredba gena za T-stanični receptor (TCR), u 70-80 % t(2;5), a u 10 % t(1;2). Morfološki se razlikuju tri varijante: commom, limfohistiocitna i varijanta malih stanica.

Citološka dijagnoza i subtipizacija tumora malih okruglih stanica povećava se ako se koriste klinički podaci te relevantna citokemijska, imunocitokemijska i genetska analiza.

# KOMPLEKSNA CITOGENETIKA BURKITTOVA LIMFOMA: PRIKAZ PEDIJATRIJSKOG SLUČAJA

## COMPLEX CYTOGENETICS IN PEDIATRIC BURKITT LYMPHOMA: A CASE REPORT

**<sup>1</sup>Ružica Lasan-Trčić, <sup>2</sup>Srđana Čulić, <sup>2</sup>Višnja Armanda, <sup>2</sup>Joško Markić, <sup>2</sup>Bernarda Lozić**

<sup>1</sup>Clinical Unit for Cytogenetics, Clinical Department of Laboratory Diagnosis, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb, Croatia

<sup>2</sup>Split University Hospital Center, Department of Paediatric Hematology, Oncology, Immunology and Medical Genetics, Medical School University of Split, Croatia

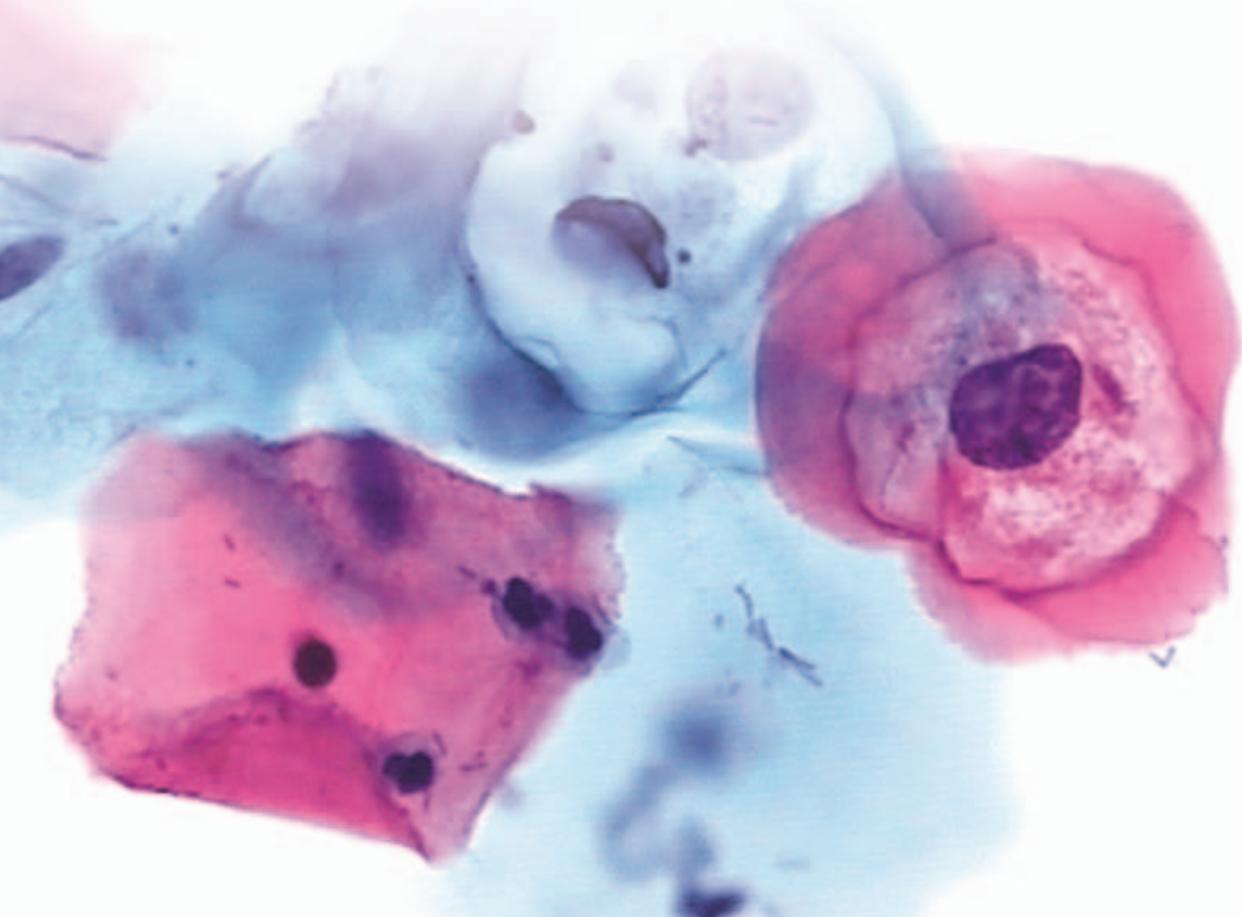
Burkitt's lymphoma (BL) is one of the highly aggressive B-cell non-Hodgkin lymphomas. Most common in children (1/3 of lymphomas). In Adult it accounts for 3-4 % of all lymphomas in western countries it is frequently associated with immunodeficiency. Sporadic type has leukemic bone marrow involvement and is characterized by rapid proliferation of mature B cells and over expression of *c-myc* oncogene, on chromosome 8q24 to the immunoglobulin heavy chain gene locus (*IgH*) on chromosome 14q32 (t(8;14)(q24;q32) found in 80 % of cases) or, alternatively, with the kappa or lambda immunoglobulin light chain genes in the remaining 20 %. The diagnosis of BL is based on a combination of morphologic, immunophenotypic, and cytogenetic findings. Karyotype complexity was assessed as the number of chromosomes with numerical or structural abnormalities, including the chromosomes involved in the Burkitt-type translocations.

We report the case of an 11-year-old girl with Burkitt lymphoma with special emphasis on pronison resistance, efficacy of rituximab therapy and great karyotypic heterogeneity in several abnormal cell sub lines. Cytogenetic analysis with G-banded chromosomes and FISH was performed on bone marrow, according to standard protocols. The complex karyotype was: 46,XX,add(1)(p36),del(1)(q23),del(2)(q13),del(7)(q21), der(7)del(7)(q21)hsr(7q21),t(8;14)(q24;q32),der(11)t(7;11)(q11;q23),der(12p)[cp10]

Clonal evolution was evident and appears to be linked to disease progression and dissemination. To our knowledge, for the first time, we report a case of sporadic pediatric BL in the leukemic phase and its karyotype complexity with emphasize on secondary chromosomal abnormalities and the *MLL* gene deletion(11q23). We believe that bone marrow involvement with complex cytogenetic is important in determining treatment and prognosis in patients of sporadic form of Burkitt lymphoma.

**CITOLOGIJA GLAVE I VRATA / HEAD AND NECK CYTOLOGY**

---



# VRIJEDNOST CITOLOŠKE DIJAGNOSTIKE U PREOPERATIVNOJ OBRADI PACIJENATA S BOLESTIMA PARATIROIDNIH ŽLIJEZDA

## THE VALUE OF CYTOLOGY IN PREOPERATIVE DIAGNOSTIC WORKUP OF PARATHYROID GLANDS DISEASES

<sup>1</sup>Davorin Đanić, <sup>2</sup>Ljubica Fuštar Preradović

<sup>1</sup> Katedra za otorinolaringologiju i maksilofacijalnu kirurgiju Medicinskog fakulteta Osijek, Sveučilišta JJ Strossmayer u Osijeku, Osijek, Hrvatska

<sup>2</sup> Odjel za patologiju i citologiju, Opća bolnica „Dr. Josip Benčević”, Slavonski Brod, Hrvatska

---

**Cilj:** Zadnjih desetak godina u kirurškom liječenju doštitnih žljezda koristimo se minimalnom invazivnim kirurškim pristupom koje je karakteriziran manjom širinom kirurškog zahvata, kraćim trajanjem kirurškog postupka i smanjenim brojem intraoperacijskih i poslijeoperacijskih komplikacija.

Da bi ovakav pristup bio efikasan potrebna je dobra preoperacijska lokalizacija patološki promjenjenih žljezda te identifikacija lezije i prepoznavanje različitih varijacija promjenjenih doštitnih žljezda. Cilj ovoga rada je prezentacija osobnih iskustava u preoperacijskoj dijagnostici doštitnih žljezda kod različitih patoloških stanja koristeći se pregledom vrata ultrazvukom i aspiracijskom citodijagnostičkom punkcijom pod kontrolom ultrazvuka.

**Materijali i metode:** U studiju su uključeni bolesnici koji su zadnjih 10 godina operirani na našem Odjelu za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata radi patoloških promjena na doštitnim žljezdama a kod kojih je preoperacijski učinjen pregled vrata ultrazvukom i aspiracijska citodijagnostička punkcija vođena ultrazvukom.

U prvoj skupini bilo je 156 bolesnika s primarnim hiperparatiroidizmom. Druga skupina uključivala je 17 bolesnika sa sekundarnim hiperparatiroidizmom od kojih je 14 imalo endemsку nefropatiju. Treća skupina od 6 bolesnika imala je ciste doštitnih žljezda.

**Rezultati i zaključak:** Pregled vrata ultrazvukom i aspiracijska citodijagnostička punkcija vođena ultrazvukom u preoperativnoj obradi bolesnika s različitim patološkim promjenama na doštitnim žljezdama pokazala se nezaobilaznim, bazičnim, visokokvalitetnim preoperativnim dijagnostičkim postupkom.

# IZAZOVI I OGRANIČENJA U CITOLOŠKOJ DIJAGNOSTICI PATOLOŠKIH PROMJENA GLAVE I VRATA

**<sup>1</sup>Ljubica Fuštar Preradović, <sup>2</sup>Davorin Đanić, <sup>3,4</sup>Karmen Trutin Ostović, <sup>1</sup>Maja Mišić,  
<sup>1</sup>Ivana Prvulović**

<sup>1</sup> Odjel za patologiju i citologiju, Opća bolnica, Slavonski Brod, Hrvatska

<sup>2</sup> Odjel otorinolaringologiju i maksilofacijalnu kirurgiju, Opća bolnica, Slavonski Brod, Hrvatska

<sup>3</sup> Klinička jedinica za citologiju Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju, Klinička bolnica Dubrava, Zagreb, Hrvatska

<sup>4</sup>Zdravstveno veleučilište Zagreb, Zagreb, Hrvatska

Glava i vrat je regija u kojoj se tokom dijagnostičkog postupka često radi citološka punkcija, gotovo uvijek pod kontrolom ultrazvuka. Četiri su glavna dijagnostička izazova: cistične tvorbe, tumori slični tumorima žlijezda slinovnica, non Hodgkin limfomi niskog stupnja malignosti i folikularne tvorbe štitne žljezde.

Cistične tvorbe različitog porijekla mogu predstavljati značajan diferencijalno dijagnostički problem, prvenstveno zbog razlika u pristupu bolesniku i načinu liječenja. Mogu biti primarne (kongenitalne) i sekundarne cistične tvorbe, uključujući benigne i maligne cistične tumore. Dodatni diferencijalno dijagnostički problem čine retencione ciste u žljezdama slinovnicama, limfoepitelialne ciste, Warthin-ov tumor s pločastom metaplazijom, mukoepidermoidni karcinom i metastatski planocelularni karcinom.

Grupa tumora koja nalikuje na tumore žlijezda slinovnica obuhvaća nekoliko entiteta: miksoidno-hijaline tumore, bazaloidne tumore, onkocitne lezije, limfoidne lezije i skvamoidne lezije. Miksoidno-hijaline lezije čine pleomorfni adenom (tumor mixtus), adenoid cistični karcinom (ciliadrom), karcinom ex pleomorfni adenom i polimorfni low grade adenokarcinom. Tumori koji im nalikuju, nalaze se u ovoj regiji, a nisu porijekla žlijezda slinovnica uključuju švanom, mixom, mixoidni lipom i miksoidni neurofibrom. Tumori žlijezda slinovnica mogu se naći ekstraglandularno. Diferencijalno dijagnostički problem predstavljaju tumori u kojima se mogu naći basalne stancice ili stanice koje im nalikuju, adenom bazalnih stanica, karcinom bazalnih stanica, solidna varijanta adenoid cističnog karcinoma, polimorfni low grade adenokarcinom (PLGA) i nediferencirani karcinom (malih) stanica. Ekstraglandularni tumori slinovnica u kojima se mogu naći onkociti su Warthin-ov tumor, onkocitni adenom i karcinom acinarnih stanica. Ekstraglandularne onkocitne neoplazme su paragangliom, karcinoid, granular-cell tumor, rhabdoidni tumori i metastatski tumori (medularni karcinom, onkocitni karcinom, hepatocelularni karcinom, melanom).

Ne neoplastične limfoidne mase unutar ili izvan žlijezda slinovnica, a uključuju kronični sialoadenitis, benigne limfoepitelialne lezije i intra i/ili perisalivarne povećane limfne čvorove. Nužno ih je razlikovati od non Hodgkin limfoma niskog stupnja malignosti porijekla žlijezda slinovnica.

Prema algoritmima American Thyroid Association, citološka punkcija je metoda za evaluaciju čvorova u štitnoj žljezdi. U slučajevima kada je moguća citološka dijagnoza, postupak s bolesnicima je propisan algoritmima. Međutim folikularne lezije štitne žljezde predstavljaju poseban problem, jer su kriteriji malignosti invazija kapsule i invazija krvne žile.

U zaključku se može naglasiti da ultrazvučno vođena citološka punkcija ima mjesto u liječenju i praćenju bolesnika s tumorima glave i vrata. Uz uvažavanje ograničenja u dijagnostici, a uzimanjem u obzir prognostičkog potencijala, ultrazvučno vođena citološka punkcija treba biti pomoć kliničaru u multidisciplinarnom pristupu liječenju i praćenju tumora glave i vrata.

# REVIEW OF CYTOLOGICAL DIAGNOSIS OF THE HEAD AND NECK LYMPH NODES IN A 10 YEAR PERIOD – SINGLE CENTER EXPERIENCE

**Ankica Vasilj, Sandra Kojić Katović**

Department of Clinical cytology, „Sestre Milosrdnice“ University Hospital Center, Zagreb, Croatia

**Introducion:** A wide spectrum of diseases, including reactive processes, infections, lymphomas and metastatic tumors can cause enlargement of lymph nodes.

**Materials and methods:** The present study on 4062 patients with lymphadenopathy was conducted in the Department of Cytology, University Hospital Center „Sestre Milosrdnice“, Zagreb in a 10-year period. Of 4062 patients with lymphadenopathy 1624 were males and 2438 were females.

**Results:** In this study, the age of patients ranged from few months to 85 years. Of 4062 fine needle aspiration procedures, 232/4062 samples or 5,7 % were nondiagnostic. Lymph node aspirates were benign in 2666/3830 (69 %) and malignant in 1190/3830 (31 %). Hematologic disease (Hodgkin lymphoma and non-Hodgkin lymphoma) was diagnosed in 482/1190 (40,5 %) and metastases in 708/1190 (59,5 %). Of 482 patients with hematological disease there were 48/482 (10 %) Hodgkin lymphomas and 434/482 (90 %) non-Hodgkin lymphomas.. In the group of malignant lymphadenopathy 212/708 (30 %) were metastatic squamous cell carcinomas, 177/708 (25 %) metastatic adenocarcinomas, 149/708 (21 %) were metastasis of other carcinomas and 170/708 (24 %) metastasis of other malignant tumors.

**Conclusion:** The present study confirms that FNAC of enlarged lymph nodes of the head and neck is an excellent first line method for investigating the nature of the lesions.

# VAŽNOST TIMSKOG RADA CITOLOGA I KIRURGA U CITOLOŠKOJ DIJAGNOSTICI INTRAORALNIH LEZIJA

<sup>1,4</sup>**Karmen Trutin Ostović**, <sup>2,5</sup>**D. Macan**, <sup>2,5</sup>**D. Brajdić**, <sup>2,5</sup>**J. Biočić**, <sup>2,6</sup>**I. Lukšić**,  
<sup>2,6</sup>**N. Aljinović Ratković**, <sup>2,6</sup>**V. Uglešić**, <sup>2,6</sup>**M. Virag**, <sup>3,6</sup>**D. Muller**, <sup>3,6</sup>**S. Manojlović**

<sup>1</sup>Klinička jedinica za citologiju Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju KB Dubrava, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Klinika za kirurgiju čeljusti lica i usta KB Dubrava, Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup>Klinička jedinica za patologiju Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju KB Dubrava, Zagreb, Hrvatska

<sup>4</sup>Zdravstveno veleučilište Zagreb, Hrvatska

<sup>5</sup>Stomatološki fakultet Zagreb, Zagreb, Hrvatska

<sup>6</sup>Medicinski fakultet Zagreb, Zagreb, Hrvatska

**Cilj:** Intraoralne lezije su izazov za citologa iz nekoliko razloga: mogu zahvaćati različite organe, vrlo je teško doći do pravoga uzorka, a benigne i maligne lezije su morfološki vrlo slične. Lezije mogu zahvaćati male žlijezde slinovnice, sluznicu usne šupljine, usne, jezik, tonzile, kosti... Cilj je ukazati na važnost zajedničkog rada oralnog ili maksilofacijalnog kirurga i citologa prilikom punkcije intraoralnih lezija kako bi se dobio adekvatan uzorak s pravoga mjesta.

**Materijali i metode:** U razdoblju od 1. 1. 2002. do 31. 7. 2011. i od 1. 1. 2014. do 31. 12. 2015. na Odjelu za kliničku citologiju i citometriju odnosno Kliničkoj jedinici za citologiju Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju timski su punktirane intraoralne lezije najčešće u malim žlijezdama slinovnicama, slijede meko i tvrdo nepce, jezik, kosti (mandibula i maksila), usne i tonzile.

**Rezultati:** Punktirane su lezije u 168 pacijenata oba spola starosti od 9 do 90 godina, adekvatnost je bila 99,4 %. Operirano je 106 pacijenata (82 lezije su bile u malim žlijezdama slinovnicama). Dijagnostička točnost je bila 97,2 %, specifičnost 96,4 % i senzitivnost 98 %.

**Zaključak:** Timski rad citologa i oralnog ili maksilofacijalnog kirurga je izuzetno važan za postavljanje točne citološke dijagnoze u pacijenata s intraoralnim lezijama zbog otežanog pristupa te dobivanja adekvatnog materijala prvom punkcijom (ponovljenom punkcijom se obično dobije neadekvatan uzorak, najčešće krv). Zbog toga je naša preporuka da se intraoralne lezije uvijek punktiraju timski kako bi se na temelju točno postavljene citološke dijagnoze mogla procijeniti potrebnost, hitnost te opseg operacije, planirati i točno savjetovati pacijente o dalnjem postupku liječenja sa svrhom pružanja što bolje i adekvatnije skrbi.

# MUKOEPIDERMOIDNI KARCINOM MALIH ŽLJEZDA SLINOVNICA POGREŠNO DIJAGNOSTICIRAN KAO ODONTOGENA UPALA

**<sup>1</sup>Petar Đanić, <sup>1</sup>Davor Brajdić, <sup>2</sup>Karmen Trutin Ostović, <sup>3</sup>Spomenka Manojlović,  
<sup>4</sup>Mišo Virag, <sup>1</sup>Darko Macan**

<sup>1</sup> Klinika za kirurgiju lica, čeljusti i usta, KB Dubrava, Stomatološki fakultet Zagreb, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup> Centar za kliničku citologiju i protočnu citometriju, KB Dubrava, Zdravstveno veleučilište Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup> Klinički zavod za patologiju, KB Dubrava, Zagreb, Hrvatska

<sup>4</sup> Klinika za kirurgiju lica, čeljusti i usta, KB Dubrava, Medicinski fakultet Zagreb, Zagreb, Hrvatska

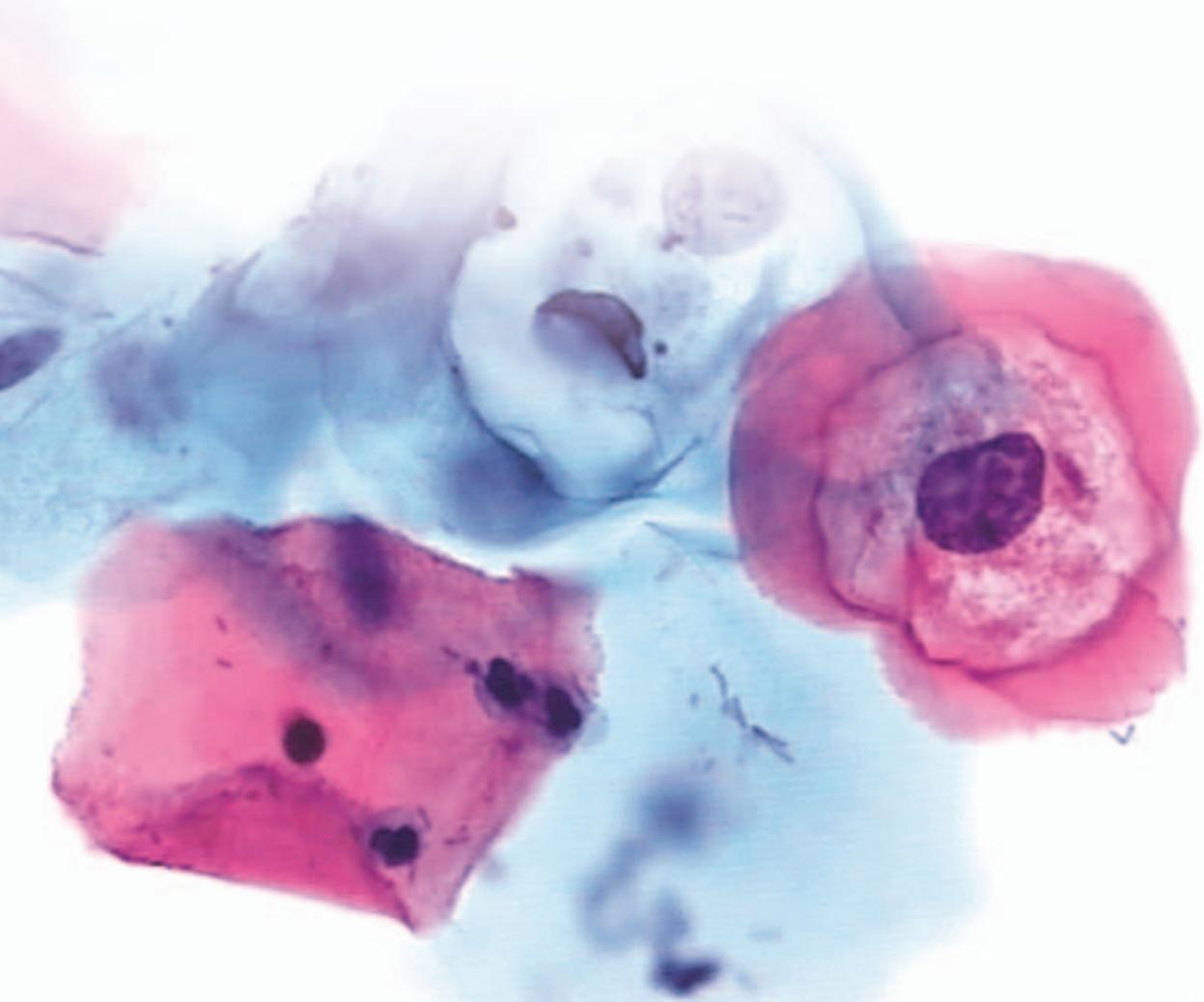
**Cilj:** Prezentacija prvog opisanog slučaja mukoepidermoidnog karcinoma nepca pogrešno dijagnostiranog i inicijalno liječenog kao odontogena upala.

**Materijal i metode:** Mukoepidermoidni karcinom (MEC) čini nešto manje od 10 % svih tumora žljezda slinovnica, te oko 30 % malignih tumora. Najčešće, u oko 60 % slučajeva, zahvaća parotidnu žljezdu, dok se u 30 % slučajeva nalazi u malim žljezdama slinovnicama. Nepce je najčešća lokalizacija onih koji nastaju u malim žljezdama slinovnicama. Prikazujemo slučaj 33. godišnjeg pacijenta s nepčanim MEC-om koji je neuspješno liječen kao akutna odontogena upala, koja nije reagirala na endodontsko liječenje zuba, višekratne incizije i antibiotike. Klinički na tvrdom nepcu postojala je polukuglasta, tvrda, bezbolna tvorba koja nije prelazila središnju liniju. Nakon detaljnje obrade koja je uključivala citologiju, MSCT glave o vrata, te biopsiju postavljena je dijagnoza MEC-a.

**Rezultati i zaključak:** S obzirom na postavljenu dijagnozu MEC-a učinjena je djelomična maksilektomija. Diferencijalno dijagnostički u obzir dolaze svi benigni i maligni tumori nepca od kojih su najčešći pleomorfni adenom, polimorfni adenokarcinom, adenoid cistični karcinom i planocelularni karcinom. Kao i benigne promijene poput kroničnog sijaloadenitisa, mukokele i nekrotizirajuće sijalometaplazije. Također odontogene ciste, limfom, plazmacitom, histiocitoza Langerhansovih stanica i metastatski karcinomi mogu imati sličnu kliničku sliku.

## CITOLOGIJA URINA / URINE CYTOLOGY

---



# INTRODUCTION TO THE PARIS SYSTEM FOR REPORTING URINARY

Margareta Strojan Fležar

Institute of Pathology, Faculty of Medicine University of Ljubljana

**Objective:** Urinary cytology has shown a high specificity and sensitivity for the detection and diagnosis of high grade urothelial carcinoma (HGUC), however it is not reliable for evaluation of low-grade papillary urothelial neoplasms. Therefore it has been losing its diagnostic potential. In order to restore its diagnostic value, a new approach to reporting urinary cytology has been proposed. It is based on the ability to diagnose HGUCs which biologically behave as truly malignant tumors related to high morbidity and mortality compared to indolent course of low-grade urothelial neoplasms.

**Materials and methods:** The concept of a new reporting system has been proposed in 2013 at the International Congress of Cytology in Paris. The participants of the Urinary Cytology Symposium have been invited to join the working group which later joined many more international experts in the field. The project had been supported by American Society of Cytology and International Academy of Cytology. The concept of the new system had been presented at several conferences and an internet survey has been conducted to evaluate the acceptability of the new diagnostic categories among cytopathologists.

**Results:** The diagnostic categories of the Paris System for reporting Urinary Cytology in regard to the HGUC comprise: "Negative for HGUC", "Atypical urothelial cells", "Suspicious for HGUC", "HGUC". It is important to note that the category of "Atypical urothelial cells" should be reported only in cases where atypical urothelial cells have some criteria that could relate them to HGUC, namely increased N/C ratio of 0.5, some hyperchromasia and irregular nuclear border. Next level of atypia is "Suspicious for HGUC" with N/C ratio of 0.7, overt hyperchromasia, however the quality and quantity of cells in the sample fails short of calling it HGUC. The category of "Low grade urothelial neoplasia" has been left for the rare urinary cytology cases containing true papillary structures with fibrovascular cores and low-grade cytological atypia. Other malignancies, primary and metastatic can be reported in a separate category. The use of ancillary methods is presented in separate section, most promising tests being UroVysion® and ImmunoCyt® tests at present. Adequacy issues in urinary cytology and cytopreparatory techniques are also discussed.

**Conclusions:** It is expected that the new Paris system for reporting urinary cytology will be accepted as a worldwide standard emphasizing the potential of cytology to detect biologically malignant high grade urinary carcinomas.

## **PLENARNO PREDAVANJE**

### **NEW OPPORTUNITIES AND CHALLENGES IN CLINICAL CYTOLOGY**

**Lukas Bubendorf**

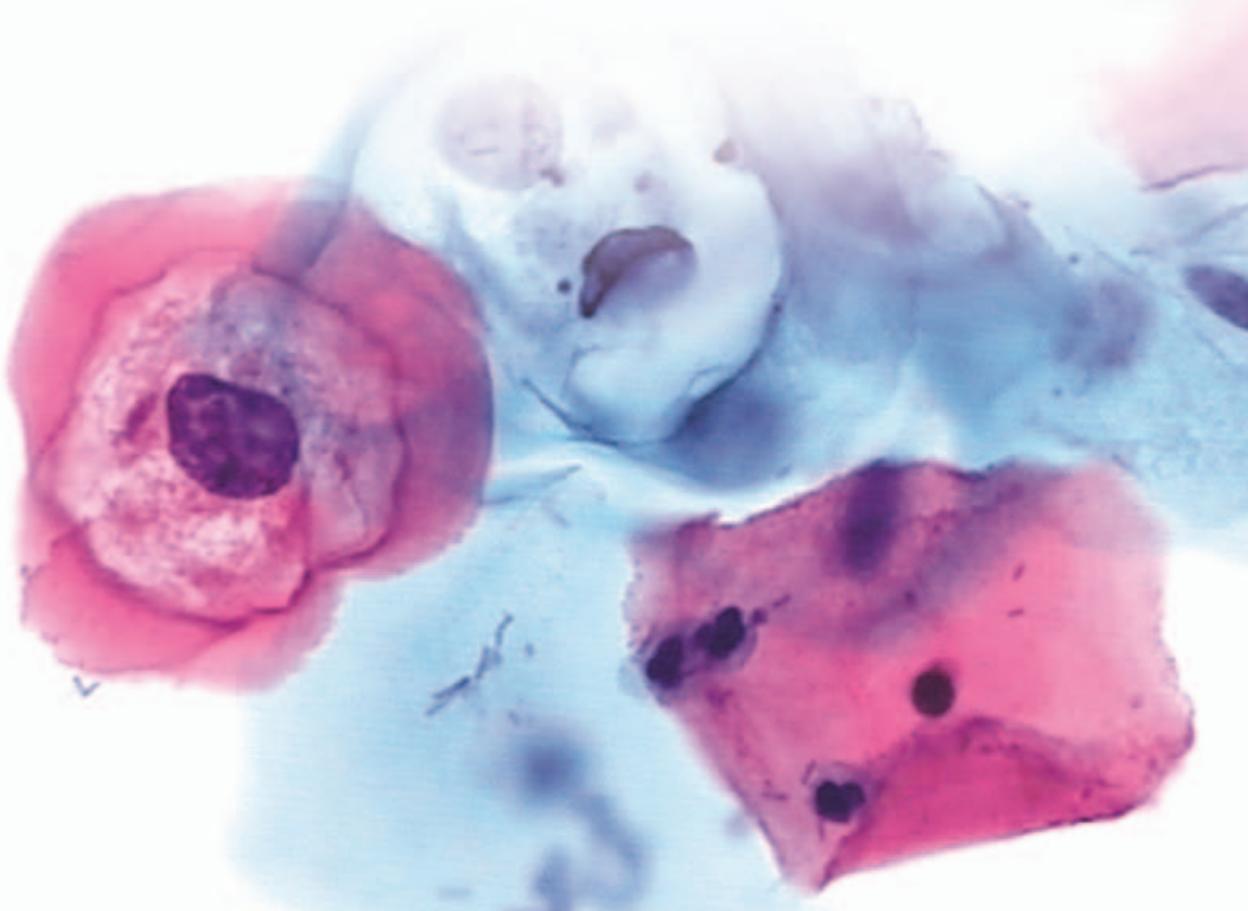
Cytopathology Division, Institute for Pathology of the University Hospital Basel, Basel, Switzerland

---

Clinical cytology is currently undergoing exciting developments. While morphology remains the mainstay, new technologies such as immunocytochemistry (ICC), DNA cytometry and fluorescence *in-situ* hybridization (FISH) have widely expanded the utility and diagnostic power of cytology and become part of diagnostic routine in many laboratories. Along with the rapid progress of genomic technologies and personalized medicine, cytopathologists are now being recognized as important players in the field of predictive marker analysis. Prioritizing and preparing cytological material for ICC, FISH and next-generation-sequencing (NGS), data interpretation and integrated reporting have become new tasks requiring special expertise and interdisciplinary collaboration. Liquid biopsies including analysis of circulating tumor cells is another new arena for cytology. Who else than cytologists should be more experienced in analyzing and handling such single cells or small cell groups collected from the blood? Cytopathologists should self-confidently take the new challenges, step into the flashlight and continue the exciting story of cytology.

**HEMATOLOŠKA I ANALITIČKA CITOLOGIJA –  
LIMFOPROLIFERATIVNE BOLESTI, NEOPLAZIJE PLAZMA STANICA**  
***HAEMATOLOGICAL AND ANALYTICAL CYTOLOGY –  
LYMPHOPROLIFERATIVE DISEASES, PLASMA CELL TUMOURS***

---



## PLENARNO PREDAVANJE

### CITOLOŠKA PUNKCIJA I DODATNE TEHNOLOGIJE U DIJAGNOSTIČKOM ALGORITMU POVEĆANOG LIMFNOG ČVORA

### FINE NEEDLE ASPIRATION CYTOLOGY AND ANCILLARY TECHNOLOGIES IN THE DIAGNOSTIC ALGORITHM OF ENLARGED LYMPH NODE

<sup>1,2</sup>Ika Kardum-Skelin, <sup>1</sup>Gordana Kaić, <sup>1</sup>Biljana Jelić-Puškarić, <sup>1</sup>Marina Pažur,

<sup>1</sup>Zoran Šiftar, <sup>1</sup>Mirjana Marianna Kardum Paro, <sup>4</sup>Ružica Lasan, <sup>1,2</sup>Ana Planinc-Peraica,

<sup>1,3</sup>Delfa Radić-Krišto, <sup>1</sup>Njetočka Gredelj-Šimec, <sup>1,2</sup>Slobodanka Ostojić-Kolonić

<sup>1</sup>Klinička bolnica Merkur, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup>Medicinski fakultet Sveučilišta u Osijeku, Osijek, Hrvatska

<sup>4</sup>Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb, Hrvatska

Povećani limfni čvor je za bolesnika, kliničara i citologa idealan model kada se iz uzorka dobivenog citološkom punkcijom na osnovu citomorfologije i dodatnih tehnologija s velikom sigurnošću može odvojiti nemaligni od malignog procesa, gdje u stvari leži i najveća odgovornost citologa. Citološka punkcija, naročito kod imunokompromitiranih bolesnika (npr. HIV pozitivnih) je manje rizična od kirurškog zahvata, a smanjena je i rizičnost infekcije za osoblje koje vrši zahvat.

Algoritmi za dijagnostiku povećanog limfnog čvora uključuju citološku punkciju kao prvu dijagnostičku metodu, nakon čega slijede dodatne tehnologije, koje mogu pomoći u prevladavanju limitirane mofologije te dobivanju sigurne dijagnoze. Najčešće upotrebljavane dodatne tehnologije su protočna citometrija, imunocitokemija, lančana reakcija polimeraze (polymerase chain reaction – PCR), konvencionalna citogenetika i/ili FISH (fluorescent in situ hybridization) te kinetičke metode (DNA citometrija). Laserska citometrija (laser scanning cytometry – LSC) i DNA mikročipovi (DNA microarray) polako se etablraju i u rutinskom radu. Imunocitokemijska analiza igra veliku ulogu u dijagnostici i subtipizaciji limfoma, kao i u diferencijalnoj dijagnozi prema slabo diferenciranim tumorima drugog staničnog podrijetla. Protočna citometrija pomaže u odvajanju reaktivnih hiperplazija i limfoma određivanjem klonalnosti limfatičnih stanica (restrikcija lakih lanaca kappa/lambda); u subtipizaciji limfoma određivanjem diferencijacijskog statusa limfatičnih stanica te procjeni proliferacijskog statusa određivanjem proliferacijskih antigena i količine DNA. Razne preuredbe gena malignih stanica mogu se analizirati lančanom reakcijom polimeraze (*polymerase chain reaction – PCR*). Vrlo je korisna informacija o preuredbi gena za imunoglobulinske lancе: teške (*immunoglobulin heavy chain – IgH*) ili luke (*kappa i lambda*), ili pak preuredbi gena za receptore T limfocita (*T-cell receptor – TCR*) što govori u prilog B ili T klonalnosti limfatičnih stanica, odnosno dijagnozi malignih limfoma. Kromosomske promjene se mogu identificirati konvencionalnom citogenetikom ili FISH-om, a važne su u dijagnozi, subklasifikaciji te u prognozi limfoma. Primarni kromosomski poremećaji mogu biti specifični ili nespecifični za pojedini subtip. Mnogi parametri i osobitosti stanica su prihvatljivi za digitalnu analizu u svrhu određivanja kinetike i proliferacijskog statusa limfoma: određivanje količine DNA, određivanje proliferacijskog statusa (Ki-67, osobine regije nuklearne organizacije – AgNOR-a). Postavlja se pitanje, da li će citološka punkcija u primarnoj dijagnozi i klasifikaciji limfoma rezultirati gubitkom arhivskog tkiva limfnih čvorova za komplementarne analize, reklasifikacije i/ili daljnja istraživanja? Citološka punkcija igra veliku ulogu u



---

odvajanju malignih od benignih limfadenopatija, naročito metastatskih promjena. Ako se citološki dokaže limfom kod prve obrade, preporuča se dodatna ekscizija i patohistološka analiza. U slučajevima relapsa, određivanja proširenosti bolesti i detekcije minimalne rezidualne bolesti, citološki uzorak upotpunjeno dodatnim tehnologijama je sasvim dostatan za dijagnozu.

Minimum u citološkoj dijagnostici povećanog limfnog čvora je standardna morfologija. Optimum je uz citomorfologiju određivanje klonalnosti B-limfocita na protočnom citometru, imunocitokemijsko određivanje staničnih biljega na razmazima, citogenetska analiza te određivanje preuređbe gena PCR-om. Za istraživanje ostaje određivanje proliferacijskog statusa (Ki-67, AgNOR) te statička DNA citometrija.

# MOLECULAR CLONALITY TESTING IN DISCRIMINATION BETWEEN REACTIVE AND MALIGNANT LYMPHOPROLIFERATIONS

<sup>1</sup>**Mirjana Mariana Kardum Paro, <sup>1</sup>Zoran Šiftar, <sup>1</sup>Zlata Flegar-Meštrić,  
<sup>2</sup>Ika Kardum-Skelin, <sup>3</sup>Slobodanka Ostojić Kolonić, <sup>4</sup>Slavko Gašparov**

<sup>1</sup>Department of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine Merkur University Hospital, Zagreb, Croatia

<sup>2</sup>Department of Clinical Cytology and Cytogenetics Merkur University Hospital, Zagreb, Croatia

<sup>3</sup>Department of Internal Medicine Merkur University Hospital, Zagreb, Croatia

<sup>4</sup>Institute of Pathology and Cytology Merkur University Hospital, Zagreb, Croatia

**Background:** Molecular analysis of immunoglobulin (IgH/IgK) and T cell receptor (TCR $\beta$ /TCR $\gamma$ ) genes rearrangement is often a useful adjunct to the cytomorphological and pathohistological diagnosis, specially in cases of clinically suspected lymphoproliferative disorders (LPDs) of T cell etiology. Although cyto- and histomorphology can discriminate between reactive and malignant LPDs the diagnosis is often supported by use of the polymerase chain reaction (PCR) which provides information of practical diagnostic value. **Aim of the study:** To investigate whether the routine molecular analysis of IgH/IgK and TCR $\beta$ /TCR $\gamma$  genes rearrangement could support the diagnosis of reactive or malignant LPD. Materials and Methods. DNAs from whole blood, bone – marrow aspirates and paraffin – embedded tissues were analysed. Proper analytical results of molecular analysis of IgH/IgK and TCR $\beta$ /TCR $\gamma$  genes rearrangement were confirmed by participation in independent External Quality Assurance (EQA) organized by UK NEQAS. Molecular analysis of genes rearrangement was done with Identicleone Gene Clonality Assays Gel detection method (InVivo Scribe Technologies) using multiplex PCR standardized according the European BIOMED-2 collaborative study in a molecular laboratory accredited according ISO 15189 standard. For the distinction of monoclonal/polyclonal genes rearrangement PAGE electrophoresis was performed where monoclonal IgH/IgK or TCR $\beta$ /TCR $\gamma$  genes rearrangements were identified as single-sized PCR products inside the valid size ranges. **Results:** In cases of clinically suspected reactive proliferations polyclonal IgH/IgK and TCR $\beta$ /TCR $\gamma$  genes rearrangements were found while in cases of suspected malignant proliferations monoclonal IgH/IgK and TCR $\beta$ /TCR $\gamma$  genes rearrangements were found. Only in one case both monoclonal IgH/IgK and TCR $\beta$ /TCR $\gamma$  genes rearrangement was seen. **Conclusion:** Although molecular clonality testing has matured into a reliable method easily used in every laboratory with routine molecular testing, the results should always be interpreted in the context of the clinical, morphological and pathohistological diagnosis.

# **POVEZANOST MORFOLOGIJE PLAZMA STANICA I NEKIH POZNATIH PROGNOSTIČKIH ČIMBENIKA U MULTIPLOM MIJELOMU**

## **CORRELATION OF PLASMA CELL MORPHOLOGY AND SOME KNOWN PROGNOSTIC FACTORS IN MULTIPLE MYELOMA**

**<sup>1</sup>Irena Seili-Bekafigo, <sup>2</sup>Toni Valković**

<sup>1</sup>Zavod za kliničku citologiju KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

<sup>2</sup>Klinika za internu medicinu KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

**Cilj:** Multipli mijelom (MM) je novotvorina plazma stanica (PS) vrlo raznolike prezentacije, biološkog ponašanja i odgovora na terapiju. Veoma je važno što ranije svrstati svakog pojedinog bolesnika u određenu kategoriju rizika, radi odabira personaliziranog liječenja. Aspiracijska punkcija koštane srži (KS) jedan je od prvih dijagnostičkih postupaka kod MM. Cilj ove studije je usporediti citomorfološke i morfometrijske karakteristike mijelomske plazma stanica (PS) u razmazu punktata KS sa kliničkim, molekularnim i citogenetskim prognostičkim čimbenicima. Hipoteza jest da postoji mogućnost da se na osnovu nekih morfoloških karakteristika PS već u samom početku dijagnostičkog postupka izdvoje visoko rizični bolesnici.

**Pacijenti i metode:** Studija je obuhvatila uzorke KS 90 pacijenata prikupljene u trenutku postavljanja dijagnoze, prije bilo kakvog liječenja. Na citološkim razmazima analiziran je niz morfoloških i morfometrijskih parametara: struktura kromatina, paranuklearni halo, binukleacija/multinukleacija, nukleoli, nepravilne jezgre, centralno smještene jezgre, vakuolizacija citoplazme, eozinofilne protruzije citoplazme („flaming“ PS), populci citoplazme, Russellova tjelešca, načupana citoplazma, postotak PS u KS, najveći promjer jezgre i citoplazme PS i omjer tih promjera. Te morfološke karakteristike uspoređene su sa poznatim prognostičkim čimbenicima: kliničkim stadijem po Durie-Salmonu (DS) i „International Staging System“-u (ISS), izražajem NF-κB i Ki-67 u mijelomske PS (određenim na istovremeno uzetim uzorcima biopsije kosti), te određenim prognostički lošim citogenetskim promjenama detektiranim metodom fluorescentne *in situ* hibridizacije (FISH) na citološkim razmazima.

**Rezultati:** Klinički stadij bolesti povezan je sa postotkom PS u KS, zrelom morfologijom, načupanom citoplazmom PS, populcima citoplazme, udjelom „flaming“ PS, nepravilnim jezgrama i paranuklearnim haloom. Načupana citoplazma i manji omjer promjera jezgre i citoplazme češće su uočeni uz del(13q14), a veći udio PS sa više jezgara nađen je uz del(13q14) i del(13q34). Russellova tjelešca češća su uz t(4;14). Izražaj NF-κB povezan je s načupanom citoplazmom, a izražaj Ki-67 sa krupnijim jezgrama, anizonukleozom, nepravilnim jezgrama, paranuklearnim haloom i nalazom PS sa više jezgara.

**Zaključak:** Neke od analiziranih citomorfoloških i morfometrijskih karakteristika PS pokazale su povezanost sa poznatim prognostičkim čimbenicima u MM. Detaljna morfološka analiza aspirata KS u trenutku postavljanja dijagnoze mogla bi pomoći u prepoznavanju bolesnika visokog rizika i omogućiti preliminarnu orientaciju o prikladnim terapijskim pristupima. Uočeno je da bi načupana citoplazma PS mogla biti prognostički značajna morfološka karakteristika.

# **KLINIČKI ZNAČAJ OBILJEŽJA MIJELOMSKIH STANICA I MIKROOKOLIŠA KOŠTANE SRŽI TIJEKOM PRAĆENJA BOLESNIKA NA TERAPIJI BORTEZOMIBOM**

**<sup>1</sup>Nives Jonjić, <sup>1</sup>Ita Hadžisejdić, <sup>1</sup>Emina Babarović, <sup>2</sup>Marija Livajić, <sup>3</sup>Toni Valković**

<sup>1</sup> Zavod za patologiju, KBC Rijeka, Hrvatska

<sup>2</sup> Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

<sup>3</sup> Klinika za internu medicinu KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

---

Multipli mijelom (MM) je multifokalna maligna neoplazma terminalno diferenciranih limfocita B karakterizirana sekrecijom monoklonalnih imunoglobulina. Bolest je progresivna s raznolikom kliničkom prezentacijom, genetskim abnormalnostima i prognozom koja može varirati od višegodišnjeg preživljjenja, do preživljjenja od svega nekoliko mjeseci. Važno je utvrditi biljege koji bi mogli predvidjeti učinak terapije i/ili biti od prognostičkog značaja za pacijente koji boluju od ove bolesti. Kortikosteroidi i kemoterapeutici predstavljali su osnovu u liječenju MM no, u posljednjem desetljeću liječenje se znatno promijenilo uvođenjem imunomodulacijskih lijekova kao što su talidomid, lenalidomid te inhibitora proteosoma, bortezomiba. Isti ne djeluju samo na mijelomske stanice već i na mikrookoliš koštane srži kroz regulaciju imunološkog odgovora, inhibiciju angiogenze i adheziju mijelomske stanice za stromalne stanice srži. Cilj našeg istraživanja je bio utvrditi fenotipska obilježja mijelomske stanice, karakteristike mikrookoliša u biopsiji koštane srži i odgovor na terapiju kod bolesnika s MM liječenih bortezomibom. Djelovanje bortezomiba temelji se na blokiraju multikatalitičkog enzima 26S proteosoma koji razgrađuje abnormalne ili oštećene proteine, označene i usmjerene putem ubikvitina za razgradnju, a bitni su za stanični ciklus i prepisivanje gena. Takvi蛋白素 are važni tijekom karcinogeneze jer osiguravaju nekontrolirano umnažanje, odnosno opstanak samih tumorskih stanica. Inhibicija proteosomskog puta u stanicama tumora će dovesti do apoptoze i smrti stanica. Međutim, cilj djelovanja bortezomiba nije isključivo mijelomska stanica nego i mikrookoliš koštane srži, reguliranjem koštane pregradnje, inhibicijom diferencijacije osteoklasta i poticanjem proliferacije osteoblasta. Upravo stoga cilj je bio imunohistokemijski utvrditi ekspresiju NF-κB, ciklina D1 i VEGF-a na mijelomskim stanicama, a u mikrookolišu prisustvo retikulina i gustoću krvnih žila. Dosadašnja istraživanja potvrđuje da je imunohistokemijska analiza pouzdana metoda za određivanje ekspresije navedenih biljega te da je bortezomib učinkovit lijek kod liječenja refraktornih bolesnika ili bolesnika sa relapsom bolesti. Međutim, za utvrđivanje značaja pojedinih biljega na prognozu i korelaciju sa kliničko-patološkim karakteristikama potrebna je veća i homogenija skupina ispitanika.

# CITOLOGIJA PLAZMASTANIČNIH NEOPLAZMI, GLEDANO OČIMA KLINIČARA

## THE CYTOLOGY OF PLASMA CELL NEOPLASMS AS VIEWED BY A CLINICIAN

Ana Planinc-Peraica

Klinička bolnica Merkur, Zagreb, Hrvatska  
Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

U dijagnostici multiplog mijeloma učinjen je veliki napredak. Za postavljanje dijagnoze, određivanje stadija i procjene rizika bolesti koristi se niz kliničkih, morfoloških i radioloških pretraga.

Citološka analiza koštane srži važan je dio dijagnostičkog postupka kod postavljanja dijagnoze. Citogenetske analize koriste se za procjenu rizika bolesti i odluku o načinu liječenja. Kod dijagnoze osim citološke analize koštane srži sa imunofenotipizacijom stanica limfatičnog reda i citogenetskih analiza važna metoda je i patohistološka analiza i metode molekularnih pretraga kojima se određuje klonalnost stanica.

Osobitost plazmastanične neoplazme je u tome što se početak liječenja ne temelji na nalazu malignog klena u koštanoj srži i dijagnosticiranju bolesti nego na temelju kliničkih pokazatelja da li je prisutno oštećenje organa koje se manifestira hiperkalcijemijom, renalnom insuficijencijom, anemijom i osteolitičkim promjenama. Takav pristup bolesti je i kod kronične limfocitne leukemije, ali na temelju drugih kriterija. Kod klonalne proliferacije plazma stanica a bez istovremeno prisutnih kliničkih i laboratorijskih znakova oštećenja organa dijagnosticira se klinički neznačajnu monoklonsku gamapatiju (MGUS) ili tinjajući multipli mijelom. Procjena kliničkih manifestacija bolesti u trenutku dijagnoze i njegova važnost za početak liječenja prihvaćena je prije više od desetak godina. Naime opaženo je da kod neznačajne monoklonske gamapatije i tinjajućeg multiplog mijeloma bolest može biti asimptomatska i bez znakova progresije tijekom niza godina. S druge strane liječenje uzrokuje izvjesni stupanj toksičnosti. Smatralo se je da rani početak liječenja neće spriječiti kasnije oštećenje organa. Međunarodna radna grupa za mutlipli mijelom definirala je kriterije za multipli mijelom prije nego do oštećenja organa dođe. Na temelju toga jedan dio bolesnika sa tinjajućim multiplim mijelomom će se liječiti jer je definiran rizik progresije u multipli mijelom sa oštećenjem organa.

Citološka analiza koštane srži sa imunofenotipizacijom plazma stanica koštane srži i molekularnim pretragama od važnosti je za procjenu stanja bolesti nakon zvršenog liječenja kemoterapijom i procjene da li je bolesnik kandidat za transplantaciju perifernih matičnih stanica. Isto ako citološka analiza koštane srži važan je dio dijagnostičkog postupka nakon transplantacije perifernih autolognih matičnih stanica i procjene remisije bolesti.

U Hrvatskoj se koriste kriteriji za dijagnozu, stratifikaciju i procjenu rizika koju je predložila Međunarodna grupa za multipli mijelom.

Osim kod dijagnoze, procjene rezultata liječenja i potvrde relapsa bolesti, citološka analiza i dodatne citološke metode od posebne su važnosti u dijagnostici plazmastaničnih diskrazija koje se atipično očituju kao što je npr. plazmocitom lokaliziran retrorobitalno, u pleuralnom izljevu, čeljusti, mekim tkivima i dr.

Nove dijagnostičke metode u razvoju istraživanja multiplog mijeloma omogućit će dulje preživljenje bolesnika i mogu pridonijeti smanjivanju morbiditeta i mortaliteta.

**HEMATOLOŠKA I ANALITIČKA CITOLOGIJA – AKUTNE LEUKEMIJE  
I MIJELODISPLAZIJE**

**HAEMATOLOGICAL AND ANALYTICAL CYTOLOGY – ACUTE  
LEUKAEMIA AND MYELODYSPLASIA**



# PRIKAZ CITOMORFOLOŠKIH KARAKTERISTIKA I CITOGENETIČKIH PROMJENA U AKUTNIM MIJELOIČNIM LEUKEMIJAMA- REZULTATI TIMA KBC ZAGREB

<sup>1</sup>**Sunčica Ries, <sup>1</sup>Koraljka Gjadrov Kuveždić, <sup>1</sup>Jasenka Antulov, <sup>1</sup>Romina Kanić,  
<sup>1</sup>Lucija Beljan, <sup>2</sup>Ivana Franić-Šimić, <sup>2</sup>Sanja Davidović**

<sup>1</sup>Zavod za patologiju i citologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Odjel za citogenetiku, Kliničkog bolničkog centra Zagreb, Zagreb, Hrvatska

**Uvod:** Citomorfološka i citokemijska analiza koštane srži je osnovna metoda za dijagnosticiranje akutnih mijeloičnih leukemija (AML), posebno skupine AML koje nisu drugačije klasificirane. Multidisciplinarnim pristupom postavljanju dijagnoze, prema kriterijima Svjetske zdravstvene organizacije (SZO), AML je određena nalazima morfoloških, imunoloških, citogenetičkih i molekularnih analiza. Kariotip AML, utvrđen kod postavljanja dijagnoze, važan je za praćenje i prognozu bolesti. Citogenetičke promjene se nalaze u oko 50 % odraslih bolesnika s AML, dok ostali imaju uredan kariotip. Promjene mogu zahvatiti samo jedan ili više kromosoma, te su prema prognostičkom značenju klasificirane kao povoljne, intermedijarne i nepovoljne.

**Cilj:** Utvrditi učestalost citogenetičkih promjena u AML klasificiranim prema kriterijima SZO.

**Materijali i metode:** Koštana srž dobivena aspiracijom bojena je standardnim bojenjem po May-Grunwald Giemsi (MGG) i citomorfološki analizirana pomoću svjetlosnog mikroskopa.

Promjene kariotipa (genoma) analizirane su dvjema metodama: klasičnom metodom GTG-pruganja (*Giemsa-Tripsin-Giemsa*) i metodom fluorescencijske *in situ* hibridizacije (engl. *Fluorescence In Situ Hybridization*, FISH).

**Rezultati:** Tijekom tri godine u 146 odraslih bolesnika citomorfološki je dijagnosticirana AML. U 121 bolesnika rađeni su FISH i GTG, u dalnjih 20 samo FISH. AML s karakterističnim citogenetičkim greškama morfološki su dijagnosticirane u 30 bolesnika (FISH-om potvrđene u 26); u tih 30 bolesnika u 24 morfološki je dijagnosticiran prognostički povoljni kariotip (FISH-om potvrđen u 23). AML sa znacima displazije morfološki su dijagnosticirane u 36 bolesnika, citogenetičkim analizama nađen je uredan do kompleksni kariotip.

**Zaključak:** Karakteristična citomorfološka obilježja AML koja upućuju na povoljan kariotip mogu se uspješno dijagnosticirati u rutinskom radu. Višelinjske displazije u AML ne upućuju na karakteristične citogenetičke promjene.

# CITOMORFOLOGIJA – TEMELJNA SASTAVICA PROGNOSTIČKIH SUSTAVA U MIJELODISPLASTIČNOM SINDROMU

## CYTOMORPHOLOGY – A CORNERSTONE OF PROGNOSTIC SYSTEMS IN MYELODYSPLASTIC SYNDROMES

<sup>1</sup>Gordana Kaić, <sup>1</sup>Biljana Jelić Puškarić, <sup>1,2</sup>Slobodanka Kolonić-Ostojić,

<sup>1,2</sup>Ana Planinc-Peraica, <sup>1,3</sup>Delfa Radić Kršto, <sup>1</sup>Njetočka Gredelj-Šimec, <sup>1</sup>Inga Mandac Rogulj,

<sup>1</sup>Marko Martinović, <sup>1</sup>Marin Kursar, <sup>1</sup>Marina Pažur, <sup>1,2</sup>Ika Kardum-Skelin

<sup>1</sup>Klinička bolnica Merkur, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup>Medicinski fakultet Sveučilišta u Osijeku, Osijek, Hrvatska

Mijelodisplastični sindrom (MDS) je grupa srodnih, klonalnih bolesti matične hematopoetske stanice koje se manifestiraju poremećajima maturacije i diferencijacije, morfološki vidljivim kao displazija hematopoetskih loza te posljedičnom inefektivnom hematopoezom, perifernim citopenijama, s/bez porasta blasta u koštanoj srži i perifernoj krvi. Te bolesti imaju različitu kliničku prezentaciju, nedovoljno poznate uzroke i mehanizme nastanka te manju ili veću vjerojatnost progresije u akutnu leukemiju. Ta vjerojatnost progresije povezana je s dužinom preživljjenja bolesnika. Zbog heterogenosti mogućih ishoda stvorila se potreba za njihovim predviđanjem radi odabira odgovarajućeg terapijskog pristupa.

Dobro je poznat značaj citomorfoloških obilježja u dijagnostici MDS-a, no ona su i sastavni dio odgovarajućih prognostičkih sustava. Svrha ovog izlaganja je prikazati najčešće korištene sustave i elemente od kojih su izgrađeni.

Do 1997. g. bilo je u upotrebi nekoliko prognostičkih sistema uključujući i Francusko-američko-britansku (FAB) klasifikaciju, baziranu isključivo na morfološkim obilježjima koštane srži. Prepreku preciznijoj prognozi uglavnom je činio vrlo širok raspon blasta u kategorijama refraktorne anemije s ekscesom blasta i kronične mijelomonocitne leukemije (5-20 %, odnosno 1-20 %) sa širokim rasponom ishoda. 1997. g. napravljen je Međunarodni prognostički indeks, IPSS (engl. *International Prognostic Scoring System*) koji je omogućio precizniju procjenu preživljjenja i vjerojatnosti progresije u akutnu leukemiju na način da se stratificirao broj blasta (< 5 %, 5-10 %, 11-20 %, 21-30 %) te uključili citogenetski (povoljne vs intermedijarne vs nepovoljne abnormalnosti kromosoma) i klinički podatci o broju citopenija (0-1 vs 2-3). Na taj način dobivene su četiri prognostičke grupe, niskog i visokog rizika, te dvije intermedijarne grupe. Zbog svoje jednostavnosti, sustav je široko prihvaćen i korišten no zbog njegovih ograničenja javljali su se i drugi sistemi koji su pokušali premostiti nedostatke IPSS-a. Prognostički sustav Svjetske zdravstvene organizacije, WPSS (engl. *WHO-based Prognostic Scoring System*) temelji se na broju displastičnih loza, udjelu blasta, citogenetskih kategorija kao u IPSS-u te prisutnosti/odsutnosti jake anemije. Za razliku od IPSS-a koji je ograničen na novodijagnosticirane, neliječene, *de novo* MDS bolesnike, WPSS je validiran, dinamičan sustav bez tog ograničenja. Nadalje, uočeno je da za razliku od bolesnika u grupama visokog rizika, čiji ishod određuje leukemijska evolucija, smrtnost kod bolesnika u grupama niskog rizika ovisi o komplikacijama insuficijencije koštane srži i postojećim komorbiditetima. Tome problemu prilagođen je Prognostički sistem za MDS niskog rizika, LR-PSS (engl. *Lower-Risk MDS Prognostic Scoring System*, MD Anderson Cancer Center) koji osim broja blasta, citogenetike i citopenija značajno vrednuje dob bolesnika i prisutnost jake trombocitopenije. Oko trećine bolesnika, prvotno svrstanih kao niski rizik, redefinira kao visoki rizik, što ima terapijske konsekvene. Isti problem rješava i nedavno revidirani IPSS, R-IPSS. Dodana mu je procjena broja i jakosti citopenija, te uključuje više kromosomskih abnormalnosti nego IPSS. Kategorija blasta < 5 %, iz



IPSS-a, u R-IPSS-u dodatno je stratificirana ( $\leq 2\%$ ,  $>2 - < 5\%$ ), čime se kvalificira prognostički nepovoljan učinak tek blago umnoženih blasta.

Prepostavlja se da će u skoroj budućnosti i molekularne genetske alteracije, analogno citogenetskim, biti inkorporirane u prognostičke sustave. Iako se ti sustavi razvijaju i mijenjaju usporedno s napretkom znanosti i usvajanjem novih spoznaja, činjenica je da su citomorfološka obilježja i dalje njihova konstanta.

# KORISNOST VIŠEBOJNE ANALIZE PROTOČNOM CITOMETRIJOM U DIJAGNOSTICI MIJELODISPLASTIČNOG SINDROMA

## UTILITY OF MULTICOLOR FLOW CYTOMETRIC ANALYSIS IN DIAGNOSIS OF MYELODYSPLASTIC SYNDROME

<sup>1</sup>Zoran Šiftar, <sup>2</sup>Delfa Radić Krišto, <sup>2</sup>Ana Planinc Peraica, <sup>2</sup>Njetočka Gredelj Šimec,  
<sup>2</sup>Inga Mandac Rogulj, <sup>2</sup>Slobodanka Ostojić Kolonić, <sup>3</sup>Biljana Jelić Puškarić, <sup>3</sup>Gordana Kaić,  
<sup>3</sup>Ika Kardum-Skelin, <sup>4</sup>Anita Škrćić, <sup>4</sup>Slavko Gašparov, <sup>1</sup>Zlata Flegar-Meštrić

<sup>1</sup>Klinički zavod za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu, KB Merkur, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Zavod za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti, Referentni centar Ministarstva zdravlja za dijagnostiku i lijeчење mijelodisplastičnog sindroma, Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup>Zavod za kliničku citologiju i citogenetiku, KB Merkur, Zagreb, Hrvatska

<sup>4</sup>Klinički zavod za patologiju i citologiju, KB Merkur, Zagreb, Hrvatska

**Cilj:** Dijagnoza mijelodisplastičnog sindroma (MDS) se prema važećim međunarodnim smjernicama postavlja na temelju morfoloških karakteristika stanica hematopoeze uz nadopunu nalaza citogenetskom analizom i imunofenotipizacijom koštane srži. Cilj ovog rada je procijeniti dijagnostičku vrijednost imunofenotipizacije protočnom citometrijom u dijagnostici MDS-a korištenjem njene glavne karakteristike – višebojne/multiparametarske analize primjenom European LeukemiaNet Working Group protokola za analizu displazija protočnom citometrijom u pacijenata sa sumnjom na MDS.

**Materijal i metode:** U periodu od 03.2014 do 01.2016. za 102 pacijenata sa sumnjom ili dijagnosticiranim MDS-om, 47 ženskih i 55 muških osoba, dijagnostički obrađivanih u **Referentnom centru Ministarstva zdravlja za dijagnostiku i lijeчењe mijelodisplastičnog sindroma**, učinjena je imunofenotipizacija stanica protočnom citometrijom na uzorcima koštane srži akreditiranim metodama prema normi HRN EN ISO 15189 za određivanje površinskih staničnih biljega. Analitička pouzdanost dobivenih rezultata potvrđena je sudjelovanjem u vanjskoj procjeni kvalitete organizatora UKNEQAS for Leukocyte Immunophenotyping u kontinuiranim ciklusima provođenim 3 puta godišnje u klinički značajnom koncentracijskom području. Prema ELN protokolu imunofenotipizacijom su obuhvaćeni stanični odjeljci nezrelih mijeloičnih stanica, neutrofilnih granulocita, monocita, eritrocita i nezrelih stanica B limfocita, a u svrhu otkrivanja neuobičajenog izražaja staničnih antigena/ imunofenotipske abnormalnosti na zrelim i nezrelim stanicama. Sva mjerena su urađena na protočnom citometru FC500, Beckman-Coulter, u 5 kolor analizi. Prema broju pronađenih fenotipskih anomalija rezultati su razvrstani u skupine: 0-1, 2-4 u jednoj lozi, 2 i više anomalija u 2 ili više loza, i okarakterizirani kao negativni, suspektni i potvrđni na MDS. Citomorfološkom i/ ili histopatološkom analizom koštane srži 62 pacijenta su klasificirana kao MDS, 6 sa mijeloproliferativnom neoplazmom (MPN), a za 34 nije bilo kriterija za MDS.

**Rezultati:** Imunofenotipizacijom stanica koštane srži u 62 MDS bolesnika je nađeno do 9 fenotipskih anomalija. Karakterizirani su kao pozitivan nalaz , 50, suspektan na MDS, 5, a za 7 je nalaz bio negativan. U 6 MPN pacijenata imunofenotipizacijom je nađeno do 4 anomalije prema kojima su 2 okarakterizirana kao negativni, 3 suspektni na MDS, a 1 pacijent kao potvrđni MDS. U grupi od 34 pacijenta koji nisu imali citomorfološke kriterije za MDS, nađene su do 4 fenotipske abnormalnosti. Kao negativni su opisana 22 pacijenta, 5 kao suspektni i 5 pozitivni na MDS. Obradom analize rezultata dobivena je osjetljivost od 88,7 %, i specifičnost 60 %.

**Zaključak:** Standardizacijom postupka, analize i obrade rezultata povećana je objektivnost nalaza imunofenotipizacije uobradi pacijenata sa sumnjom na MDS. Nalaz imunofenotipizacije sam za sebe nije osnova za dijagnozu MDS-a, ali uz dokazana morfološka obilježja daje objektivnu potvdu postavljene dijagnoze, zbog čega je imunofenotipizacija protočnom citometrijom postala važno oruđe u dijagnozi i prognozi bolesti MDS-a.

# CITOGENETIKA MIJELODISPLASTIČNIH SINDROMA

## CYTOGENETICS OF MYELODYSPLASTIC SYNDROMES

<sup>1</sup>**Ružica Lasan-Trčić**, <sup>2</sup>Ika Kardum-Skelin, <sup>3</sup>Njetočka Gredelj-Šimec,  
<sup>3</sup>Slobodanka Ostojić-Kolonić

<sup>1</sup> Clinical Unit for Cytogenetics, Clinical Department of Laboratory Diagnosis, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb, Croatia

<sup>2</sup> Department of Clinical Cytology and Cytogenetics, Merkur University Hospital, Zagreb, Croatia

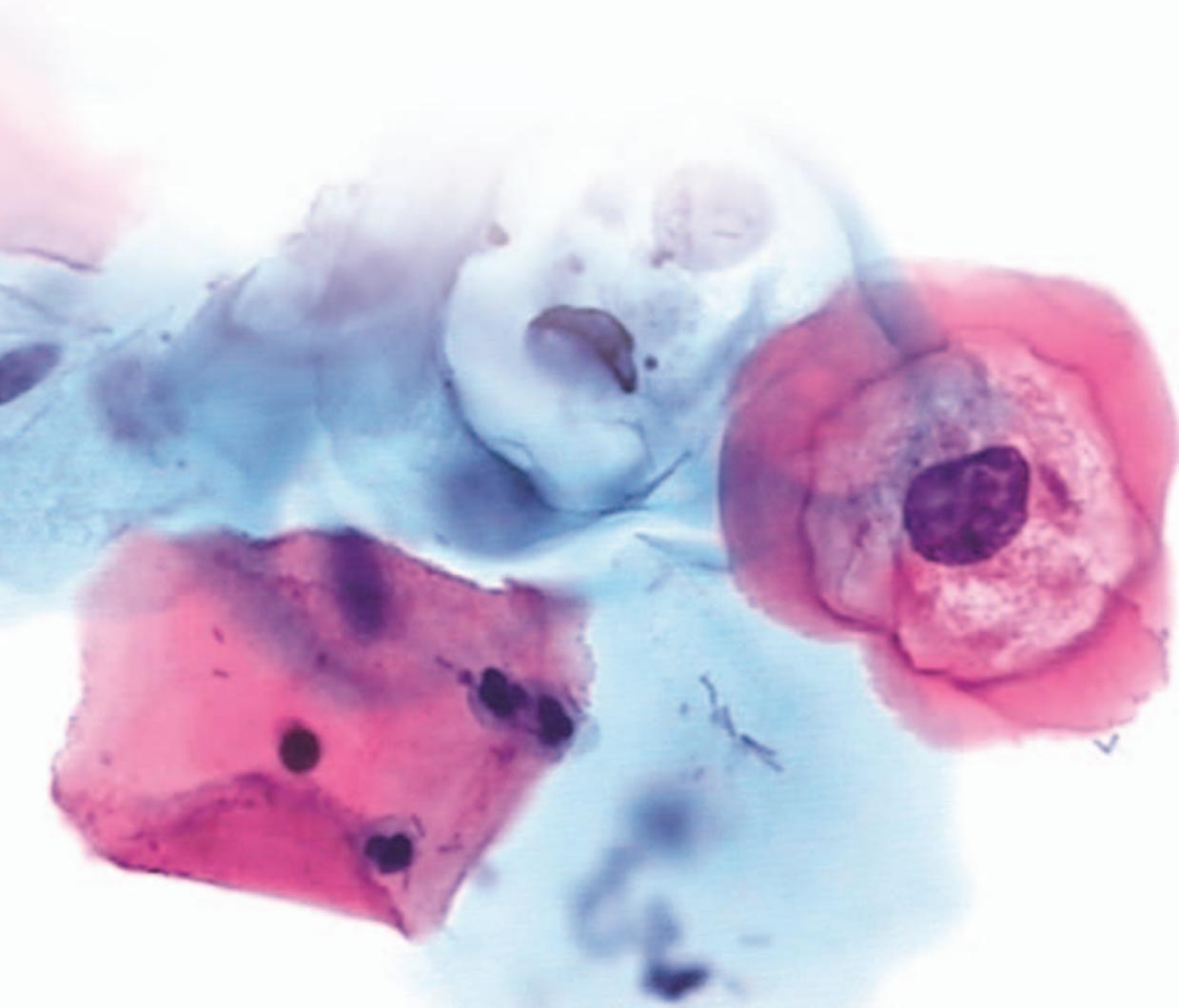
<sup>3</sup> Department of Internal Medicine Merkur University Hospital, Zagreb, Croatia

The myelodysplastic syndromes (MDS) comprise a group of acquired bone marrow diseases characterized by profound heterogeneity in morphologic presentation, clinical course, and cytogenetic features. Roughly 50 % of patients display clonal chromosome abnormalities. The Revised International Prognostic Scoring System (IPSS-R) classified karyotypic abnormalities into five prognostic subgroups with more uncommon cytogenetic subsets. We cytogenetically analyzed 166 adult patients with primary MDS. Chromosome analysis from bone marrow aspirate cells was performed according standard laboratory techniques with G-banded chromosomes and FISH. The clonal chromosomal abnormalities with single or multiple changes were revealed in 59.7 % (166/101) patients. The most common single chromosome abnormalities were: -Y(12 %) and del(5q)(13 %), +8(8 %), -7(6 %), del(7q) (3 %), del(11q) and +21(3 %), and lower percentage of del(12p) i(17)(q10), +19 and del(20q). Double chromosomal abnormalities was found in 6.5 % patients. Occurrence of new translocations has also been reported in MDS patients. In the present series 6.5 % revealed other chromosome abnormalities. It remains to be seen if any specific gene/genes in these new translocations are of special significance in MDS. Complex karyotype with a broad range of the number of abnormalities (three and >3 chromosome abnormalities) was found in 28.5 % of patients.

According to IPSS cytogenetic categories: 59.6 % (99) patients were classified in very good- and good risk subgroup, 22.3 % (37) patients in intermediate-risk subgroup, and 18.1 % (30) patients in poor-risk and very poor-risk subgroup. There were no significant difference between the results found in literature and those obtained by our study. In conclusion, our study represents a valuable contribution to the ongoing efforts to update the IPSS by refining the cytogenetic risk categories.

**HEMATOLOŠKA I ANALITIČKA CITOLOGIJA 3**  
**HEAMATOLOGICAL AND ANALYTICAL CYTOLOGY 3**

---



# ULOGA CITOLOGIJE U DIJAGNOSTICI I PRAĆENJU SISTEMSKE MASTOCITOZE

<sup>1</sup>Gorana Aralica, <sup>1</sup>Tajana Štoos Veić, <sup>1</sup>Čedna Tomasović Lončarić, <sup>1</sup>Marija Škoro,  
<sup>1</sup>Nina Petra Novak, <sup>2</sup>Rajko Kušec

<sup>1</sup>Klinički zavod za patologiju i citologiju KB Dubrava, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Odjel za molekularnu dijagnostiku i genetiku KB Dubrava, Zagreb, Hrvatska

**Uvod i cilj:** Mastocitoze su klonalne neoplastične proliferacije mastocita, koje su prema važećoj Klasifikaciji tumora hematopoetskog i limfnog sustava Svjetske zdravstvene organizacije (SZO) iz 2008. godine podskupina mijeloproliferativnih neoplazmi (MPN). Kutane mastocitoze se obično javljaju u dječjoj dobi, a u odrasloj dobi su češće sistemske mastocitoze (SM), među njima i indolentna sistemska mastocitoza. Kriteriji za dijagnozu sistemske mastocitoze su glavni i sporedni, a uključuju morfologiju, molekularnu i biokemijsku dijagnostiku. Unutar skupine sistemskih mastocitoza, dio čine one udružene s drugim klonalnim nemastocitnim hematološkim bolestima. Ovdje prikazujemo dva slučaja bolesnika sa sistemskom mastocitozom i udruženom drugom klonalnom nemastocitnom hematološkom bolesti.

**Materijali i metode:** U ovom izvještaju prikazana su dva bolesnika s dijagnozama SM- MPN uz pregled relevantne literaturе. U oba naša slučaju klinička slika primarno je bila povezana uz sliku hematološke neoplazme (MDS/MPNa). Morfološki i imunohistokemijski su u oba slučaja ispunjeni kriteriji za dijagnozu sistemske mastocitoze, uz dokaz c-kit mutacije. U sklopu obrade hematološke bolesti učinjena je i citološka punkcija koštane srži te su opisani karakteristično promijenjeni, vretenasti mastociti uz istovremenu dijagnozu druge hematološke neoplazme.

**Zaključak:** Sistemska mastocitoza je rijetka bolest, što je potvrđeno u retrospektivnim studijama na velikim serijama biopsija koštane srži. Obzirom na udruženost s drugim hematološkim neoplazmama, postoji mogućnost da je prvi morfološki uzorak citološki razmaz punktata koštane srži. Poznavanje citoloških značajki patoloških mastocita je važno kako bi se ukazalo na moguću dijagnozu sistemske mastocitoze.

# BEAD-BASED FLOW CYTOMETRY AS A TOOL FOR THE ANALYSIS OF CYTOKINE IMMUNE RESPONSES IN HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS TYPE 1 INFECTION

<sup>1</sup>**Snjezana Zidovec Lepej**, <sup>1</sup>**Lana Gorenec**, <sup>1</sup>**Ivana Grgić**, <sup>1</sup>**Janja Iščić-Beš**, <sup>1</sup>**Adriana Vince**,  
<sup>2</sup>**Josip Begovac**

<sup>1</sup> University Hospital for Infectious Diseases, Department of Molecular Diagnostics and Flow Cytometry, Mirogojska 8, Zagreb, Croatia

<sup>2</sup> University of Zagreb, School of Medicine, Salata 3, Zagreb, Croatia and University Hospital for Infectious Diseases, Department of Viral Hepatitis, Mirogojska 8, Zagreb, Croatia

**Objective:** Immune hyperactivation is one of the major contributors to the patogenesis of chronic human immunodeficiency virus type 1 infection (HIV-1) leading to CD4+ T-cell depletion, loss of homeostasis, numerous maturational and differentiation abnormalities and changes in the patterns of cytokine synthesis. The aim of this study was to compare Th1, Th2, Th9, Th17 and Th22 cytokine pattern expression in acute and chronic stage of HIV-1 infection by using bead-based flow cytometry.

**Material and methods:** The study enrolled 34 HIV-infected adults receiving clinical care at the Croatian Reference Center for HIV/AIDS, University Hospital for Infectious Diseases "Dr. Fran Mihaljević" in Zagreb, Croatia that have been diagnosed at the acute stage of infection and 22 HIV-negative controls. Cytokine concentrations were analysed at 3 time points (acute infection and 6 as well as 12 months after diagnosis). Concentrations of 13 cytokines (IFN-γ, IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12 p70, IL-13, IL-17A, IL-22 and TNF-α) in the plasma was determined by using Human Th1/Th2/Th9/Th17/Th22 13plex Kit FlowCytomix (eBioscience, San Diego, California, USA). Peripheral blood lymphocyte subpopulations and absolute counts of CD4+ T-cells were analysed by using four-color flow cytometric panels (CD45-FITC/CD4-RD-1/CD8-ECD/CD3-PC-5/CD38-PC7 and CD45-FITC/CD56-RD-1/CD19-ECD/CD3-PC-5/HLA-DR PC7) on Cytomics FC500 (Beckman Coulter, Brea, California, USA).

**Results:** Concentrations of IL-10, IL-4 and TNF-α were increased in the acute HIV type 1 infection when compared to control group. The same three cytokines, IL-10, TNF-α and IL-22 maintained significantly increased during chronic stage in samples collected 12 months after acute HIV-1 infection ( $P = 0.003$ ;  $P = 0.007$  and  $P = 0.014$ , respectively). Additionally, at the same time point IL-2, IL-6 and IL-13 concentrations were also elevated when compared to control group ( $P = 0.028$ ;  $P = 0.046$  and  $P = 0.037$ , respectively). Concentrations of IL-9 significantly decreased between acute and chronic stages of ( $P = 0.04$ ). When comparing cytokine levels in persons with undetectable plasma viremia during third time point, 12 months after acute HIV-1 infection ( $N = 16$ , 42.1%), concentrations of IL-2, IL-10, IL-22, IL-4 and TNF-α were significantly increased ( $P = 0.024$ ;  $P = 0.014$ ;  $P = 0.026$ ;  $P = 0.044$  and  $P = 0.018$ , respectively).

**Conclusion:** This study showed a change in the cytokine profiles in acute versus chronic HIV-1 infection. The hyperactivation of the immune system is present even during chronic HIV-1 infection with sustained viral replication. Bead-based flow cytometry is a convenient experimental tool for the assessment of complex cytokine diseases profiles.

# POLYCHROMATIC FLOW CYTOMETRY IN IMMUNOPHENOTYPING OF PRIMARY IMMUNODEFICIENCIES: HIDDEN PHENOTYPES REVEALED

**Denis Polančec, Ivana Banić, Sandra Bulat Lokas, Jelena Živković, Lucija Zenić,  
Mirjana Turkalj**

Children's Hospital Srebrnjak, Zagreb, Croatia

**Aim:** Research and clinical laboratories addressing investigation and diagnostics of primary immunodeficiencies (PID) use flow cytometry for phenotypical and functional measurements of immune cells. Modern flow cytometers with multiple lasers and fluorescence detectors and the development of novel flurochromes conjugated to specific antibodies are used in various combinations. Simoultaneous measurement of numeorus parameters gives an insight into many phenotypically and functionally distinct subsets of leukocytes, any of which might be clinically relevant. The aim of this study was to establish a reliable and robust polychromatic flow cytometry assay for the daily routine analysis of human peripheral blood lymphocyte subsets in order to improve diagnostics and monitoring of PID in children.

**Material and methods:** Peripheral whole blood samples were stained with antibodies for the cell surface markers: CD45, CD3, CD4, CD8, CD19, CD56 and CD16 as well as for the two activation markers: HLA-DR and CD27. Samples were lysed and fixed with 1x FACS Lysing™ solution (BD Biosciences, USA). Upon centrifugation, leukocyte pellets were resuspended in 1 % paraformaldehyde/PBS. Acquisition of the samples was performed using the Navios™ flow cytometer (Beckman Coulter, USA). Data were analyzed using the FlowLogic™ software package (Inivai Technologies, Australia).

**Results:** Peripheral blood samples from more than 200 patients aged 2-18 years were analysed in the same manner. A dual-panel platform involving two six-color antibody combinations and an extensive analysis of the FCS data files resulted in the finding of an increased number of cells giving rise to several interesting immunophenotypes:  $CD19^{\text{low}}CD27^{\text{high}}$  B cells,  $CD3^+CD8^+CD16^{\text{high}}$  T cells,  $CD3^-CD16^-CD56^+CD27^+$  cells and  $CD3^-CD16^+CD56^+CD19^+$  lymphocytes.

**Conclusions:** Polychromatic flow cytometry implementing an expanded immune monitoring panel in routine immunophenotyping enabled the detection of lymphocyte subsets that could not be resolved in protocols where typical four-color immunophenotyping assays were used. In the studies of immune disorders, such as primary immunodeficiencies, a polychromatic approach using even six colors may allow a deeper insight and understanding of the complex interplay between immune cells and improve diagnostic procedures.

# **SUBPOPULACIJE B-STANICA PERIFERNE KRVI U DIJAGNOSTICI OBIČNE PROMJENJIVE IMUNODEFICIJENCIJE**

## ***SUBPOPULATION OF B-CELLS IN DIAGNOSIS OF COMMON VARIABLE IMMUNODEFICIENCY***

***<sup>1</sup>Lejla Kurić, <sup>2</sup>Jadranka Kelečić, <sup>1</sup>Antonija Babić, <sup>1</sup>Klara Dubravčić, <sup>1,3</sup>Drago Batinić***

<sup>1</sup>KBC Zagreb, Zagreb, Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Odjel za laboratorijsku imunologiju

<sup>2</sup>KBC Zagreb, Zagreb, Klinika za pedijatriju, Zavod za kliničku imunologiju, respiracijske i alergološke bolesti i reumatologiju

<sup>3</sup>Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, Medicinski fakultet

**Uvod:** Nakon izoliranog manjka imunoglobulina A, obična promjenjiva imunodeficijencija (*engl. common variable immunodeficiency – CVID*) najčešća je primarna imunodeficijencija s incidencijom 1:20000-1:50000. Kriteriji za dijagnozu uključuju: 1. sniženu razinu imunoglobulina G najmanje 2 sd ispod donje granice normale za dob, sniženu razinu imunoglobulina A, ponekad imunoglobulina M; 2. nizak/odsutan titar izohemaglutinina i/ili nedostatan odgovor na cijepljenje; 3. početak simptoma iza 2. godine života; isključenje ostalih uzroka hipogamaglobulinemije. Bolest je klinički obilježena rekurentnim infekcijama pretežito dišnog i probavnog sustava, automunim, inflamatornim i limfoproliferativnim poremećajima, te povećanom sklonosti malignim bolestima. Etiopatogenetski radi se o poremećaju diferencijacije B limfocita u plazma-stanice, što rezultira smanjenom produkcijom protutijela. Cilj ove pilot-studije bio je ispitati primjenjivost rutinske analize subpopulacija limfocita B periferne krvi u djece sa sumnjom na CVID-a.

**Materijal i metode:** U periodu 09/2013.-12/2015. prikupljeni su uzorci periferne krvi 17 djece sa sumnjom na CVID. Medjan dobi pri uzorkovanju bio je 13 godina (raspon 3-18 godina). Protočnom citometrijom analizirane su subpopulacije limfocita B primjenom dvaju 4-strukih panela protutijela na biljege limfocita B: IgM/IgD/CD19/CD27 i IgM/CD38/CD19/CD21. U svim je uzorcima usporedno određen osnovni imunološki status (T+CD4+CD8+B+NK) te kompletna krvna slika za izračun apsolutnih vrijednosti limfocitnih subpopulacija.

**Rezultati:** Primjenom navedene metodologije, u perifernoj krvi moguće je razlikovati nekoliko subpopulacija limfocita B – naivne, marginalne, prekopčane (*switched*), memoriske IgM+, tranzicijske, kao i CD21<sup>slabo+</sup> B-stanice i plazmablaste. U više od 90 % bolesnika sa sumnjom na CVID nađen je normalan udio limfocita B u perifernoj krvi, dok je u dijelu bolesnika nađen promijenjen odnos B-staničnih subpopulacija. Radilo se o sniženom udjelu prekopčanih (CD27<sup>+</sup>IgM<sup>+</sup>IgD<sup>-</sup>), povećanju udjela tranzicijskih (IgM<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>CD21<sup>+</sup>) ili povećanju CD21<sup>slabo+</sup> limfocita B. Od 17 analiziranih bolesnika sa sumnjom na CVID, samo četiri bolesnika su u potpunosti zadovoljili kliničko-laboratorijske kriterije za dijagnozu te bolesti. U ostalih 13 ispitanika promjenjiva razina serumskih imunoglobulina bila je praćena splenomegalijom i autoimunim citopenijama (n = 11), granulomatoznom upalom (n = 2) ili enteropatijom (n = 2).

**Zaključak:** Relativno malen udio dijagnosticiranih bolesnika s CVID-om u ovom istraživanju odraz je ne samo malenog broja ispitanika, već i varijabilne kliničke slike bolesti u kojoj prosječno vrijeme od sumnje do potvrde dijagnoze u prosjeku iznosi 4 godine. Stoga je praćenje bolesnika sa sumnjom na CVID, uključujući i analizu B-staničnih subpopulacija periferne krvi od posebne važnosti radi pravilne dijagnostike i klasifikacije CVID-a.

# **ALERGOLOŠKO TESTIRANJE IZ PUNE KRVI: POBOLJŠANA I POUZDANA METODA ZA DETEKCIJU AKTIVACIJE BAZOFILA PROTOČNOM CITOMETRIJOM**

## **WHOLE BLOOD TESTING FOR ALLERGIES: A ROBUST AND RELIABLE FLOW CYTOMETRY METHOD FOR MEASUREMENT OF BASOPHIL ACTIVATION**

**Lucija Zenic, Denis Polancec, Ivana Banic, Sandra Bulat Lokas, Jelena Zivkovic,  
Mirjana Turkalj**

Children's Hospital Srebrnjak, Zagreb, Croatia

**Aim:** Flow cytometry is today routinely used by clinical laboratories in diagnostics of allergies. Modern flow cytometers with multiple lasers and fluorescence detectors, and the development of novel flurochromes conjugated to specific antibodies allow simultaneous measurement of numerous parameters. Basophil activation test (BAT) is widely used for the *in vitro* detection and estimation of immediate -type allergic reactions and hypersensitivity to various allergens. Several variants of BAT are commercially available on the market as *in vitro* diagnostic (IVD) reagents. The aim of this study was to establish a reliable and robust polychromatic flow cytometry assay for the daily routine analysis of basophil activation and degranulation changes.

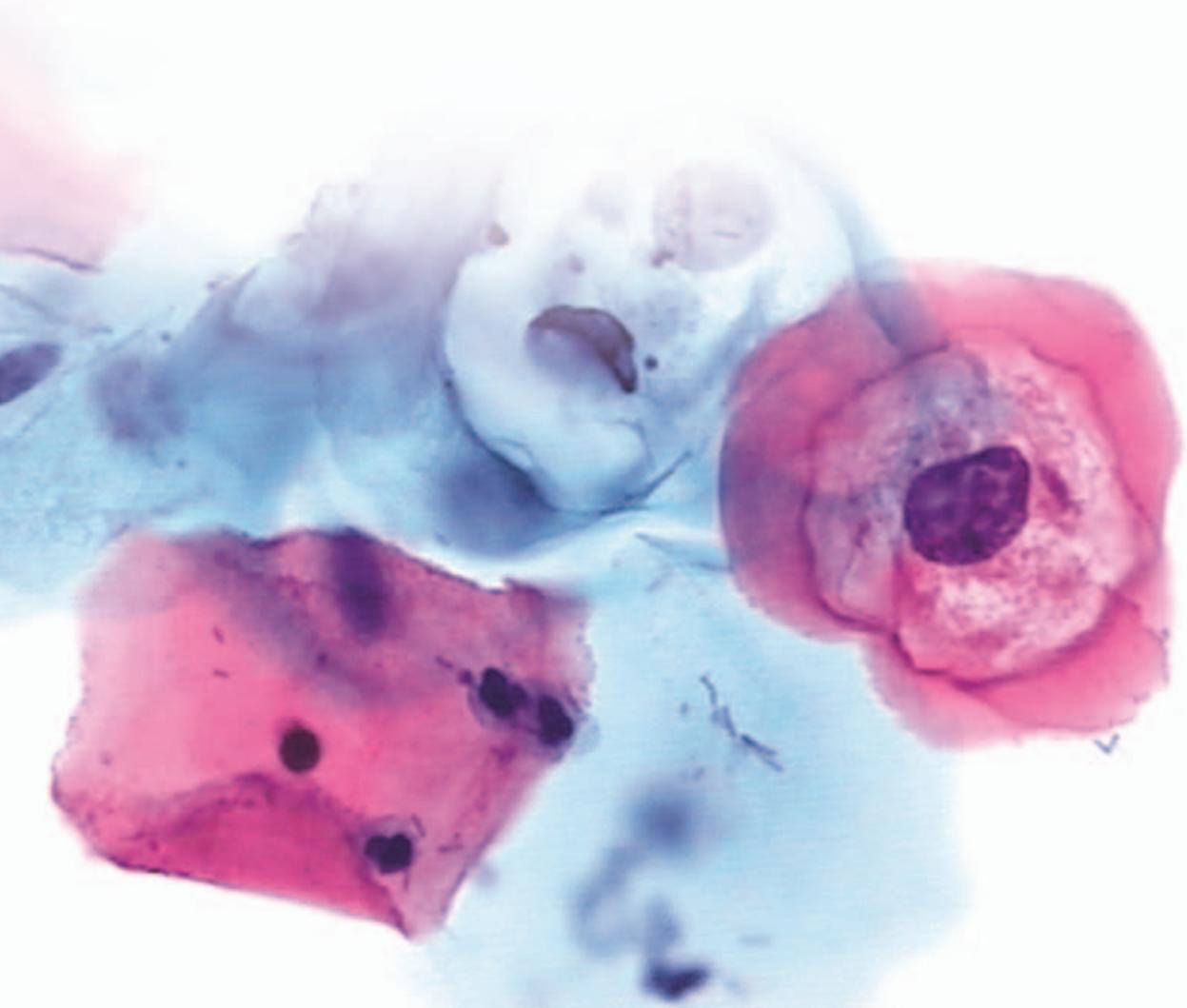
**Methods:** Peripheral whole blood samples were stained with antibodies for the cell surface markers: CD45, CD203c, CD63, CCR3, CD11bAE. Samples were prepared using the FlowCAST® (Bühlmann, Switzerland) protocol. Acquisition of the samples was performed using the Navios™ flow cytometer (Beckman Coulter, USA). Data were analyzed using the FlowLogic™ software package (Inivai Technologies, Australia).

**Results:** Once the panel was designed, peripheral blood from 20 patients aged 2-18 years was analysed in the same way. Results showed that the simultaneous use of CD45, CD203c, CD63 and CCR3 antibodies allows a better basophil segregation and a precise activation measurement, especially in cases when a massive degranulation results in overlapping side scatter (SSC) signals of basophil and eosinophil clusters and therefore hinders the characterisation and gating of the activated basophils by SSC/CCR3 parameters.

**Conclusions:** The use of anti-CD203c antibody in combination with anti-CD45, anti-CCR3 and anti-CD63 antibodies has been shown useful for a better resolution of the activated CD63+ basophils compared to the classical protocol where only CD63 or CD203c in combination with CCR3 is used. The expression measurement of CD203c as an activation as well as a differentiation marker increases the sensitivity of the BAT method in allergy diagnostics using multicolor flow cytometry.

**CITOLOGIJA DOJKE / BREAST CYTOLOGY**

---



# OUR EXPERIENCE OF A ONE-DAY BREAST CLINIC

**Philippe Vielh**

National Laboratory of Health, Luxembourg

---

We will first explain to the attendants why we decided to open a one-day clinic for breast lesions.

Then we will explain the logistics of the clinic as well as the guidelines we follow.

The results concerning a large series of patients will be illustrated.

A brief talk about application of molecular cytopathology in this setting will be presented.



# CORRELATION OF PREOPERATIVE CYTOLOGY AND POSTOPERATIVE PATHOLOGY IN 800 BREAST CANCER PATIENTS

**<sup>1</sup>Vesna Ramljak, <sup>1</sup>Iva Bobus Kelcec, <sup>1</sup>Merdita Agai, <sup>2</sup>Iva Kirac**

<sup>1</sup>Department for Cytology University Hospital Center Sestre milosrdnice, Zagreb, Croatia

<sup>2</sup>Department for Surgical Oncology, University Hospital for Tumors, University Hospital Center Sestre milosrdnice, Zagreb, Croatia

---

**Introduction:** Breast cancer incidence is about 3000 cases annually in Croatia. University Hospital for Tumours Breast Unit is involved in diagnosis, treatment and follow up of over 800 new cases annually. In past year this enabled cytology to maximise its specificity and sensitivity and to be included in one day diagnosis.

**Materials and methods:** From 1st January 2015 until 31st December 2016, 837 breast cancer patients were diagnosed and treated. We analysed the correlation of preoperative cytology report vs. pathology reports postoperatively as well as preoperative core biopsy reports vs. pathology reports postoperatively.

**Results and conclusion:** Preliminary results show a good correlation and a good argument for cytology to be included as a relevant part of diagnostic protocols in high volume centers.

# ULOGA I ZNAČAJ CITOLOŠKE DIJAGNOSTIKE BOLESTI DOJKE U OPĆOJ BOLNICI U KOPRIVNICI

**Marija Sačer, Andreja Lukić Suknaić, Mirjana Gabaj**

Odjel za patologiju i citologiju Opće bolnice „Dr. T. Bardek“ u Koprivnici, Koprivnica, Hrvatska

**Cilj:** Procijeniti opseg i značaj citološke dijagnostike dojke u petogodišnjem razdoblju te korelacija s patohistološkim nalazima za populaciju županije od 115 000 stanovnika.

**Materijal i metode:** U našem je citološkom laboratoriju u razdoblju, od 1.1.2011.- 31.12.2015. godine obrađeno 1785 uzoraka punktata dojke kod 1246 žena i 72 muškarca. Punktice su izvršene tankom igлом pod kontrolom ultrazvuka te u 3,4 % slučajeva na slijepo. Punktiju je obavljao citolog u prisustvu ultrasoničara. U istom je razdoblju analizirano 1872 uzorka eksprimata i pet skarifikata. Dobiveni uzorci punktata obojeni su po MGG -u, a uzorci eksprimata i skarifikata po MGG-u i PAPI.

**Rezultati:** Učinjeno je 1,3 punkcije po pacijentu. Maligna dijagnoza postavljena je u 253 žene (20,3 %), atipična proliferacija koja zahtjeva patohistološku dijagnozu u 57 žena (4,6 %). Punktirano je 256 fibroadenoma, 694 fibrocistične promjene, 411 uzoraka činili su: upala masna nekroza, masno tkivo, lipomi, postoperativni serom i neadekvatni uzorci. U pet učinjenih skarifikata nađena su tri karcinoma. Punktirano je 77 promjena muške dojke. Nađena su tri karcinoma, jedan metastatski karcinom i 69 ginekomastija. U korelaciji sa patohistološkim nalazima od 253 citološke dijagnoze karcinoma, potvrđeno je patohistološki njih 246 (98,8 %). U dvije žene patohistološka dijagnoza je bila DCIS, kod jedne adenoza, a u tri pacijentice, zbog dobi i proširenosti bolesti nije učinjena patohistološka verifikacija. Za jednu pacijenticu nemamo podatke.

**Zaključak:** Iz prikazanog obima i rezultata citoloških nalaza te visoke podudarnosti s patohistološkim dijagnozama, vidljivo je da je citološka dijagnostika nezaobilazna metoda u dijagnostici promjena dojke, važna u usmjeravanju na daljnje postupanje te je kao takva neizostavna u timu za dojku u uvjetima jedne opće bolnice.

# CITOLOGIJA – KLJUČNA METODA U ULTRAZVUČNOJ RANOJ DIJAGNOSTICI RAKA DOJKE

## *CYTOLOGY – THE CRUCIAL METHOD IN EARLY DIAGNOSIS OF BREAST CANCER*

**<sup>1</sup>Vedrana Buljević, <sup>2</sup>Snježana Štemberger-Papić**

<sup>1</sup>Privatna onkološka ordinacija Dr. Vedrana Buljević, Split, Hrvatska

<sup>2</sup>Zavod za kliničku citologiju, KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

Rano dijagnosticirani rak dojke je gotovo 100% izlječiv, uz poštenu operaciju bez potrebe za evakuacijom aksilarnih limfnih čvorova. Postoperativna adjuvantna onkološka terapija obično se sastoji samo od zračenja, bez potrebe za kemoterapijom. Citološka punkcija (CP) u svakodnevnoj praksi ultrazvučne (UZV) dijagnostike minimalnog raka dojke je nezaobilazna metoda. Citološkom punkcijom moguće je precizno uzeti uzorak iz najsitnijih promjena detektiranih UZV pregledom. Također, CP je primjenjiva, za razliku od UZV i mamografski vođenih metoda biopsija, bez obzira na lokalizaciju promjene unutar dojke (subkutano, retroaerolarno, prepektoralno, periferno).

**Cilj rada:** analizirati vrijednost CP pod kontrolom UZV solidnih promjena u dojci, s posebnim osvrtom na vrijednost CP u dijagnostici raka dojke u ranoj fazi (invazivni rak manji od 1 cm ili *in situ* bilo koje veličine).

**Materijal i metode:** Analiziran je 251 citološki uzorak dobiven punkcijom pod kontrolom ultrazvuka solidnih promjena u dojci tijekom 2015. godine u privatnoj onkološkoj ordinaciji Dr. Vedrana Buljević. Kod 113 pacijentica učinjena je patahistološka verifikacija (PHV), a nalazi su uspoređeni s citološkim dijagnozama. Citološki nalazi podijeljeni su u pet kategorija: C<sub>1</sub> – neadekvatan (nema epitelnih elemenata); C<sub>2</sub> – benigni nalaz (oskudan nalaz duktalnog epitela, fibroadenom, fibrocistična promjena, proliferacija duktalnog epitela); C<sub>3</sub> – atipija, vjerojatno benigno (nalaz duktalnog epitela s atipijom, s ili bez proliferacije); C<sub>4</sub> – atipija, vjerojatno maligno (proliferacija duktalnog epitela s jakom atipijom); C<sub>5</sub> – karcinom.

**Rezultati:** U C<sub>1</sub> skupini od 69 citoloških nalaza PHV je učinjena zbog suspektog UZV nalaza kod 8 pacijentica, nađen je 1 karcinom *in situ*. U C<sub>2</sub> skupini od 127 nalaza PHV učinjena je kod 53 pacijentice i kod citološkog nalaza proliferacije duktalnog epitela nađen je 1 invazivni duktalni karcinom (2x2 mm), 1 "flat" atipija, 1 karcinom *in situ*. U C<sub>3</sub> skupini je bilo 25 nalaza, a PHV je učinjen kod 22 pacijentice, nađena su 3 karcinoma, od toga 1 minimalni. U C<sub>4</sub> skupini kod svih 8 pacijentica učinjena je PHV, te su nađena 4 karcinoma, od toga 1 minimalni karcinom i 1 *in situ*. U C<sub>5</sub> skupini od 22 pacijentice kod svih je patohistološki potvrđen karcinom dojke, od toga 5 minimalnih. Citološka punkcija pokazala je osjetljivost od 81,3%, specifičnost od 94,5%, pozitivna prediktivna vrijednost je 86,6% i negativna prediktivna vrijednost je 92%.

**Zaključak:** Naši rezultati potvrđuju važnu ulogu CP pod kontrolom UZV u ranoj dijagnostici raka dojke, jer je od 11 minimalnih i *in situ* karcinoma citološkom puncijom dijagnosticirano njih 8. CP može se primijeniti kod najdiskretnijih morfološki suspektnih promjena detektiranih UZV pregledom što povećava vjerojatnost otkrivanja raka dojke u ranoj fazi.

Nalaz CP obvezno je uklopliti u nalaze ostalih dijagnostičkih postupaka (inspekcija, palpacija, UZV, mamografija i MRI) da bi se donijela ispravna odluku o dalnjem postupku uvažavajući svaki pojedini nalaz.

## BREAST UNITS – WHY WOULD WE NEED THEM?

Iva Kirac, Vesna Ramljak, Andrej Roth, Danko Velimir Vrdoljak

University hospital for tumours, University Hospital Center Sestre milosrdnice, Zagreb, Croatia

---

Breast Units and multidisciplinary team treatments are becoming the standard of breast cancer care. Implementation of such network requires initial additional work on site and the support of policy makers.

Results and patient satisfaction with the treatment in Breast units and overall financial benefit of such policies made the University Hospital for Tumours, as the institution with the highest volume of breast cancer patients choose EUSOMA Breast Unit guidelines.

Since 2014, when we joined Breast Units, our policy started integrating patient perspective and quality of life issues through additional services genetic counselling on site, psychological counselling, counselling for sexual disturbances for oncological patients (primarily for women on hormonal therapy) and alike.

Currently, Croatia has two Breast Units according to EUSOMA and breast teams at major university hospital centers. In the near future, based on current results, EU cancer network policy might be fully accepted also locally which would mean that at least eight breast units should ensure the network for equal care for breast cancer patients in Croatia.

# **NOVITRENDOVI U KIRURGIJI RAKA DOJKE**

## ***NEW TRENDS IN SURGERY OF BREAST CANCER***

**Ivan Milas**

Klinički bolnički centar „Sestre milosrdnice“, Zagreb, Hrvatska

---

# PREDOPERATIVNA ANALIZA LIMFNIH ČVOROVA AKSILE KOD DIJAGNOSTIKE KARCINOMA DOJKE

<sup>1</sup>**Nina Petra Novak**, <sup>1</sup>Tajana Štoos Veić, <sup>1</sup>Marija Škoro, <sup>2</sup>Tatjana Cicvara Pećina,  
<sup>3</sup>Čedna Tomasović Lončarić

<sup>1</sup>Odjel za citologiju, Klinički zavod za patologiju i citologiju, KB Dubrava, Gojka Šuška 6, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Klinički zavod za radiologiju, KB Dubrava, Gojka Šuška 6, Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup>Klinički zavod za patologiju i citologiju, KB Dubrava, Gojka Šuška 6, Zagreb, Hrvatska

**Cilj:** Ultrazvučni pregled aksile i ciljana citološka punkcija aksilarnih limfnih čvorova su nezaobilazni dio dijagnostičke obrade karcinoma dojke s ciljem određivanja lokoregionalne proširenosti bolesti i usmjeravanja daljnog dijagnostičko-terapijskog postupka.

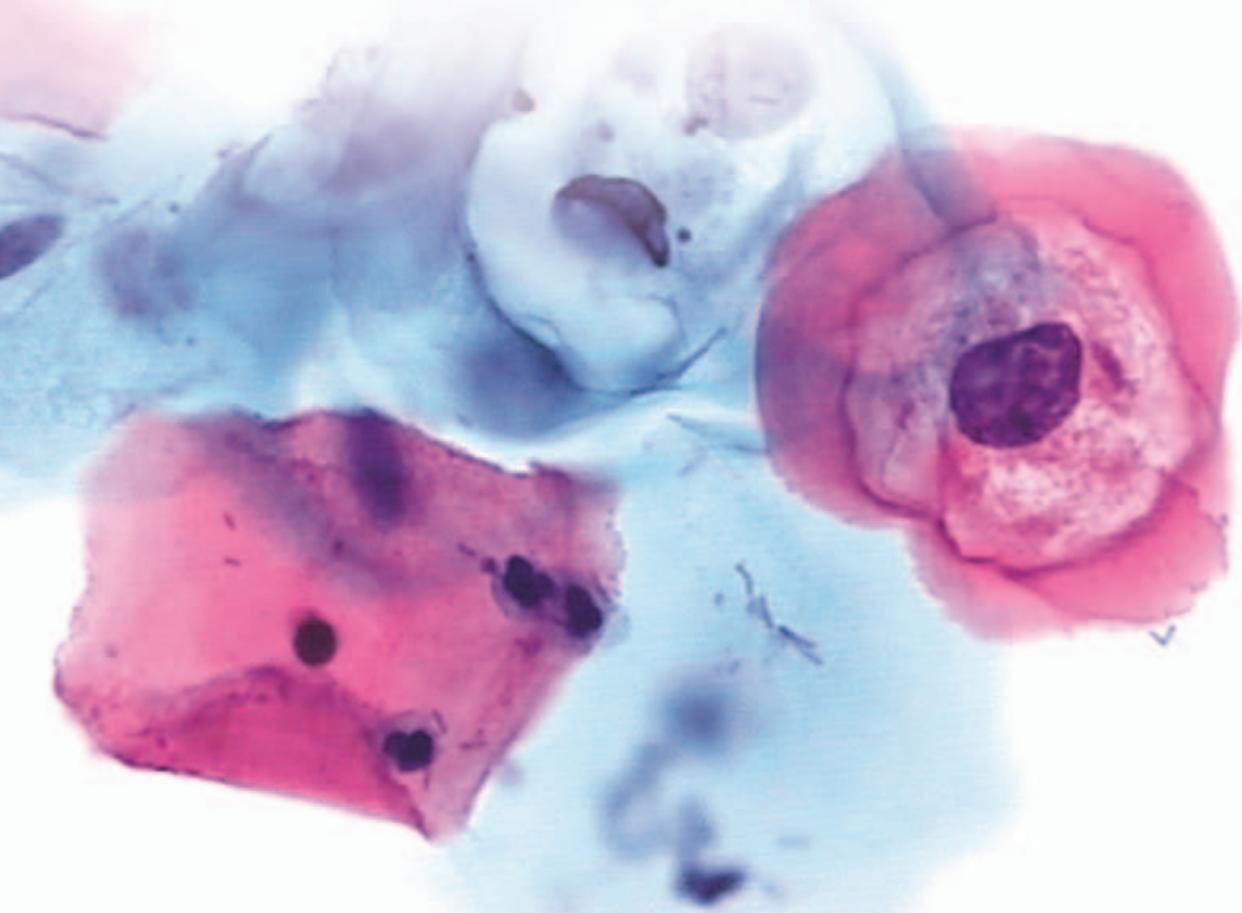
Cilj rada je kratki pregled novijih studija iz literature te provjera i usporedba rezultata dijagnostičke točnosti ciljane citološke punkcije aksilarnih limfnih čvorova kod karcinoma dojke.

**Materijali i metode:** Retrogradno je pretražena baza podataka od siječnja 2014. do siječnja 2016. U sklopu ultrazvučne obrade dojke punktirano je 1837 pacijenta, od toga 126 karcinoma dojke. Aksilarni limfni čvorovi su u 56 slučajeva punktirani uz punkciju, a u 5 slučajeva uz core-biopsiju primarnog tumora dojke. Citološki nalaz je interpretiran kao pozitivan neovisno o tipu malignog tumora, a negativan kada nisu nađene maligne stanice. Izvršena je usporedba citoloških i histoloških nalaza u 42 slučajeva te usporedba ultrazvučnih i citoloških nalaza.

**Rezultati:** Aksilarni limfni čvorovi ciljano su punktirani u 61 bolesnika. U 30 slučajeva predoperativno su citološki utvrđene metastaze u aksilarnim limfnim čvorovima, a kod operiranih pacijenata su histološki potvrđene. Nađena je visoka dijagnostička točnost s adekvatnom osjetljivosti i 100 % specifičnosti.

**Zaključak:** Unatoč smanjenju broja citoloških dijagnoza karcinoma dojke zbog porasta broja core-biopsija primarnog tumora u skopu predoperativne dijagnostike karcinoma dojke, ultrazvučni pregled aksile i ciljana citološka punkcija aksilarnih limfnih čvorova su ključni za predoperativni staging karcinoma dojke te određuje daljnji tretman i utječu na odluku o neoadjuvantnoj kemoterapiji.

**CITOLOGIJA GASTROINTESTINALNOG SUSTAVA /  
GASTROINTESTINAL CYTOLOGY**



# MULTIDISCIPLINARNI PRISTUP BOLESTIMA PANKREATOBILIJARNOG SUSTAVA

<sup>1</sup>Mario Tadić, <sup>1</sup>Tihomir Bradić, <sup>1</sup>Milan Kujundžić, <sup>2</sup>Rajko Kušec, <sup>3</sup>Tajana Štoos-Veić,  
<sup>3</sup>Gorana Aralica, <sup>4</sup>Josip Ćurić, <sup>5</sup>Toni Kolak

<sup>1</sup>Zavod za gastroenterologiju, Klinička bolnica Dubrava, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Zavod za hematologiju, Klinička bolnica Dubrava, Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup>Zavod za patologiju i citologiju, Klinička bolnica Dubrava, Zagreb, Hrvatska

<sup>4</sup>Zavod za radiologiju, Klinička bolnica Dubrava, Zagreb, Hrvatska

<sup>5</sup>Klinika za kirurgiju, Klinička bolnica Dubrava, Zagreb, Hrvatska

Bolesti pankreatobilijarnog sustava (PBS) predstavljaju skupinu bolesti relativno nedostupnu dijagnostici, a znakovi i simptomi se često preklapaju. Upravo zbog toga potrebna je visoka razina stručnosti, odnosno visok stupanj znanja i iskustva kako bi se ova skupina bolesnika tretirala adekvatno. To je posebno naglašeno kod tumora pankreatobilijarnog sustava. Simptomi tumora gušterače javljuju se kasno i nisu specifični. Sama lokalizacija organa relativno je nedostupna slikovnim metodama. Poboljšanjem tehnologije radioloških metoda, CT tehnologije i MR-a promjene na ovom sustavu je moguće lakše otkriti, te odrediti njihovo proširenost, gdje se iskustvo i stručnost radiologa posvećenih dijagnostici PBS-a igra značajnu ulogu. Međutim, unatoč mogućnosti detekcije sve manjih lezija i sve točnijoj procjeni veličine i proširenosti istih, iz opisa slike nije uvijek moguće sa sigurnošću utvrditi radi li se o benignoj ili malignoj leziji. Upravo zbog toga endoskopske metode prikaza, kao što su ERCP i EUS dolaze do izražaja. Obje metode prikazuju gušteraču iz blizine, omogućuju uzimanje uzorka tkiva za analizu te terapijske i palijativne postupke. Na taj način, a osobito EUS-om uzimanje uzorka tkiva za analizu omogućuje rezlikovanje malignih i benignih lezija te subtipizaciju tumora. Dobro je dokumentirano da se vrhunski rezultati postižu jedinu uz suradnju endoskopičara i morfologa (citologa) na licu mjesta u endoskopskoj dvorani. No, to nije sve. Analizom uzorka na licu mjesta (rapid on-site evaluation, ROSE) moguće je odrediti adekvatnost uzorka i preliminarnu dijagnozu. Upravo je to točka u kojoj uloga iskusnog morfologa (citologa) dolazi do izražaja. Iskusan morfolog (citolog) na temelju ROSE-a može sugerirati endosonografičaru treba li uzimati dodatno materijal i kakav tip uzorka treba uzeti za dodatne metode analize kako bi se ne samo odredilo radi li se o malignoj ili benignoj leziji, nego odredilo točna razlika između određenih tipova tumora, a ponekad i prisutnost čimbenika koji utječu na daljnji tretman bolesnika. Dakle, ne samo tip uzorka, nego i način procesuiranja uzorka čini razliku u krajnjim rezultatima ove metode gdje je suradnja više nego neophodna za vrhunske rezultate. Što detaljnija i točnija analiza iz malih uzoraka ima osobitu ulogu kod inoperabilnih bolesnika. Kod sretnika kod kojih je moguća kurativna resekcija tumorskog procesa iskustvo kirurga ima značajnu ulogu gdje brojne studije pokazuju razliku rezultata centara specijaliziranih za bolesti PBS-a s velikim volumenom bolesnika i centara koji imaju ograničeno iskustvo manji broj bolesnika. Konačna histološka dijagnoza predstavlja okosnicu za daljnji (onkološki) tretman ovih bolesnika.

Postoje brojne bolesti i skupine bolesti kod kojih je neophodan multidisciplinarni pristup dijagnostici i liječenju, ali rijetko gdje se može nadmašiti značaj dobre suradnje endoskopičara i citologa (patologa) u preoperacijskoj dijagnostici lezija pankreatobilijarnog sustava za daljnji tretman bolesnika.

# OSVRT NA UJEDNAČENOST NALAZA I NAZIVLJE U PANKREATOBILIJARNOJ CITOLOGIJI

## TERMINOLOGY IN PANCREATOBILIARY CYTOLOGY

Tajana Štoos-Veić

Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinička bolnica Dubrava, Zagreb, Hrvatska

Standardizacija nazivlja koje se koristi u citologiji općenito, pa tako i u citologiji pankreatobilijarnog sustava, potreba je nastala zbog zahtjeva suvremene dijagnostike i liječenja. Preoperativna tkivna dijagnostika tumora pankreatobilijarnog sustava je zahtjevna zbog nedostupnosti spomenutih organa. Razvojem slikovnih metoda, posebno endoskopskog ultrazvuka omogućena je bolja vizualizacija gušterića a ujedno je i omogućeno uzimanje uzoraka za tkivnu dijagnostiku, prvenstveno aspiracijskom punkcijom (biopsijom) tankom iglom (*engl.* FNA/FNAB/FNAC) te uzimanjem uzoraka četkicom iz bilijarnog sustava. Uzorkovanje je zahtjevno a problemi koji se susreću u svakodnevnom radu su nedostatnost uzorka za dijagnozu i dodatne metode te neprepoznavanje rjeđih vrsta tumora. Citomorfologija potpomognuta dodatnim metodama kao što su imunocitokemija, protočna citometrija te molekularne metode u mogućnosti je precizno dijagnosticirati većinu tumorskih procesa te utjecati na dalji postupak s bolesnikom. Kako bi se olakšala interpretacija nalaza i omogućila bolja komunikacija sa kliničarima koji se bave ovom problematikom potrebno je standardizirati način pisanja citoloških nalaza. Prvenstveno treba definirati dijagnostičku upotrebljivost uzorka, izdvojiti benigne lezije od raznih kategorija malignih, suspektnih i atipičnih uzoraka te tumora neodređenog malignog potencijala. Unutar te podjele, točna subtipizacija tumora je potrebna gdje god to uzorak dozvoljava. Potrebno je i što preciznije definirati kriterije za skupinu atipija i suspektnih uzoraka. Terminologija i klasifikacija bi se trebale pridržavati široko međunarodno prihvaćene klasifikacije SZO, a citomorfologiju dopuniti dodatnim metodama kad god je to potrebno. Prvu citomorfološku klasifikaciju i standardizaciju nazivlja „System for Reporting Pancreatobiliary Cytology“ objavilo je američko The Papanicolaou Society of Cytopathology 2015 godine. Predlažem da radna skupina, a i svi članovi citološkog društva, na temelju recentne literature te osobnog iskustva i dostupnih podataka trebaju dogоворити primjerenu strukturu citoloških nalaza kao i terminologiju koju bi mogli koristiti u rješavanju problematike citodiagnostike pankreatobilijarnog sustava.

**Zaključak:** U svjetlu zahtjeva suvremenog liječenja, potreban je hrvatski konsensuz i standardizacija nazivlja u pankreatobilijarnoj citodiagnostici koja u Hrvatskoj nije nepoznanica te se u mnogim centrima primjenjuje desetljećima.

# VAŽNOST ROSE-a U ENDOSKOPSKOM ULTRAZVUKU – ISKUSTVO KBC ZAGREB

**Romina Kanić, Sunčica Ries, Koraljka Gjadrov Kuveždić, Jasenka Antulov, Lucija Beljan**

Zavod za patologiju i citologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb, Zagreb, Hrvatska

**Uvod:** Adekvatnost uzorka kod citoloških punkcija vođenih endoskopskim ultrazvukom (engl. *Endoscopic ultrasound – fine needle aspiration*, EUS FNA) moguće je, uz prisutnost citologa, analizirati neposredno nakon izvedenog postupka – tzv. brza procjena na mjestu (engl. *Rapid on site evaluation*, ROSE). ROSE je indiciran kod solidnih lezija pankreatobilijarnog sustava i drugih intraabdominalnih tvorbi, a može se primjeniti i kod punkcije solidnih dijelova inače cističnih tvorbi.

**Cilj:** Prikaz utjecaja ROSE metode kod EUS FNA na kvalitetu citomorfološkog uzorka i postavljanje konačne dijagnoze.

**Materijali i metode:** Analizirana su dva dvogodišnja perioda, prvi prije i u početku uvođenja metode (2009-2010. g.) te drugi nakon četiri godine (2014-2015. g.). Uključeno je 228 bolesnika kod kojih je izvedeno je 239 EUS FNA, od toga 206 punkcija solidnih tvorbi. Razmaze brzo bojene Hemacolorom (Merck) analizira citolog na licu mjesta radi procjene adekvatnosti uzorka i eventualne potrebe za dodatnom punkcijom.

**Rezultati:** U periodu 2009-2010. g. učinjeno je 76 EUS FNA solidnih tvorbi, uzorak je bio adekvatan u 50 (65,8 %) slučajeva, od kojih je samo u tri rađen ROSE. U drugom dvogodišnjem periodu (2014-2015. g.) učinjeno je 130 EUS FNA solidnih tvorbi, od kojih je 100 (76,9 %) bilo adekvatnih. ROSE je ukupno rađen u 72 slučaja (55,4 %) uz 65/72 (90,3 %) adekvatnih uzoraka. Punkcija gdje ROSE nije rađen bilo je 58, adekvatnih je bilo 35/58 (60,3 %).

**Zaključak:** Uz iskustvo endoskopičara i citologa ROSE je jedan od najvažnijih čimbenika koji utječe na kvalitetu uzorka smanjujući broj neadekvatnih punktata i ponavljanja naknadnih dijagnostičkih postupaka te povećava ukupnu dijagnostičku točnost punkcije vođene endoskopskim ultrazvukom.

# **NEKE PRAKTIČNE ZNAČAJKE UJEDNAČENOG KATEGORIZIRANJA PANKREATOBILIJARNIH LEZIJA (PREMA PREPORUKAMA PAPANICOLAOU SOCIETY OF CYTOPATHOLOGY)**

## **SOME PRACTICAL ISSUES OF UNIFORM REPORTING PANCREATICOBILIARY CYTOLOGY (ACCORDING TO PAPANICOLAOU SOCIETY OF CYTOPATHOLOGY GUIDELINES)**

**<sup>1</sup>Gordana Kaić, <sup>1</sup>Biljana Jelić Puškarić, <sup>1</sup>Dragica Obad-Kovačević, <sup>1</sup>Bruno Škurla,  
<sup>1,2</sup>Anita Škrtić, <sup>1</sup>Branislav Kocman, <sup>1,2</sup>Ika Kardum-Skelin**

<sup>1</sup>Klinička bolnica Merkur, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

Ujednačeno kategoriziranje u pankreatobilijarnoj citologiji prema preporukama Papanicolaou Society of Cytopathology značajan je napredak zbog lakšeg razumijevanja i usporedivosti citoloških nalaza te olakšanog donošenja odluke o dalnjim postupcima s bolesnikom. Treba naglasiti da su preporukama obuhvaćene razne vrste citološkog materijala u dijagnostici pankreatobilijarnih lezija i da predložene kategorije nisu na isti način za sve primjenjive. Poznavanje kliničkog konteksta i nalaza slikovnih pretraga, i inače uvjet za valjanu citološku dijagnozu, neophodno je za kategorizaciju. Štoviše, kategoriziranje u nekim slučajevima, osim citomorfološkog nalaza, integrira kliničke, laboratorijske i genetske nalaze što je u našim današnjim okolnostima teže izvedivo.

Čak i u idealnim uvjetima, kada citolog ima uvid u kliničke podatke, kada je prisutan tijekom uzimanja materijala, kada je taj materijal adekvatan i tehnički i u odnosu na uzorkovanu leziju, mogu postojati teškoće pri kategorizaciji citomorfološkog nalaza. Najčešće su tome uzrok promjene na stanicama koje se svojim izgledom razlikuju od zdravih i/ili podraženih, reaktivnih stanica, a ne zadovoljavaju kriterije za dijagnozu agresivne, maligne lezije. Te promjene uključuju cijeli spektar odstupanja, a njegovi krajevi su manje ili više povezani s vjerovatnošću maligniteta. Iako su različiti autori do sada koristili različite nazive za te promjene, predložene su dvije kategorije, „atipično“ i „suspektno na malignitet“, koje obuhvaćaju taj raspon i koje mogu za bolesnika rezultirati značajno različitim kliničkim odlukama.

Predloženim smjernicama, među ostalim, željelo se jasno odvojiti agresivne, maligne tumore, od kojih više od 85 % čine duktalni adenokarcinom pankreasa i njegove varijante. Stoga su uvedene i dodatne kategorije za benigne i tumore nižeg malignog potencijala. Neke lezije, za koje još uvijek ne postoji cito-histološka korelacija, svrstane su u kategoriju atipičnih. Takva podjela u svakodnevici, u slučajevima kada postoji diferencijalno-dijagnostička dilema, također može prouzročiti teškoće jer za klasifikaciju nalaza odgovaraju dvije ili više predloženih kategorija.

# USPOREDNA ANALIZA HISTOLOŠKIH NALAZA I CITOLOŠKIH NALAZA OTISKA BIOPSIJE ŽELUCA U DIJAGNOZI KARCINOMA ŽELUCA

## A CORRELATIVE STUDY OF HISTOLOGY AND IMPRINT CYTOLOGY OF GASTRIC MUCOSA BYOPSY IN THE DIAGNOSIS GASTRIC CANCER

Ljubica Fuštar-Preradović

Department of Pathology, Forensic Medicine and Cytology, General Hospital "Dr. Josip Benčević", Slavonski Brod, Croatia

**The purpose** of this paper is to show the importance of gastric mucosa imprint cytology in detecting stomach cancer.

**Materials and methods:** Analyzed were 364 cytological and pathohistological samples taken from 335 patients having suspected diagnosis of gastric cancer. Every specimen was submitted to slide imprinting and then fixed in formalin for further processing with routine histopathology. The imprints were air dried for cytological analysis, stained according to May- Grünwald-Giemsa and analyzed by light microscope.

**Results:** By pathohistological punch-biopsy samples analysis stomach cancer was found in 45 samples. With cytological samples analysis the cancer was detected in 48 samples and 13 cytological samples were suspected of cancer. With combining these two methods cancer was found in 68 cases. Patients with positive cytological finding and negative pathohistologic finding underwent gastroscopy with punch-biopsy. All patients with positive pathohistological findings were operated. All materials were histologically examined. Cancer was found in 68 patients. Cytological analysis of stomach mucosa biopsic material imprints, increases the number of positive findings in preoperative stage of gastric cancer diagnosis. Every data on morphological changes in mucosa has been also pathohistologically checked, because taking imprints does not damage the specimen.

**Conclusion:** The greatest advantage of this method is short period for preparation of material, simplicity and low price.

# KONFOKALNA LASERSKA MIKROSKOPIJA U DIJAGNOSTICI BOLESTI SLUZNICE PROBAVNOG SUSTAVA

## CONFOCAL ENDOMICROSCOPY IN THE DIAGNOSIS OF MALIGNANT DISEASES

<sup>1,2</sup>Goran Hauser, <sup>1</sup>Davor Štimac

<sup>1</sup> KBC Rijeka, Klinika za internu medicinu – Zavod za gastroenterologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

<sup>2</sup> Fakultet zdravstvenih studija, Sveučilište u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

Konfokalna laserska mikroskopija pojavila se tijekom zadnjih 10 godina s ciljem nadvladavanja uobičajenih dijagnostičkih problema tijekom endoskopije. Razvijena su dva sustava: sustav integriran u endoskop (eCLE prema engl. *endoscope-integrated confocal laser endomicroscopy*) koji više nije komercijalno dostupan i konfokalna laserska mikroskopija sondom (pCLE, prema engl. *Probe-based confocal laser endomicroscopy*).

Ova tehnika omogućava znatno bržu dijagnostiku i ciljane biopsije čime se olakšava i rad patologa. Ova je metoda uvrštena i u smjernice glavnih gastroenteroloških endoskopskih društava, American Society for Gastrointestinal Endoscopy (ASGE) te United European Gastroenterology (UEG).

Konfokalna laserska mikroskopija sondom omogućava *in vivo* u realnom vremenu povećanje mukoznog sloja u jednom presjeku koji je okomit na sondu. Mikroskop prenosi svjetlo kroz sondu i distalnu leću te skenira epitel s ciljem dobivanja slike. Slike se projiciraju brzinom od 9 do 12 u sekundi s rezolucijom od 1 mikrona. Na lasersku se jedinicu mogu priključiti različite vrste sondi ovisno o ciljanom organu koji se pregledava. Trenutno postoje sonde za probavnu cijev, bilijarno stablo, urološke, pulmološke i ginekološke sonde. Mikroskopske se fotografije dobivaju namještanjem vrška sonde u kontakt sa sluznicom, pod kontrolom oka ili rendgena (biliopankreatično stablo). Pacijentu se neposredno prije zahvata daje injekcija 10 % fluoresceina (1-5 mL) što omogućava pregled kroz narednih 30 do 45 minuta. Ključno je sondu zadržati što okomitije u odnosu na stjenku te osigurati stabilnu poziciju izbjegavajući traumu jer krvarenje značajno snižava kvalitetu slike. Izvedivost pretrage je vrlo visoka čak i u pacijenata tijekom ERCP-u i kreće se preko 90 %.

Za biljarne strikture razvijena je klasifikacija s 18 kriterija. Prikaz bijelih traka >20µm, tamnih traka >40µm, nakupina tamnih otočića, epitelnih struktura ili *leak* fluoresceina upućuje na malignitet. Senzitivnost i specifičnost je 97 % i 33 %.

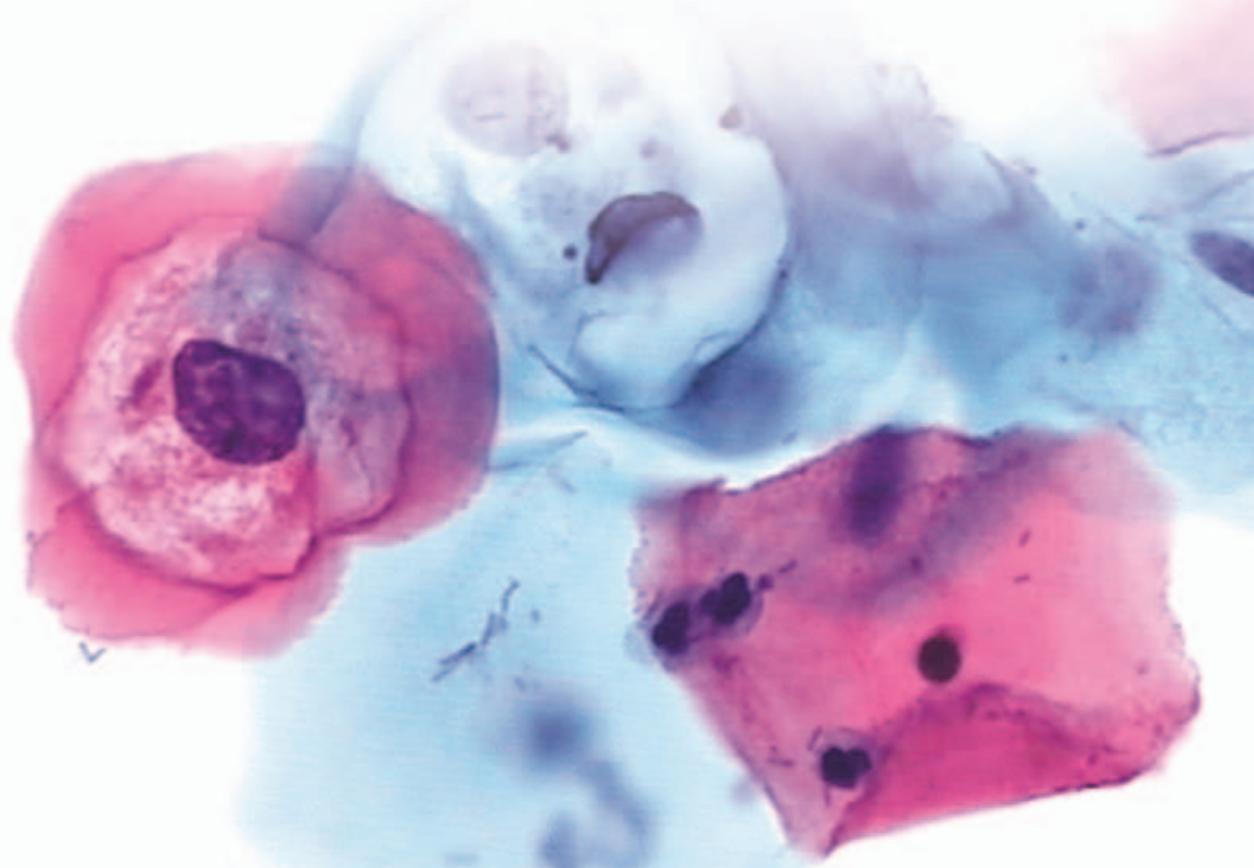
Trenutno su u gastroenterologiji četiri glavne indikacije za ovu metodu: Barrettov jednjak, biljarne strikture, kolorektalne lezije, upalne bolesti crijeva.

Tehnika se pokazala sigurnom, a komplikacije se uglavnom odnose na davanje fluoresceina. Javljuju se u < 2 % pacijenata.

Uvođenje pCLE u standardnu endoskopsku dijagnostiku donijelo je značajan napredak u dijagnostici malignih oboljenja u različitim disciplinama. Tehnika, iako tehnički zahtjevna, pomaže u dijagnostici na način da omogućava informacije u realnom vremenu vezane za mikroskopsku strukturu ispitivanog tkiva što pridonosi dijagnostičkim performansama u svakodnevnom radu.

SLOBODNE TEME / FREE PAPERS

---



# **ANALIZA USPJEŠNOSTI p16/Ki67 BOJENJA S OBZIROM NA RAZLIČITE TEHNIKE PRIPREME PREPARATA**

**Ines Krivak Bolanča, Karmela Šentija, Suzana Katalenić Simon**

Odjel za ginekološku citologiju Zavoda za kliničku citologiju i citogenetiku KB „Merkur”, Zagreb, Hrvatska

**Uvod:** Uz morfološku i mikrobiološku dijagnostiku, današnje metode dokazivanja premalignih promjena na stanicama epitela cerviksa, uključuju i posredno dokazivanje viralnog podrijetla premalignih promjena. Korištenjem određenih protutijela, moguće je identificirati virus bilo dokazivanjem njegove nukleinske kiseline bilo virusnih proteina ili pak se detektiraju promjene u metabolizmu proteina stanice domaćina koji se mijenjaju s obzirom na djelovanje virusa. Uspješnost svake imunoreakcije ovisi o pravilnom izvođenju reakcije, slijedivosti uputa proizvođača, ali i o pravilno pripremljenim preparatima.

**Cilj rada:** Ovim radom smo htjeli usporediti različite tehnike pripremanja preparata za imunobojenje i usporediti ih po uspješno dobivenoj reakciji imunocitokemijskog bojenja.

**Materijali i metode:** Ukupno je obrađeno 331 uzoraka od kojih je 129 uzeto iz arhive laboratorija, odbojano i nanovo obojano imunocitokemijskom metodom s CINTec Plus setom (Roche). Prilikom uzimanja cervikalnog obriska za citološku analizu, istovremeno je uzeto i 124 dodatnih razmaza konvencionalnim načinom, a 78 preparata je učinjeno metodom jednog sloja stanica iz rezidualnog uzorka, nakon učinjene tipizacije HPV-a i citološke analize uzorka.

**Rezultati:** Rezultat pozitivne reakcije bojenja kod uzoraka uzetih konvencionalnom metodom je 74/129 (57,4 %) kod odbojanih uzoraka i 60/124 (48,4 %) kod uzoraka uzetih istovremeno s Papa testom, a kod uzoraka pripremljenih metodom LBC-a, pozitivitet reakcije je 46/78 (58,9 %). Jedan ili više visoko onkogenih tipova HPV-a je dokazan u ukupno 264 uzoraka kod kojih je učinjena imunoreakcija.

**Zaključak:** Uočena je manja razlika kod uzoraka koji su se istovremeno uzeli s obriskom za citologiju što se može objasniti propuštanjem uzorkovanja s dijela epitela koji je promijenjen ili manjkom prenesenog materijala na stakalce. Nešto bolji rezultati kod metode LBC-a ne čude zbog adekvatnijih uzoraka.

# CITOLOGIJA DUKTALNOG KARCINOMA *IN SITU* (DCIS-a) DOJKE – PREGLED RECENTNE LITERATURE I VLASTITA ISKUSTVA

Ivana Miše

Zavod za kliničku citologiju KBC-a "Sestre milosrdnice", Zagreb, Hrvatska

**Uvod:** Makar višestruko opisivani citološki kriteriji DCIS-a teško se afirmiraju i rijetko koriste u pojedinim sredinama. Citologija tumora – dobroćudnog, zloćudnog ili *in situ* njegova je histologija „u malo”, stoga ima svoje logične i pouzdane kriterije.

**Cilj** rada je ukazati na vrijednost citologije u preoperativnoj dijagnostici DCIS-a u svrhu planiranja opsežnosti zahvata – sa/bez aksilarne limfadenektomije te u predikciji ishoda bolesti. Suprotno citološkom graduiranju invazivnih karcinoma koje nema učinak na terapiju, DCIS visokog gradusa (G<sub>3</sub>) obično zahtjeva agresivniji tretman od DCIS-a ne-visokog gradusa (G<sub>1</sub>/G<sub>2</sub>). DCIS je heterogena lezija različitih načina rasta i stupnjeva stanične atipije. Većina (>75 %) ih je visokog gradusa, slikovno se često prezentiraju mikrokalcifikatima no bez asociranog tumora. Radiološki vidljiv tumor gotovo uvijek je invazivni karcinom. Svega 2-3 % palpabilnih karcinoma su tumor-formirajući DCIS-i. Kao inače u citologiji dojke i ovdje je obavezan „trostruki pristup” – uklapanje i podudaranje klinike, slikovnih metoda (MMG/UZV) i morfologije. U 20 % preoperativno dijagnosticiranih DCIS-a na definitivnom uzorku nađe se invazivna komponenta, uz pravilo: veći DCIS – veća vjerojatnost iste. Citologija DCIS-a inzistira na jednakoj važnosti staničnih i arhitekturnih kriterija. Graduiranje je jednako onome invazivnih karcinoma, a uključuje način rasta i arhitekturu skupina, stupanj nuklearne atipije, prisutnost i karakter nekroze te mikrokalcifikata. DCIS ne-visokog gradusa je heterogeniji, s manje citoloških iskustva zbog radiološke „nevidljivosti” i preklapanja kriterija osobito s atipičnom duktalnom hiperplazijom s kojom se često zamjeni. Izrazito je celularan, s naglašeno monotonom („monoklonalnom”) slikom proliferirajućih stanica suprotno polimorfnoj („poliklonalnoj”) slici benignih proliferativnih lezija – najčešće obične duktalne hiperplazije koja se citološki često precijeni uz indiciranje nepotrebnih biopsija ili ekskizija. Broj pojedinačnih tumorskih stanica u DCIS-u nije nužno dokaz invazije. Gole mioepitelne jezgre na tumorskim skupinama nisu dokaz benignosti.

**Zaključak:** naše iskustvo s DCIS-om G<sub>3</sub> reflektira potrebne kriterije: maligne stanice visokog nuklearnog gradusa i naglašene atipije u 3D-ionalnim solidnim agregatima i često pojedinačno, uz obilnu komedonekrozu i mnoštvo polimorfnih mikrokalcifikata, također potvrđuje ograničenost u presumpciji invazije kod ekstenzivnog DCIS-a, ali i pouzdanost citologije čak u ovako zahtjevnim dijagnostičkim entitetima.

# CITOLOŠKO RAZLIKOVANJE INVAZIVNOG DUKTALNOG OD DUKTALNOG *IN SITU* (DCIS-a) KARCINOMA DOJKE

Ivana Miše

Zavod za kliničku citologiju KBC-a „Sestre milosrdnice”, Zagreb, Hrvatska

**Uvod/cilj:** Iako po nekima kontroverzno, moguće je isključivo citologijom, uz određena ograničenja, razlikovati *in situ* i invazivni karcinom dojke. Biološka narav tumora određuje njegovu histološku, citološku i radiološku sliku. Invazivnost je posljedica određenog biološkog odnosno potencijala agresivnosti malignih stanica, različitog prema preegzistirajućem DCIS-u, posljedično s drugačijom morfologijom. Pri invadiranju se maligne stanice višestruko morfološki mijenjaju, gube epitelne a dobivaju mezenhimalne osobine u fantastičnom procesu epitelno-mezenhimalne tranzicije (EMT) koja objašnjava morfologiju malignih stanica u kohabitaciji s okolišem, uključuje razdor intercelularnih veza, povećanje pokretljivosti stanica i oslobađanje od izvornog epitela. Također mezenhimu sličan fenotip podupire migraciju i invaziju odnosno tako EMT osigurava tumoru diseminaciju i metastaziranje. Invazivnost se dakle, citološki može „mjeriti“ detekcijom morfoloških znakova porasta biološke agresivnosti stanica – promjenom njihova izgleda (izduživanje citoplazmi kod malignih pločastih stanica odnosno u adenokarcinomu intracitoplazmatska lumina, nukleoli, grubo grudanje kromatina, eu-/parakromatin) te stromalnim parametrima (razaranje međustaničnog matriksa, elastinskih fragmenata, endotela krvnih/limfnih kapilara) prezentiranih tumorskom dijatezom, proliferacijom fibroblasta, invadiranjem vezivnog/masnog tkiva skupinama i pojedinačnim malignim stanicama. Također su prediktivne tubularne strukture, nepravilne angulirane skupine reducirane kohezivnosti, odsutnost benignih jezgara, polimorfne pojedinačne stanice (koje su osobina malignosti, ne nužno invazivnosti, a nalaze se i u DCIS-u visokog gradusa), manje mioepitelnih stanica na tumorskim skupinama, manje mikrokalcifikata i pjenušavih makrofaga. Suprotni nalaz implicira DCIS. Invazija se sugerira kod jasne infiltracije masnog/vezivnog tkiva, ali ne isključuje u prisutnosti fragmenata tih tkiva koji nisu infiltrirani. Znakovi invazije ne nalaze se uvijek u razmazima invazivnih karcinoma što kod jasno maligne morfologije ne znači nužno DCIS i ne isključuje invaziju. Dvojbene slučajeve uklapamo trostrukim pristupom odnosno kliničko-radiološko-morfološkom korelacijom.

**Zaključak:** Histološki nalaz malignih stanica ispod bazalne membrane ima donekle citološki pandan; iako ne vidimo basalnu membranu, s visokom vjerojatnošću možemo predvidjeti invaziju, uz obavezan trostruki pristup svakoj leziji, dobro uzorkovanje materijala, dobro poznavanje histologije i citologije, ali i ništa manje važnima – kontinuiranom edukacijom i kontrolom kvalitete rada koji trebaju postati imperativom.

# ATIPIJA STANICA UROTELA – ISKUSTVO JEDNOG CENTRA

**Žana Besser Silconi, Petra Peruško Kozina, Tamara Mićić**

Odjel za kliničku citologiju, Opća bolnica Pula, Pula, Hrvatska

**Cilj:** Ispitati dijagnostički značaj kategorije atipija stanica urotela, kriterije klasificiranja te korelaciju s urotelnim karcinomima.

**Materijal i metode:** Retrogradno su izdvojeni nalazi i uzorci spontano izmokrenog urina kroz tri uzastopna dana u periodu od 2013. do 2015. godine obrađeni u citocentifugi, obojeni po MGG metodi s citološkom dijagnozom karcinoma urotela i atipije stanica urotela suspektne na karcinom, analizirani svjetlosnim mikroskopom neovisno od strane najmanje dva citologa. Promatrani su sljedeći parametri: dob i spol pacijenata, celularnost uzoraka, stupanj diferenciranosti malignih stanica urotela ili određene citomorfološke karakteristike atipičnih stanica urotela (stanične nakupine, odnos veličine jezgre i citoplazme, hiperkromazija, nepravilnost jezgre) te patohistološka dijagnoza. Nalazi reaktivno promijenjenih stanica urotela u našoj ustanovi nisu svrstani u kategoriju atipija nego kontrolirani unutar 4 mjeseca te potom klasificirani.

**Rezultati:** Od 3199 pacijenata izdvojena su i uspoređena 74 nalaza urina od čega 52 s citološkom dijagnozom karcinoma urotela te 22 s nalazom atipije stanica urotela suspektne na karcinom. U obje skupine najbrojniji su pacijenti životne dobi od 70 do 79 godina, muškog spola (3:1). U grupi karcinoma uzorci su bili većinom obilne celularnosti sedimenata, umjereno do slabo diferenciranih malignih stanica urotela te patohistološke dijagnoze high grade karcinoma. U skupini atipija stanica urotela suspektnih na karcinom celularnost sedimenata je bila umjerena do obilna, stanice urotela u manjim i dijelom papilarnim nakupinama te pojedinačno, u svim uzorcima je N/C odnos bio  $> 0,5$ , većinom je opisana hiperkromazija, u 50 % nepravilnost jezgre, a patohistološka dijagnoza je najčešće bila *low grade* urotelni karcinom.

**Zaključak:** Citološki nalaz atipija stanica urotela suspektna na karcinom najčešće je povezan s karcinomima urotela niskog gradusa te indicira kompletну urološku obradu.

# REPRODUCIBILNOST CITOLOŠKE DIJAGNOSTIKE DISMORFIČNIH ERITROCITA

<sup>1</sup>**Ivana Dubravac**, <sup>1,2</sup>**Valerija Miličić**, <sup>3</sup>**Ivana Prvulović**, <sup>3</sup>**Maja Mišić**, <sup>1,2</sup>**Branka Lončar**,

<sup>2</sup>**Marija Perić**, **Ljiljana Buljubašić**, <sup>1,4</sup>**Matej Šapina**, <sup>2</sup>**Nataša Vrselja**, <sup>1</sup>**Ivana Đaković**,

<sup>1</sup>**Dunja Vujičić**

<sup>1</sup> Medicinski fakultet, Sveučilište u Osijeku, Osijek, Hrvatska

<sup>2</sup> Klinički zavod za kliničku citologiju, Klinički bolnički centar Osijek, Osijek, Hrvatska

<sup>3</sup> Odjel za patologiju i citologiju, OB J. Benčević, Slavonski Brod, Hrvatska

<sup>4</sup> Klinika za pedijatriju, Klinički bolnički centar Osijek, Osijek, Hrvatska

**Cilj:** Procijeniti reproducibilnost procjene morfologije eritrocita tri promatrača te utvrditi povezanost slaganja među promatračima u odnosu na broj eritrocita u urinu i pH.

**Materijali i metode:** Presječnom studijom obuhvaćeno je 100 ispitanika koji su dali uzorak urina jednom ili u tri uzastopna dana u Kliničkom zavodu za kliničku citologiju KBC Osijek i Odjelu za citologiju OB Slavonski Brod. Iсти су obraђени u citocentrifugi, nativno bojani i procijenjeni od strane dva citologa (promatrač 1 i 2). Urin je također sedimentiran u centrifugama, nativno bojan te je morfologija procijenjena u komorici na 100 eritrocita (promatrač 3). Test trakicom se u uzorku odredio pH i broj eritrocita.

**Rezultati:** Postoji statistički značajna pozitivna korelacija između promatrača 1 i 2 ( $\tau = 0,689$ ), dok između promatrača 3 i ostala dva promatrača iznosi 0,472, odnosno 0,444. Pouzdanost mjerjenja u prisutnosti većeg broja eritrocita veća je ( $\alpha = 0,839$ ) u odnosu na uzorce s manjim brojem eritrocita ( $\alpha = 0,636$ ). Kod srednjih vrijednosti pH (6 i 7) postoji visoka pouzdanost među citoložima ( $\alpha = 0,954$ ,  $\alpha = 0,974$ ), dok približavanjem krajnosti (pH 5 i 8) dolazi do smanjenja pouzdanosti procjene ( $\alpha = 0,718$ ,  $\alpha = 0,698$ ).

**Zaključak:** Između citologa postoji veća konzistencija nego između pojedinog citologa i promatrača koji procjenjuje minimalno 100 eritrocita. Isto je većim dijelom posljedica različite metodologije pripreme uzorka. Veći/manji broj eritrocita čimbenik je koji značajno utječe na pouzdanost mjerjenja, što ukazuje da je potrebno revidirati metodologiju pripreme uzorka za procjenu morfologije eritrocita u citološkom laboratoriju koja omogućuje procjenu na većem broju eritrocita.

# ULOGA INTRAOPERATIVNE CITOLOGIJE U DETEKCIJI METASTAZA MELANOMA U SENTINEL LIMFNUČU ČVORU

## THE ROLE OF INTRAOPERATIVE TOUCH-IMPRINT CYTOLOGY IN DETECTION OF SENTINEL-NODE METASTASES IN MALIGNANT MELANOMA

**<sup>1</sup>Koraljka Rajković Molek, <sup>1</sup>Irena Seili-Bekafigo, <sup>2</sup>Nives Jonjić, <sup>2</sup>Gordana Zamolo**

<sup>1</sup>Zavod za kliničku citologiju, KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

<sup>2</sup>Zavod za patologiju, KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

---

**Cilj:** Operacija ili biopsija „sentinel“ limfnog čvora (SLN) izvodi se u cilju određivanja proširenosti odnosno stadija maligne bolesti. U slučaju pozitivnog intraoperativnog nalaza moguće je u istom aktu učiniti regionalnu limfadenektomiju.

**Ispitanici i metode:** Analizirali smo sve SLN kod bolesnika s melanomom u razdoblju od 2006. do kraja 2014. godine operirane u KBC Rijeka. Kod 201 bolesnika analizirano je 475 sentinel limfnih čvorova. Intraoperativna citološka analiza izvršena je na otiscima reznih ploha SLN. Nalazi svrstani su u tri skupine: pozitivni, negativni i suspektni te uspoređeni s definitivnim patohistološkim nalazom u kojem smo za potrebe istraživanja razlikovali metastaze ( $>2$  mm), mikrometastaze ( $<2$  mm) i izolirane tumorske stanice (ITS). Određena je osjetljivost i specifičnost citološke analize.

**Rezultati:** Intraoperativni citološki nalaz bio je pozitivan u 25 odnosno 6 % pregledanih SLN dok su 32 čvora ili 8,4 % bila suspektna. U definitivnom nalazu utvrđen je infiltrat melanomskih stanica u ukupno 55 (11,5 %) čvorova i to 35 (7,3 %) metastaza, 16 (3,3 %) mikrometastaza i 4 (0,8 %) ITS. Od 25 pozitivnih citoloških nalaza histološki je potvrđeno 20 metastaza i 1 mikrometastaza dok su 4 čvora bila negativna. Od 32 suspektna nalaza u 7 se radilo o metastazama, jednoj mikrometastazi i jednom čvoru s ITS. Specifičnost metode iznosila je 99 % a osjetljivost 57 % za metastaze i 38 % za mikrometastaze. Izvor nepodudarnosti i većeg broja suspektnih nalaza bile su ITS u otiscima odnosno pigmentofagi koji se ponekad teško razlikuju od izoliranih melanomskih stanica.

**Zaključak:** Prednost intraoperativne citološke analize je brzina, niska cijena i očuvanje materijala za dalji postupak. S obzirom na visoku specifičnost smatramo ju korisnom i pouzdanom intraoperativnom analizom za SLN kod bolesnika s melanomom.

# CITOLOŠKA DIJAGNOSTIKA LEZIJA ŠITINJAČE – BETHESDA SISTEM: JEDNOGODIŠNJA RETROSPEKTIVNA STUDIJA ODJELA ZA CITOLOGIJU, KBC SPLIT

Marina Piljić Burazer

Klinički zavod za patologiju, sudsku medicine i citologiju, KBC Split, Split, Hrvatska

**Cilj:** Prikaz broja lezija štitnjača punktiranih tijekom 2015. godine na Odjelu za citologiju KBC Split i usporedba dijagnoza citoloških nalaza s predloženim dijagnostičkim kategorijama Bethesda sustava.

**Materijali i metode:** Retrospektivna analiza 3681 citološkog nalaza punktata štitnjače. Citološke dijagnoze svrstane su u šest kategorija Bethesda sustava: nedijagnostičan/neadekvatan, benigno, atipija neodređenog značaja/folikularna lezija neodređenog značaja, folikularna neoplazma/suspektna folikularna neoplazma, suspektan malignitet i maligno.

**Rezultati:** Distribucija citoloških dijagnoza prema šest kategorija Bethesda sustava: 13,2 % nedijagnostičan/neadekvatan, 70,1 % benigno, 4,2 % atipija neodređenog značaja/folikularna lezija neodređenog značaja, 9,1 % folikularna neoplazma/suspektna folikularna neoplazma, 1,4 suspektan malignitet, 1,8 maligno.

**Zaključak:** Veliki je postotak nedijagnostičkih/neadekvatnih uzoraka, radi čega se mora ponoviti citološka funkcija štitnjače. Stoga je nužno revidirati i još jednom jasno utvrditi citološke kriterije u ovoj prvoj kategoriji Bethesda sustava.

# „BORDERLINE“ SEROZNI TUMOR JAJNIKA U CERVIKOVAGINALNOM OBRISKU

## OVARIAN SEROUS „BORDERLINE“ TUMOR IN CERVICOVAGINAL SMEAR

<sup>1</sup>Danijela Jurič, <sup>1</sup>Ana Barišić, <sup>1</sup>Sanda Rajhvajn, <sup>1</sup>Lada Škopljanc-Maćina,

<sup>1</sup>Ivana Šamija Projić, <sup>2</sup>Damir Petrović, <sup>3</sup>Franjo Grgić, <sup>1</sup>Vesna Mahovlić

<sup>1</sup> Odjel za ginekološku citologiju, KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup> Odjel za ginekološku patologiju i perinatologiju, Klinički zavod za patologiju i citologiju, KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup> Zavod za ginekološku kirurgiju i urologiju, Klinika za ženske bolesti i porode, KBC Zagreb, Zagreb Hrvatska

**Uvod:** Papa test se kroz desetljeća svoje primjene pokazao kao uspješan test probira za otkrivanje preinvazivnih lezija raka vrata maternice. Međutim, ponekad se analizom Papa testa mogu otkriti i drugi tumori primarno ginekološkog sijela (endometrij, jajnik, jajovod), ali i drugih udaljenih organa. Takve stanice se najčešće nađu u vaginalnom razmazu kao mjestu sakupljanja stanica koje eksfoliraju putem cervikalnog kanala.

**Prikaz slučaja:** 26-godišnja pacijentica redovito se ginekološki kontrolirala izvan naše ustanove zbog abnormalnih nalaza Papa testa, zadnji 2011. HSIL (skvamoznaintraepitelna lezija visokog stupnja; CIN III), koji je histološki potvrđen biopsijom 2012. U prosincu 2014. pacijentica dolazi u Kliniku za ženske bolesti i porode i tada uzeti Papa test je bio ASC-H (atipične skvamozne stanice – ne može se isključiti HSIL), te AGC NOS (atipične glandularne stanice – nespecificirane) – porijeklo endometrij (?). U razmazu se nalaze trodimenzionalne nakupine abnormalnih cilindričnih stanica, mjestimice sa psamomskim tjelešcima, pretežno u vaginalnom razmazu, nakon čega je učinjena biopsija i ekskohleacija vrata maternice s urednim patohistološkim nalazom. Ultrazvučni nalaz je bio uredan. Nakon učinjene biopsije ponovljeni Papa test u veljači 2015. ponovno je AGC NOS mjestimice sa psamomskim tjelešcima (porijeklo endometrij (?), serozni tip (?)). Ponovljenim ultrazvučnim pregledom uz lijevi jajnik nalazi se hiperehogena tvorba promjera 2 cm, te povиšen tumorski biljež CA 125: 63,21 U/ml. U ožujku 2015. pri laparoskopiji nađeni su karfiolasti tumori na oba jajnika promjera 3 cm. Intraoperativno citološki nalaz ispirka zdjelice i patohistološki nalaz komadića tumorskog tkiva upućuju na „borderline“ tumor seroznog tipa koji su potvrđeni na konačnom patohistološkom nalazu, uz neinvazivne epitelne implantate po peritoneumu i omentumu.

**Zaključak:** S obzirom na najnovije spoznaje o nastanku raka jajnika (epitel jajovoda (?)), prirodni način ljuštenja stanica i njihova sakupljanja u vaginalnom razmazu potrebno je obratiti pozornost na nakupine abnormalnih cilindričnih stanica koje mogu biti prvi znak bolesti.

# PLANOCELULARNI KARCINOM TIJELA MATERNICE – PRIKAZ SLUČAJA

## *SQUAMOUS CARCINOMA OF UTERINE CORPUS – CASE REPORT*

<sup>1</sup>**Sanda Rajhvajn**, <sup>1</sup>**Vesna Mahovlić**, <sup>1</sup>**Lada Škopljjanac-Maćina**, <sup>1</sup>**Ana Barišić**,  
<sup>1</sup>**Danijela Jurič**, <sup>1</sup>**Ivana Šamija Projić**, <sup>1</sup>**Iris Fabijanić**, <sup>2</sup>**Karlo Tomičić**, <sup>3</sup>**Damir Petrović**

<sup>1</sup>Odjel za ginekološku citologiju, Klinički zavod za patologiju i citologiju, KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Klinika za ženske bolesti i porode, KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup>Odjel za ginekološku patologiju i perinatologiju, Klinički zavod za patologiju i citologiju, KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska

**Uvod:** Primarni planocelularni karcinom tijela maternice izrazito je rijetka bolest. Prema klasifikaciji Svjetske Zdravstvene organizacije (SZO) iz 2003. opisano je svega 70-ak slučajeva. Najnovija SZO klasifikacija (2014.) ne navodi ovaj entitet.

**Prikaz slučaja:** Pacijentica (L.E., 78 godina) primljena je u Kliniku za ženske bolesti i porode (Klinika) zbog krvarenja u postmenopauzi i AGC (atipične cilindrične stanice)-endocervikalnog porijekla u Papa nalazu. Ginekološkim pregledom nalaz je bio uredan dok je ultrazvukom (UZV) nađen miomatozni čvor  $3 \times 2,5$  cm u stražnjoj stijenci maternice. Citološkom analizom aspirata iz materišta nađene su brojne maligne, pretežno orožnjele stanice pločastog epitela, a u patohistološkom nalazu (PHD) kiretmana tračci višeslojnog pločastog epitela bez podležeće strome i nepotpune debljine, urednog izgleda. Zbog razlike citološkog i patohistološkog nalaza preporučeno je ponoviti frakcioniranu kiretažu.

Nakon 2 mjeseca klinički i UZV nalaz bio je isti. U citološkoj analizi Papa testa ponovljenog u Klinici nađene su brojne atipične stanice pločastog epitela (ASC), dijelom orožnjele, u sva tri obriska. Citološkom analizom ponovljenog aspirata iz materišta nađu se brojne stanice pločastog epitela, mjestimice atipičnog izgleda s jako izraženom parakeratozom i diskeratozom, a u ponovljenom kiretmanu patohistološki se nađu obilni tračci akantotičnog višeslojnog pločastog epitela s keratinskim perlama, s napomenom da je materijal nedostatan za definitivnu patohistološku dijagnozu.

Opsežniji zahvat se odgađa zbog komorbiditeta, dok su u Papa testu ponovljenom nakon 3 mjeseca opet nađene brojne orožnjele atipične stanice pločastog epitela, u sva tri obriska.

Kod ponovnog primitka ginekološki klinički nalaz bio je isti, dok se UZV pregledom nađe uterus ispružen, kuglast, nehomogenih odjeka, u području istmusa izrazito pozitivna neovaskularizacija. CT zdjelice opisuje povećano područje korpusa, hipovaskularne strukture,  $7,6 \times 5,1$  cm, dok su cerviks i vagina primjerene veličine. Na temelju svih nalaza indiciran je operativni zahvat pri čemu se na površini uterusa vidi više bjelkastih čvorova. Intraoperativnom citološkom analizom ispirka abdomena identificiraju se malobrojne stanice pločastog epitela, mjestimice atipičnog izgleda, pozitivne na CK (citokeratin) 5/6 naknadnim imunocitokemijskim bojenjem. Patohistološkom analizom u području korpusa i istmusa uterusa nađen je tumor građen od dobro diferenciranih atipičnih pločastih epitelnih stanica s brojnim orožnjavanjima i obilnom nekrozom ( Carcinoma planocellulare gradus I corporis et isthmici uteri ) koji dopire do seroze, a p16 je negativan, dok su cerviks te jajnici, omentum i limfni čvorovi urednog izgleda.

Nakon provedene terapije zračenjem te 8 mjeseci nakon operacije klinički, UZV i citološki (Papa test) nalazi su uredni.

**Zaključak:** Dobro diferencirani (orožnjeli) karcinom pločastih stanica često je diferencijalno dijagnostički problem na sijelima rijetke i teško dostupne lokalizacije.

# CITODIAGNOSTIKA U PROGRAMU PROBIRA RANO OTKRIVANJA RAKA DOJKE U OSJEČKO-BARANJSKOJ ŽUPANIJI

<sup>1</sup>**Branka Lončar, <sup>2</sup>Tibor Santo, <sup>1</sup>Biljana Pauzar, <sup>1</sup>Nataša Vrselja, <sup>1</sup>Marija Perić,  
<sup>1</sup>Valerija Miličić, <sup>1</sup>Blaženka Staklenac**

<sup>1</sup>Klinički zavod za kliničku citologiju, KBC Osijek, J. Hüttlera 4, 31000 Osijek, Hrvatska

<sup>2</sup>Zavod za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije, Drinska 8, 31 000 Osijek, Hrvatska

**Cilj:** Odrediti vrijednosti citologije u dijagnostici promjena u dojci otkrivenih kroz provedbu Nacionalnog programa ranog otkrivanja raka dojke u Osječko-baranjskoj županiji.

**Materijal i metode:** Istraživanje je obuhvatilo bolesnice kojima je tijekom tri ciklusa (2006-2014. godine) Nacionalnog programa ranog otkrivanja raka dojke u Osječko-baranjskoj županiji, mamografski nalaz klasificiran BI-RADS 3, BI-RADS 4 i BI-RADS 5 kategorijom. U okviru trostrukre procjene pacijentice su upućene na daljnju obradu te im je u KBC Osijek učinjeno je dodatno oslikavanje (ultrazvuk) i ultrazvukom vođena citološka punkcija. Citološki nalazi su klasificirani u skladu s Europskim smjernicama za osiguranje kvalitete u probiru i dijagnostici raka dojke (C1-C5) i uspoređeni s patohistološkom dijagnozom.

**Rezultati:** Kroz tri ciklusa Nacionalnog programa izdvojene su 1554 bolesnice s mamografskim BI-RADS nalazima klasificiranim kategorijama 3, 4 i 5. Za 100 bolesnica je bila moguća usporedba citološkog i patohistološkog nalaza te je određena osjetljivost, specifičnost, pozitivna i negativna prediktivna vrijednost. Osjetljivost citologije je 97,4 %, specifičnost 72,2 %, pozitivna prediktivna vrijednost 93,7 % i negativna prediktivna vrijednost 86,6 %.

**Zaključak:** Citološka punkcija je dio opće prihvaćenog koncepta (trostrukog testa) za pregled palpabilnih i radiološkim metodama slikevog prikaza otkrivenih, nepalpabilnih promjena dojke. U dijagnostici je nužno pronaći ravnotežu između osjetljivosti i specifičnosti kako bi broj stvarno pozitivnih i lažno pozitivnih bio prihvatljiv. Multidisciplinarnim pristupom, pridržavanjem Smjernica za osiguranje kvalitete i sustavnom edukacijom svih osoba uključenih u dijagnostiku moguće je smanjiti broj nepotrebnih pregleda kao i broj lažno negativnih nalaza.

# KARCINOM DOJKE KAO DRUGI PRIMARNI TUMOR – MORFOLOŠKE I IMUNOLOŠKE KARAKTERISTIKE

**Iva Bobuš Kelčec, Merdita Agai, Vesna Ramljak**

Zavod za kliničku citologiju, KBC Sestre milordnice-Klinika za tumore, Ilica 197, Zagreb, Hrvatska

**Cilj:** Cilj našeg istraživanja bio je usporediti citomorfološke, te patohistološke karakteristike karcinoma dojke kod bolesnica koje su prethodno imale drugi primarni tumor.

**Materijali i metode:** Analizirali smo punktate i patohistološke nalaze tumora, te povijesti bolesti 14 bolesnica operiranih 2015. godine zbog karcinoma dojke u našoj ustanovi. Sve su bolesnice prethodno imale primarne maligne tumore drugih organskih sustava.

**Rezultati:** Bolesnice su bile liječene od: 4 – kolorektalnog karcinoma, 1 – medularnog karcinoma štitnjače, 2 – melanoma, 1 – karcinoma endometrija, 1 – karcinoma cerviksa uterusa, 1 – sarkoma, 1 – adenokarcinoma bubrega, 1 – adenoskvamoznog karcinoma žučnjaka, 2 – papilarnog karcinoma štitnjače.

Od razmaza punktata 14 tumora, 8 ih je bilo citološki visokog (gr III), 4 srednjeg (gr II), te 2 niskog nuklearnog gradusa (I). Patohistološki su svi karcinomi bili NST 100 % (14/14), a 0 % (0/14) lobularni ili ostali specifični podtipovi. 8/14 (57 %) tumora je imalo gradus III, što se poklapalo s citomorfološkom analizom, a 6/14 (43 %) gradus II. Niti jedan tumor nije prema patohistološkom nalazu imao gradus I. 3/14 (21 %) karcinoma je bilo trostruko negativno, a 4/14 (28,5 %) Her-2 pozitivno. ER su bili pozitivni u više od 10 % stanica kod 11/14 (78,5 %) tumora.

**Zaključak:** Analizirani podaci ukazuju da se kod svih bolesnica radilo o NST karcinomima srednjeg i višeg gradusa, sa značajnijim udjelom trostruko negativnih tumora (21 %), a što ukazuje na veću biološku agresivnost. No, za potvrdu naše hipoteze su potrebna daljnja morfološko-klinička, a i genetska istraživanja na većem uzorku.

# PATOLOZI BEZ GRANICA – ISKUSTVA HRVATSKIH CITOLOGA U EDUKACIJI CITOTEHNOLOGA U AFRICI

**1Maja Mišić, 1Ivana Prvulović, 2,3Valerija Miličić, 4,5Vesna Ramljak**

<sup>1</sup>Odjel za patologiju i citologiju, O.B. J. Benčević, Slavonski Brod, Hrvatska

<sup>2</sup>Medicinski fakultet, Sveučilište u Osijeku, Osijek, Hrvatska

<sup>3</sup>Klinički zavod za kliničku citologiju, Klinički bolnički centar Osijek, Osijek, Hrvatska

<sup>4</sup>Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

<sup>5</sup>Klinička jedinica za citologiju, Klinika za tumore, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

**Cilj:** Prikazati aktivnosti članova Hrvatskog društva za kliničku citologiju u radu volonterske udruge Patologa bez granica. Udruga je osnovana 1999. g. s ciljem osnivanja citoloških i patohistoloških laboratorijskih i edukacijskih medicinskih osoblja u nerazvijenim zemljama, a od 2013. g. u radu udruge aktivno sudjeluju hrvatski citolozi.

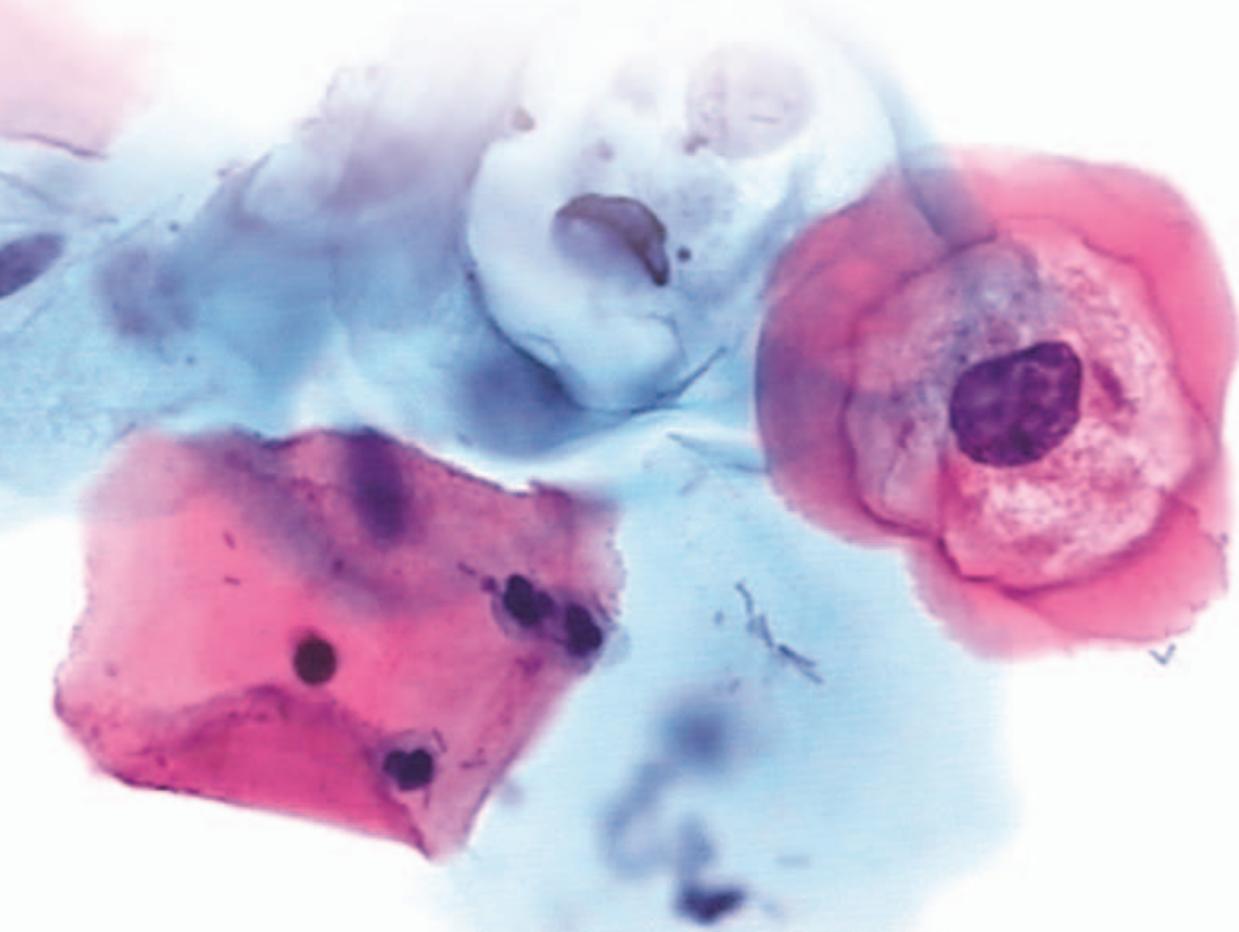
**Materijali i metode:** U okviru projekta za organizaciju programa ranog otkrivanja raka vrata maternice, koji je u pojedinim afričkim zemljama na prvom mjestu po učestalosti i smrtnosti od raka u žena generativne dobi, provedena je edukacija citotehnologa iz ginekološke citologije. Program edukacije sastojao se od 6 edukacijskih modula u trajanju od po dva tjedna, a uključivao je teorijska predavanja, vježbe uz uporabu računalnih didaktičkih platformi i vježbe na mikroskopima. Edukaciji citotehnologa prethodila je edukacija medicinskih sestara u svrhu uzimanja VCE obrisaka i edukacija patologa iz ginekološke citologije, a slijedila je edukacija ginekologa iz kolposkopije i kirurškog liječenja lezija vrata maternice.

**Rezultati:** U pilot projektu opremljen je laboratorij za citološku i patohistološku dijagnostiku u Mtendere misionarskoj bolnici u Chirundu u Zambiji i provedena je edukacija dva citotehnologa, te je uspostavljena telepatologija u rutinskoj primjeni. Potom je provedena edukacija 8 citotehnologa u Federalnom medicinskom centru u Owerriju u Nigeriji i 13 citotehnologa u Sveučilišnoj bolnici u Lusaki u Zambiji.

**Zaključak:** U dijelovima svijeta sa slabo razvijenom zdravstvenom zaštitnom stanovništvu potrebno je poticati razvoj citologije koja omogućava prevenciju i rano otkrivanje zloćudnih bolesti.

**HRVATSKI SIMPOZIJ CITOTEHNOLOGIJE**

**CROATIAN SYMPOSIUM OF CYTO TECHNOLOGY**



# THE ROLE OF CYTOTECHNOLOGISTS IN THE ERA OF NEW TECHNOLOGIES

## ***ULOGA CITOTEHNOLOGA U ERI NOVIH TEHNOLOGIJA***

**Maj Liv Eide**

Section of Cytology, Department of Pathology and Medical Genetics, Trondheim University Hospital, and Institute of Biomedical Science, Faculty of Technology, Norwegian University of Science and Technology, NTNU, Norway

The screening programs against cervical cancer are changing in many countries in Europe. HPV-testing, liquid based cytology and automation have been implemented in many laboratories and HPV vaccination in many national vaccination programs. In some countries a screening algorithm with HPV as primary screening and cytology as triage to HPV positive women are being implemented. These changes have a huge impact on the Cytotechnologists profession.

We know that the future for our profession will change dramatically. How do we maintain competence in cervical cytology, when HPV-testing is the primary method of choice and the number of cytology specimens decreases dramatically and further when the prevalence of low and high-grade lesions decreases as the vaccinated women reaches screening age?

Which roles will the Cytotechnologist have in the future cytopathological diagnostics and what skills are necessary to meet the future needs? The clinicians ask for more than a diagnosis. They want help with designing therapy and deciding the prognosis. Molecular cytology is an emerging discipline. Cytological specimens are well suited for analyses at the molecular level, like HPV-testing and p16/Ki67 immunocytochemistry.

We know from previous surveys in Europe that Cytotechnologists in general, perform much more than screening cervical cytology specimens. They prescreen non-gynecologic specimens and perform HPV-testing, immunocytochemistry, FISH, teaching, biobanking, QA/QC and participate in rapid on-site evaluation (ROSE) on sample adequacy, among other things.

The future Cytotechnologist has to be multiskilled and flexible to meet the future needs. The opinion of the European Advisory Committee of Cytotechnology (EACC) is that the prerequisite for the future role of Cytotechnologists is solid basic education as bachelor in biomedical science or similar, before entry into training in cytology and ancillary techniques. It is the EACC's opinion that each country should have an organized training and education program in cytotechnology recognized on a national level.

EACC has made a proposal for minimum requirements for practising cytotechnology in Europe including a curriculum. The EACC suggests that the training should be divided in three modules: A. Gynecologic cytology (6 months), B. Non-gynecologic exfoliative cytology (3 months) and C. Non-gynecologic fine needle aspiration cytology (3 months). The curriculum should include specific subjects, with defined knowledge and skills. The training in gynecologic cytology in Europe is for the most structured and organised, but the training in non-gynecologic cytology is random and diverse. A structured training program in non-gynecologic cytology will ensure that if Cytotechnologists prescreen e.g. FNAC, they will be a more useful and valued member of the diagnostic team. I believe this is a necessity for the future of cytology in general.

My belief is that Cytotechnologists will play an important role in the future cytopathological diagnostics. The Cytotechnologists' knowledge and skills in both morphology and laboratory technology is a priceless combination.

# **QUALITY ASSURANCE AND QUALITY CONTROL FOR IMMUNOCYTOCHEMISTRY ON CYTOLOGY SAMPLES**

**Irena Srebotnik Kirbiš**

Institute of Pathology, Faculty of Medicine, University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

Immunohistochemistry is well established ancillary method for assessing diagnostic, prognostic and predictive markers on a formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissue sections. All antibodies, reagents and detection kits are validated and optimized for this standard application. The method can also be used on a differently prepared cytology samples. However, thorough implementation of quality assurance and quality control (QA/QC) measures is mandatory.

Beside basic and general QA/QC measures valid for all clinical laboratories there are few particularly important and challenging measures for immunocytochemistry (ICC) on cytology samples. First of all, each modification or variation from standard FFPE procedure should be validated in order to confirm that antigens on cytology slides are detected as reliable as on FFPE tissue. Moreover, the ICC procedure should be optimized and adapted for optimal results on cytology slides. The second important measure is application of control slides which are prepared as similar as possible to the patient sample in each staining run.

In practice, each laboratory using ICC on cytology slides should prepare their own control slides according to their cytology sample processing procedure. Moreover, the influence of fixation on ICC reactions should be carefully evaluated in each laboratory. In order to prepare sufficient cytological slides for all required ICC controls highly cellular samples are required. Good and accessible source for cytology control slides are highly cellular effusions containing a mixture of cells. Besides that, leftovers of highly cellular diagnostics FNA's and ex-vivo FNA's of resected tumours are also a valuable source of control slides. Another good source for cytology control slides are cell cultures where numerous identical cells with known antigen expression can be obtained. Unfortunately this approach requires an access to a cell culture facility not available in every cytology laboratory. In addition to internal QA/QC measures laboratories should participate in appropriate external quality control which can help in detecting and solving problems as well as in quality improvement.

High quality, reliable and consistent immunoreactions is achievable on various cytological preparations only by thorough implementation of complex and demanding quality assurance and quality control (QA/QC) requirements.

# VAŽNOST IMUNOCITOKEMIJSKE ANALIZE U DIFERENCIJALNOJ DIJAGNOSTICI KARCINOMA PLUĆA

## THE IMPORTANCE OF IMMUNOCYTOCHEMISTRY IN DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF LUNG CANCER

**<sup>1</sup>Suzana Harabajsa, <sup>2</sup>Nives Jonjić, <sup>1</sup>Silvana Smoijver-Ježek**

<sup>1</sup>Klinički Zavod za patologiju i citologiju, Odjel za pulmološku citologiju, KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Zavod za Patologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

**Cilj:** Prikazati adekvatnost citoloških uzoraka za imunocitokemijsku analizu, utjecaj kombinacije uzoraka na ishod analize, najčešći broj primjenjenih monoklonalnih protutijela te doprinos imunocitokemije u diferencijalnoj dijagnostici karcinoma pluća.

**Materijal i metode:** Razmotreni su način dobivanja i obrade materijala te kvaliteta preparata obzirom na zastupljenost malignih stanica u uzorku.

**Rezultati:** Imunocitokemijski je obrađeno 428 (20,27 %) uzoraka. Nakon imunocitokemije nije bilo moguće interpretirati 31 (79,48 %) uzorak zbog oskudnosti malignih stanica, 5 (12,82 %) uzoraka zbog odsutnosti obojenja te 3 (7,69 %) uzorka zbog odljepljivanja s citološkog stakla. Obzirom na vrstu uzorka, nije bilo moguće interpretirati 5 (5,15 %) kateter aspirata (KAS), 7 (5,93 %) otisaka brisa bronha četkicom (BČ), 1 (5,55 %) bronhoalveolarni lavat (BAL), 5 (12,20 %) punktata fiberom (PF), 12 (20,70 %) pleuralnih izljeva (PI), 3 (6,66 %) limfna čvora (LČ) punktirana na slijepo, 2 (13,34 %) punktata tvorbe (PT) i 4 (12,90 %) transtorakalna punktata (TTO). Od ukupno 77 kombinacija dva različita uzorka, 3 (3,89 %) slučaja nisu dala pouzdane rezultate za interpretaciju. Od ukupno 254 analiza kod kojih su primjenjena od 1 do 3 monoklonalna protutijela, 29 (11,41 %) nije bilo moguće interpretirati, a od ukupno 118 analiza kod kojih su primjenjena 4 i više monoklonalna protutijela, nije bilo moguće interpretirati 10 (8,47 %).

**Zaključak:** Uzorci KAS, BČ, BAL, MINIBAL, PF, PI, LČ, PT i TTO pokazali su se adekvatnim za imunocitokemijsku obradu i analizu. Kombinacijom različitih uzoraka istog bolesnika povećava se uspješnost imunocitokemijske analize, a veći broj monoklonalnih protutijela ne umanjuje uspješnost imunocitokemijske analize. Imunocitokemijska analiza je uz rutinsko MGG bojanje od velike pomoći u doноšenju konačne dijagnoze.

# **PRIMJENA GENOTIPIZACIJSKOG HPV TESTA METODOM HIBRIDIZACIJE S AMPLIFIKACIJOM SIGNALA**

## **APPLICATION OF HPV GENOTYPING TEST USING HYBRIDIZATION ASSAY WITH SIGNAL AMPLIFICATION**

**Tina Markanjević, Iva Lončar, Roberta Rubeša-Mihaljević, Damjana Verša-Ostojić**

Zavod za kliničku citologiju, Klinički bolnički centar Rijeka, Rijeka, Hrvatska

**Cilj:** Prikaz metode određivanja HPV genotipova 16, 18 i 45 metodom hibridizacije s amplifikacijom signala te korelacija rezultata s uputnom citološkom dijagnozom i histološkim nalazom u razdoblju praćenja.

**Materijali i metode:** 2015. godine u citološki laboratorij KBC Rijeka uveden je HPV genotipizacijski PS test kojeg izvode educirani citotehnolozi. Uzorci se obrađuju na standardnoj opremi za *Digene Hybrid Capture 2* test (HC2, Qiagen, Germany) uz dodatni aparat *TermoShaker* koji služi za grijanje i treskanje uzorka. Test se izvodi na uzorcima cervikalnog brisa koji su pozitivni na grupni HPV test visokog rizika metodom HC2. Na denaturiranim uzorcima primijenjen je HPV genotipizacijski test koji se izvodi u triplikatu za svaki uzorak te se dobiva pojedinačni kvalitativni rezultat za HPV tipove 16,18,45. Postupkom se stvaraju RNA:DNA hibridi koji se vežu antitijelima na mikrotitarsku pločicu, a na njih se veže alkalna fosfataza. Na stvoreni kompleks veže se kemiluminiscentni reagens te se intenzitet reakcije mjeri luminometrom. Analizirali smo 48 cervikalnih uzorka a rezultate HPV genotipa usporedili smo s uputnim citološkim dijagnozama i histološkim nalazom u periodu praćenja.

**Rezultati:** Od 48 analiziranih uzorka 70,8 % bilo je negativno na HPV 16,18,45. HPV 16 nađen je u 14,6 %, HPV 18 u 12,5 % te HPV 45 u 2,1 % uzorka. Od 26 uzorka s nalazom ASCUS ili LSIL 69,2 % bilo je ne-HPV 16,18,45, dok je 30,8 % imalo HPV 16,18 ili 45. U 9 slučajeva rađena je histološka analiza. CIN2+ nađen je u 3 od 7 HPV 16 te u 3 od 34 ne-HPV 16,18,45.

**Zaključak:** Primjena HPV genotipizacijskog PS testa jednostavno se uvodi u citološki laboratorij koji izvodi standardni HC2 test te je korisna dodatna metoda u trijaži abnormalnih citoloških nalaza s povećanim rizikom za CIN2+ lezije.

# **ANALIZA PRIMJERENOSTI UZORKA U GINEKOLOŠKIM ORDINACIJAMA**

## ***ANALYSIS OF SPECIMEN ADEQUACY IN GYNECOLOGICAL OFFICES***

**Vilić M., Orešković M., Molnar Stantić B., Jelušić B., Lonjak Z., Ovanin-Rakić A.**

Citološki laboratorij dr. Branka Molnar Stantić, Sveta Nedelja, Hrvatska

**Cilj:** PAPA test je brza, jednostavna i neinvazivna medicinska pretraga kojoj je svrha prevencija i rano otkrivanje premalignih i malignih lezija. Točnost citološke dijagnoze ovisi o kvaliteti uzimanja, fiksaciji, tehničkoj obradi uzorka te iskustvu citotehnologa i citologa. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi postoje li značajne razlike u kvaliteti uzimanja PAPA razmaza u različitim ginekološkim ordinacijama te upozoriti na njihovu važnost pri donošenju citološke dijagnoze.

**Materijal i metode:** Statistički smo obradili i analizirali najčešće razloge neprimjerenošći uzoraka, a to su oskudni razmazi, razmazi bez endocervikalnih cilindričnih stanica te razmazi prekriveni leukocitima ili eritrocitima.

**Rezultati:** Rezultati su pokazali značajne razlike u kvaliteti uzimanja razmaza u različitim ginekološkim ordinacijama. U oskudnim razmazima vrijednosti variraju od 0,00 % do 9,91 %, u razmazima u kojima nema endocervikalnih cilindričnih stanica vrijednosti se kreću od 0,95 % do 64,14 %, u uzorcima prekrivenim leukocitima od 0,30 % do 8,72 % te uzorci prekriveni krvi imaju raspon od 0,00 % do 4,65 %.

**Zaključak:** Zaključujemo da postoje bitne razlike u kvaliteti uzimanja uzoraka u različitim ginekološkim ordinacijama te da je u svrhu poboljšanja točnosti citološke dijagnoze potrebna dobra komunikacija između ginekologa i citologa.

# **REZULTATI CITOLOŠKOG PROBIRA NACIONALNOG PROGRAMA ZA RANO OTKRIVANJE RAKA VRATA MATERNICE U LABORATORIJU KBC RIJEKA**

## **CYTOLOGICAL SCREENING RESULTS OF THE NATIONAL PROGRAM FOR EARLY DETECTION OF CERVICAL CANCER IN THE LABORATORY OF CLINICAL HOSPITAL CENTER RIJEKA**

**Dajana Bašić, Danijela Vrdoljak-Mozetič, Ana Vunić, Eda Ciganj**

Zavod za kliničku citologiju, Klinički bolnički centar Rijeka, Rijeka, Hrvatska

**Cilj:** Procijeniti udio Papa testova u Nacionalnom preventivnom programu ranog otkrivanja karcinoma vrata maternice (NPP) u odnosu na oportunistički probir te analizirati raspodjelu nalaza, utjecaj kvalitete uzoraka na stopu abnormalnih nalaza, rad citotehnologa i praćenje pacijentica.

**Materijal i metode:** U citološkom laboratoriju KBC Rijeka u 2013. i 2014. obrađeni su Papa testovi u okviru NPP Cerviks iz 23 specijalističke ginekološke ordinacije. Metoda probira je konvencionalni Papa test. Koristila se jedinstvena klasifikacija citoloških nalaza vrata maternice „Zagreb 2002“. Kontrola kvalitete rada citotehnologa vršila se kroz reskrining negativnih uzoraka.

**Rezultati:** U okviru NPP analizirano je 6316 uzoraka Papa testa što predstavlja 8,4 % od ukupno obrađenih ( $N = 75.189$ ). Prema raspodjeli nalaza Papa testova u 4,2 % zabilježen je nalaz abnormalnih stanica, 0,8 % ne zadovoljava za interpretaciju, a 32,6 % je suboptimalne kvalitete. Razlike u stopama abnormalnih nalaza, nezadovoljavajućih i suboptimalnih uzoraka između ispitivanih ordinacija statistički su značajne. Udio abnormalnih nalaza u ordinacijama s manje od 25 % suboptimalnih uzoraka i manje od 10 % uzoraka bez endocervikalnih cilindričnih stanica značajno je viši u usporedbi s ostalim ordinacijama. Lažno negativnih uzoraka težeg stupnja u reskriningu je 0,02 %. Na kontrolni pregled i obradu odazvalo se 78 % pacijentica s nalazom abnormalnog Papa testa te je dijagnosticirano 12 lezija visokog stupnja i tri pločasta karcinoma.

**Zaključak:** Rezultati dvogodišnje evaluacije pokazuju da je oportunistički probir višestruko značajnije zastupljen u usporedbi s organiziranim probirom. Stopa abnormalnih nalaza Papa testa je 4,2 %. Također, pokazano je da su suboptimalna kvaliteta uzoraka Papa testa kao i nedostatak endocervikalnih cilindričnih povezani s pojmom nižih stopa abnormalnih nalaza Papa testova.

# CITOLOŠKA OBRADA TEKUĆIH UZORAKA U „PETROVOJ“ TECHNICAL PREPARATION OF LIQUID SAMPLES IN „PETROVA“

**Željka Šokac Halapir, Silvio Cuvaj, Vesna Mahovlić**

Klinički zavod za citologiju i patologiju, Odjel za ginekološku citologiju, Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb, Hrvatska

**Cilj:** Točnost citološke analize tekućih uzoraka ovisi o kvaliteti uzimanja, vremenu proteklom od uzimanja uzorka i dostavi u laboratorij, pravilno ispunjenoj pratećoj uputnici, tehničkoj obradi, fiksaciji i bojanju, te iskustvu citologa. Cilj rada je prikazati protokol obrade tekućih uzoraka u laboratoriju u „Petrovoj“ i ukazati na moguće probleme i nedostatke tijekom cjelokupnog procesa obrade.

**Materijali i metode:** U Odjelu za ginekološku citologiju „Petrova“ obrađuju se i analiziraju različiti tekući uzorci (aspirat i ispirak zdjelišta i trbušne šupljine, ascites, sadržaj ciste jajnika i dojke, urin, itd), kao i uzorci koji se obrađuju pomoću tekućeg medija (punktat dojke, uzorak materišta uzet četkicom – Taobrush). Za tehničku obradu tekućih uzoraka koristi se citocentrifuga i/ili obična centrifuga, a preparati se uvijek rutinski boje metodama po Papanicolaou i May-Grünwald-Giemsi (MGG). Primitkom tekućeg uzorka najprije se procjenjuje izgled, boja i celularnost materijala. Slijedi proces sedimentacije obradom u citocentrifugi (Sakura, Japan), kojoj, ovisno o celularnosti tekućeg sadržaja, prethodi obrada u običnoj centrifugiji (Tehcnica Železniki, Slovenia). Osim toga tijekom procesa obrade i analize tekućih uzoraka primjenjuju se metode unutarnje kontrole kvalitete za svaki pojedini korak u protokolu rada. Kod jako hemoragičnih i sluzavih uzoraka dio uzorka se razrjeđuje otopinom koja hemolizira eritrocite i pročišćuje cjelokupni materijal (CytoLyt Solution, Hologic, USA). U slučaju izrazito gustog sedimenta (i nakon ponovljene centrifugacije s manjim brojem kapi uzorka), potrebno je isti razvući citološkom tehnikom „staklo na staklo“. Također je potrebno primjeniti optimalno vrijeme fiksacije („sušenje na zraku“), u svrhu sprečavanja otpadanja sedimenta sa predmetnice tijekom procesa bojanja.

**Rezultati:** Obojenost i celularnost materijala kontroliraju citotehnolozi i citolozi prije konačne analize. Ovako uhodanim i kontroliranim procesom rada postiže se veća kvaliteta preparata tekućih uzoraka, što omogućuje pouzdaniju citološku analizu.

**Zaključak:** Pravilno uzet, obrađen i analiziran tekući uzorak omogućuje rano otkrivanje i postavljanje diferencijalne citološke dijagnoze premalignih i malignih bolesti različite lokalizacije, kao i utvrđivanje kliničkoga stadija odnosno procjenu prognoze bolesti, te otkrivanje perzistencije ili recidiva maligne bolesti (prije operacije i/ili intraoperacijski).

# KONTROLA KVALITETE RADA U GINEKOLOŠKOM CITOLOŠKOM LABORATORIJU

## *QUALITY CONTROL IN GYNECOLOGICAL CYTOLOGY LABORATORY*

**Silvio Cuvaj, Vesna Poduje, Mustapić Daniela, Vesna Mahovlić**

Klinički zavod za citologiju i patologiju, Odjel za ginekološku citologiju, Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb, Hrvatska

**Cilj:** Unutarnja kontrola kvalitete rada je integralni i sistematični proces praćenja svih laboratorijskih funkcija unutar jednog citološkog laboratorija u svrhu osiguravanja kontinuirane pouzdanosti rezultata u skladu s dogovorenim standardima. Primjenom metode unutarnje kontrole kvalitete rada, probirom slučajnog odabira („random re-screening“) negativnih citoloških nalaza Papa obrisaka, cilj je procijeniti stopu lažno negativnih citoloških nalaza, kako bi se poboljšale mjere kontrole kvalitete rada u ginekološkom citološkom laboratoriju.

**Materijal i metode:** Tijekom razdoblja od 10 godina (2006 – 2015), analizirano je 290238 konvencionalnih Papa obrisaka. Od 83932 primarno negativno skriniranih Papa obrisaka citolog je metodom slučajnog odabira reskrinirao 8917 (10,62 %), dok je 206306 (71,08 %) upućeno citologu na daljnju analizu. Stariji citotehnolog je tijekom šestogodišnjeg razdoblja (2006. – 2011.), metodom dvostrukog probira reskrinirao 15037 Papa obrisaka, od kojih je 4059 (27 %) bilo negativno. Koristeći se metodom slučajnog uzorka („treći probir“), citolog je analizirao 23,28 % (945/4059) ovih Papa obrisaka

**Rezultati:** Inicijalno negativni primarni probir citotehnologa je potvrđen od strane citologa metodom slučajnog odabira u 98,4 % Papa obrisaka, dok je 1,6 % bilo lažno negativnih nalaza. Negativni dvostruki probir starijeg citotehnologa (2006. – 2011.), potvrđen je u 88,74 % Papa obrisaka, a 11,26 % je bilo lažno negativno. Najveća stopa lažno negativnih rezultata u oba slučaja se odnosi na nalaz atipičnih skvamoznih stanica – neodređenog značenja (ASC – US). Slučajeva težih intraepitelnih lezija nije bilo.

**Zaključak:** Primjenom metoda unutarnje kontrole kvalitete u ginekološkom citološkom laboratoriju omogućeno je otkrivanje lažno negativnih Papa nalaza kod asymptomatickih i simptomatskih pacijentica. Metoda re-screeninga slučajnim odabirom primarno negativnih Papa obrisaka i dvostrukog probira („double screening“) poboljšava pouzdanost nalaza Papa obrisaka, a isto tako se poboljšava i kvaliteta rada citotehnologa.

# **UPRAVLJANJE KVALITETOM U PROBIRU ZA RAK VRATA MATERNICE – ISPUNJAVA LI STANDARDE EUROPSKE UNIJE ?**

## ***QUALITY ASSESSMENT IN CERVICAL CANCER SCREENING – DO WE MEET EUROPEAN UNION STANDARDS?***

**Renato Rešetar, Iva Matić, Danijela Vrdoljak-Mozetič, Morana Dinter**

Zavod za kliničku citologiju, Klinički bolnički centar Rijeka, Rijeka, Hrvatska

**Cilj:** Prikazati načine upravljanja kvalitetom u probiru za rak vrata maternice ginekološkog citološkog laboratorija KBC Rijeka i usporediti ih sa smjernicama Europske komisije.

**Materijal i metode:** Upravljanje kvalitetom odvija se u nekoliko faza: pre-analitička, analitička i post-analitička faza. Pre-analitička faza podrazumijeva kontrolu uzimanja i sakupljanja uzoraka (uputnice i uzorci) koji se zaprimaju iz primarnih ginekoloških ambulanti. U analitičkoj fazi najvažnije mjesto zauzima kontrola tehničke obrade uzoraka i bojanja preparata te reskrining negativnih Papa testova. Kontrola kvalitete rada citotehnologa vrši se pomoću metoda temeljenih na reskriningu preparata koje se mogu raditi kao: 1. brza revizija, 2. brzi preskrining, 3. nasumični reskrining i 4. ciljani reskrining. U post-analitičkoj fazi najvažniji postupci su praćenje stope izdavanja abnormalnih nalaza, kontinuirana korelacija citologije i kliničkog/histološkog ishoda te ispravna pohrana podataka, nalaza i staklenih preparata.

**Rezultati:** U pre-analitičkoj fazi suradnjom i edukacijom ginekologa trajno radimo na poboljšanju kvalitete uzimanja Papa testova, a inzistiramo na korištenju Ayreove špatule i endocervikalne četkice za uzorkovanje. Kontrola tehničke obrade preparata provodi se na dnevnoj kontroli kemikalija, uklapanja te provjeri obojenja preparata. Kao metode reskrininga koristili smo brzi reskrining te nasumični i ciljni reskrining negativnih Papa testova. U reskriningu negativnih Papa testova dobivenih u 2013. i 2014. godini u okviru probira za rak vrata maternice stopa pogrešaka za teže lezije u skriningu bila je 0,02 %. Stopa abnormalnih nalaza koja je zabilježena u probiru za rak vrata maternice je 4,2 %. Provodi se kontinuirana korelacija citoloških i kliničko/patohistoloških nalaza. Podaci i nalazi pohranjuju se u elektronskom obliku i u papirnatoj kartoteci. Stakalca Papa testova čuvaju se od 5 do 7 godina.

**Zaključak:** Upravljanje kvalitetom u probiru za rak vrata maternice izrazito je važno i neophodno u svakom ginekološkom citološkom laboratoriju u svrhu osiguranja optimalne skrbi pacijentica, unaprijeđenja preciznosti i kvalitete rada pojedinih djelatnika, kao i čitavog laboratorija. Analizom rada ginekološkog citološkog laboratorija KBC Rijeka potvrđeno je da slijedimo i primjenjujemo gotovo sve preporuke o kontroli kvalitete Europske komisije, a svakodnevni rad na održavanju standarda kvalitete i njenog unaprijeđenja trebaju biti obavezni za sve citološke laboratorije.

# KONTROLA KVALITETE U NEGINEKOLOŠKOJ CITOLOGIJI NA ODJELU KLINIČKE CITOLOGIJE OPĆE BOLNICE KARLOVAC

## *QUALITY CONTROL IN NON-GYNECOLOGICAL CYTOLOGY GENERAL HOSPITAL KARLOVAC*

**Katica Rubić, Samija Ropar**

Odjel kliničke citologije OB Karlovac, Karlovac, Hrvatska

**Cilj:** Prikaz radnog procesa i kontrole kvalitete u neginekološkom citološkom laboratoriju, Opće bolnice Karlovac, Hrvatska. Smanjenje na minimalnu razinu stope lažnih negativnih i pozitivnih nalaza, praćenje i kontrola kvalitete u citološkom laboratoriju kroz kontinuirano održavanje, nadzor i poboljšanje dijagnostičke točnosti.

**Materijal i metode:** Koristeći europske i svjetske standarde kvalitete opisali smo mjere poboljšanja kvalitete, organizaciju rada u citološkom laboratoriju, edukaciju osoblja, hijerarhiju, opremljenost aparaturom, kontrolu vanjske i unutarnje kvalitete, mjere zaštite, obrasce i standardne operativne postupke.

**Rezultati:** Opis organizacije rada citološkog laboratorija kroz četiri faze: uzimanje i prijem uzorka, obrade uzorka u laboratoriju, mikroskopska analiza, izdavanje i interpretacija nalaza. Provođenje mera za poboljšanje kvalitete citološkog laboratorija kroz stalnu i kontinuiranu obuku osoblja, dovoljan broj stručnog osoblja, provođenje unutarnje i vanjske kontrole kvalitete na negativnim, graničnim i pozitivnim razmazima. Unutarna kontrola kvalitete sastoji se od dnevne kontrole, povremene kontrole uzorka neprikladnih za analizu i uzorka s normalnim nalazima, kao i timskom procjenom abnormalnih nalaza. Vanjska kontrola kvalitete se postiže putem re-analiza razmaza od strane drugih citološkog laboratorija u Hrvatskoj, koji su priznati kao centri izvrsnosti za pojedina područja iz neginekološke citologije. Korištenje i održavanje aparata (mikroskopi, aparat za automatsko bojenje razmaza, citocentrifiga), mjere zaštite u citološkom laboratoriju, obrasci, standardni operativni postupci i vrijeme potrebno za izdavanje nalaza.

**Zaključak:** Za kontrolu kvalitete rada u laboratoriju za neginekološku citologiju, moraju se ocjenjivati brojni aspekti rada: resursi i laboratorijski proces rada, radno opterećenje i pitanje produktivnosti, kvaliteta prikupljenih uzorka i informacija, arhiviranje uzorka i nalaza, kvaliteta izvještavanja i dijagnostičke točnosti. Kako bi se osigurala pouzdana kvaliteta rada u citološkom laboratoriju, potrebno je osigurati dovoljan broj stručnog osoblja, up-to-date opreme, otvoreni protok informacija, nastavak edukacije osoblja, jasnu hijerarhiju, kao i unutarnje i vanjske kontrole kvalitete.

# KONTROLA KVALITETE PRI CITOKEMIJSKIM REAKCIJAMA

## QUALITY CONTROL IN CYTOCHEMICAL REACTIONS

**Pavičić K., Gavrić Ž., Tušek A.M., Švigir M.**

Odjel za hematološku citologiju, citologiju dojke, urološku citologiju, orl citologiju, citologiju štitnjače, Klinički zavod za patologiju i citologiju, KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska

**Cilj:** prikazati način izvođenja kontrolnih reakcija pri citokemijskim analizama koje se svakodnevno koriste u dijagnostici hematoloških bolesti radi procjene točnosti tehničkog postupka

**Materijal i metode:** U citološkom laboratoriju KBC-a Zagreb, radilište Rebro citokemijske reakcije izvode se na uzorcima punktata koštane srži i razmaza periferne krvi najčešće u svrhu morfološke interpretacije tipa i podtipa akutne leukemije. Inženjeri našeg Kliničkog zavoda pri dijagnozi pojedine akutne leukemije izvode enzimske (MPO, ANAE uz inhibiciju natrijevim fluoridom, CAE) i neenzimske reakcije (SUD, PAS i ekstrahemoglobinsko željezo). Za procjenu ishoda citokemijske reakcije i interpretaciju citomorfološkog nalaza neophodan je postupak kontrole kvalitete pojedine reakcije. Kao vanjska kontrola služe uzorci koštane srži koji su kvalitativno i kvantitativno urednog staničnog sastava. Za svaku novootkrivenu akutnu leukemiju standardno se radi šest citokemijskih analiza i šest kontrolnih reakcija.

**Rezultati:** Prije analiziranja bolesnikovog uzorka, na kontrolnom uzorku se provjerava pozitivitet učinjene reakcije, te time i točnost tehničkog postupka. Reakcija se smatra pozitivnom uz očekivane nalaze kontrolnih reakcija.

**Zaključak:** Citokemija je analitička metoda za istraživanje i dokazivanje kemijskog sastava, porijekla i funkcionalnog stanja u stanicama; dijagnostičku važnost čine promjene tih staničnih karakteristika. Radi dijagnostičke točnosti svaki analizirani uzorak potrebno je usporediti s uzorkom znanog ishoda reakcije. U našem Kliničkom zavodu uzorci s učinjenim kontrolnim reakcijama arhiviraju se zajedno s dijagnostičkim uzorcima, radi zadovoljenja uvjeta vanjske kontrole kvalitete tehničke izvedbe pojedine reakcije.

# MOGUĆNOSTI I POTEŠKOĆE CITOLOŠKE ANALIZE SEDIMENTA URINA KOD MALIGNIH OBOLJENJA

## *POSSIBILITIES AND DIFFICULTIES OF CYTOLOGICAL URINE SEDIMENT ANALYSIS CONCERNING MALIGNANT DISEASES*

**<sup>1</sup>Silvija Canko, <sup>2</sup>Karmen Trutin Ostović**

<sup>1</sup>OB „Dr. Ivo Pedišić“ Sisak, Sisak, Hrvatska

<sup>2</sup>KB Dubrava i Zdravstveno vjeleučilište Zagreb, Zagreb, Hrvatska

**Cilj:** Odrediti mogućnosti i točnost citološke dijagnoze u određivanju malignih oboljenja mokraćnog mjehura i subtipa u odnosu na patohistološku dijagnozu.

**Materijal i metode:** Analizirani su trajno obojani preparati uzoraka spontano izmokrenog urina u 32 pacijenta, pripremljeni standardnom citološkom tehnikom i obojani po Pappenheim-u i Papanicolaou-u.

**Rezultati:** Analizirani su uzorci sedimenta urina u 32 pacijenta od 1. siječnja do 15. travnja 2011. godine na Odjelu za kliničku citologiju i citometriju, KB Dubrava, Zagreb. Citološki suspektan ili maligni nalaz dijagnosticiran je u 23 muškarca i 9 žena. Najčešće je dijagnosticiran papilarni karcinom urotela visokog stupnja u 13 pacijenata, papilarni karcinom urotela niskog stupnja u 6 pacijenata i 4 citološka nalaza recidiva. Citološki nalazi potvrđeni su patohistološkom dijagnozom u 26 pacijenata (86,67%). U 2 pacijenta sa suspektnim citološkim nalazom patohistološki je dijagnosticirana neoplazma niskog malignog potencijala i karcinom urotela niskog stupnja, u 2 pacijenta citološka i histološka dijagnoza su se razlikovale u subtipu neoplazme (citološki karcinom urotela visokog stupnja/histološki CIS; citološki miješani karcinom/histološki karcinom urotela visokog stupnja), a u 2 pacijenta s nalazom diskarioze nije učinjena patohistološka analiza.

**Zaključak:** Citološkom analizom sedimenta urina možemo dijagnosticirati ne samo maligna oboljenja mokraćnog mjehura već i subtipove. Citološki se CIS teško razlikuje od invazivnog ne-papilarnog karcinoma urotela. Citološka analiza sedimenta urina točna je u otkrivanju slabo diferenciranog karcinoma urotela, a slabija kod dobro diferenciranih papilarnih karcinoma zbog sličnosti s normalnim urotelom, dok je utvrđena visoka točnost citološke analize sedimenta urina s obzirom na subtip. Stoga se preporuča da se koristi kao jedna od prvih pretraga u algoritmu dijagnostike malignih oboljenja mokraćnog sustava.

# ULOGA LIMFNOG ČVORA ČUVARA U ODREĐIVANJU STADIJA RAKA DOJKE

## THE ROLE OF SENTINEL LYMPH NODE IN BREAST CANCER STAGING

**<sup>1</sup>Naglić G, <sup>2</sup>Mustać E, <sup>1</sup>Seili-Bekafigo I, <sup>1</sup>Rajković Molek K, <sup>1</sup>Manestar Marčelja M.**

<sup>1</sup>Zavod za kliničku citologiju KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

<sup>2</sup>Zavod za patologiju KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

**Cilj:** Bolesnici s rakom dojke radi dijagnosticiranja stupnja proširenosti bolesti podvrgnu se intraoperativnoj (IO) analizi limfnog čvora čuvara (LČČ). Cilj je usporediti citološke IO nalaze sa definitivnim patohistološkim (PH) nalazima i na temelju lažno pozitivnih i lažno negativnih citoloških nalaza odrediti osjetljivost, specifičnost i točnost IO citološke analize LČČ.

**Materijal i metode:** Uključeno je 1410 LČČ od 799 bolesnika operiranih u KBC-u Rijeka od siječnja 2008. god. do prosinca 2013. god.

Analizirani su citološki otisci reznih ploha LČČ obojanih „Kompletom za brzo i učinkovito bojanje hematoloških uzoraka“ proizvođača BIOGNOST, pripremljenih dogovorenim operativnim protokolom.

**Rezultati:** Analizirano je 1410 LČČ, prosječno 1,8 (1-7 po bolesniku). Citološki suspektni nalazi svrstani su u pozitivne. Od 12 % citološki pozitivnih nalaza 76 % je PH pozitivno – citološki stvarno pozitivni; 87 % metastaza (M), 10 % mikrometastaza (MI) i 3 % izoliranih tumorskih stanica (ITC) i 24 % PH negativno – citološki lažno pozitivni. Od 84 % citološki negativnih nalaza 91 % je PH negativno – citološki stvarno negativni a 9 % PH pozitivno – citološki lažno negativni; 31 % M, 49 % MI i 20 % ITC. Od 4 % citološki suspektni nalaza 66 % je PH negativno – citološki lažno pozitivni a 34 % PH pozitivno – citološki stvarno pozitivni; 48 % M, 43 % MI i 9 % ITC.

Osjetljivost citološke analize je 57,3 %, specifičnost 93 % i točnost 86,5 %.

**Zaključak:** Prednosti IO citološke analize LČČ je brzina obrade uzorka (1,5 min.) i minimalni gubitak materijala, a nedostatak jednoslojnost uzorka što bi mogao biti razlog 9 % lažno negativnih nalaza. 24 % lažno pozitivnih nalaza pripisuje se kontaminaciji pribora ili prisudstvu MI i ITC na samoj reznoj plohi. Osjetljivost i točnost metode slažu se sa literaturnim podacima, a specifičnost je niža za 5,3 % dijelom zbog toga što većina citiranih autora svrstava citološki suspektne nalaze u negativne.

# CITOLOŠKI NALAZ PUNKTATA ŠITINJAČE PREMA BETHESDA KLASIFIKACIJI

## THE BETHESDA SYSTEM FOR REPORTING THYROID CYTOLOGY

**Robert Meandžija, Marija Manestar-Marčelja, Koraljka Rajković-Molek,  
Irena Seili-Bekafigo, Gordana Fumić, Gordana Naglić**

Odjel za opću citologiju, Zavod za kliničku citologiju KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

**Cilj:** Primjena i prikaz Bethesda klasifikacije citoloških nalaza punktata štitnjače koji su pregledani na Odjelu za opću citologiju KBC Rijeka tijekom 2015. godine.

**Materijali i metode:** U istraživanje su uključeni svi punktati štitnjače zaprimljeni na Odjel za opću citologiju KBC Rijeka tijekom 2015. godine. Svi preparati su obojeni standardnom metodom May Grunwaald-Giemsa i pregledani od strane citotehnologa i citologa. U skriningu i konačnom nalazu korištena je Bethesda klasifikacija za citološke punktate štitnjače iz 2007. godine, koja se koristi u SAD-u i većini europskih zemalja u cilju ujednačavanja nalaza prema definiranim kriterijima. Sadrži šest kategorija označenih slovom T (od engl. Thyroid) i brojevima od 1 do 6: T<sub>1</sub> – nedostatno za analizu/ neadekvatan uzorak; T<sub>2</sub> – benigna promjena; T<sub>3</sub> – atipija neodređenog značenja; T<sub>4</sub> – folikularni tumor; T<sub>5</sub> – sumnja na malignitet; T<sub>6</sub> – maligni tumor. Kategorije se temelje na procijenjenom riziku maligniteta i definiranim preporukama za daljnji postupak.

**Rezultati:** Tijekom 2015. godine na Odjelu za opću citologiju KBC Rijeka pregledani su punktati 902 čvora štitnjače kod 861 pacijenta. Distribucija citoloških nalaza prema Bethesda klasifikaciji bila je slijedeća: T<sub>1</sub> – 299 punktata (33,1 %), T<sub>2</sub> – 433 punktata (48 %), T<sub>3</sub> – 102 punktata (11,3 %), T<sub>4</sub> – 55 punktata (6,1 %), T<sub>5</sub> – 6 punktata (0,7 %), T<sub>6</sub> – 7 punktata (0,7 %).

**Zaključak:** Primjena Bethesda klasifikacije omogućuje ujednačavanje terminologije u citološkom nalazu punktata štitnjače i definiranje preporuka za daljnji postupak i praćenje za svaku pojedinu kategoriju. Bethesda klasifikaciju mogu koristiti i citotehnolozi prilikom skrininga punktata štitnjače.

# **AKUTNE LEUKEMIJE NA KLINICI ZA INTERNU MEDICINU KBC-a RIJEKA OD 2004. DO 2013. GODINE**

## **ACUTE LEUKEMIA AT THE CLINIC FOR INTERNAL MEDICINE, CLINICAL HOSPITAL CENTRE – RIJEKA FROM 2004 – 2013**

**<sup>1</sup>Gordana Fumić, <sup>2</sup>Antica Načinović-Duletić, <sup>1</sup>Irena Seili-Bekafigo,**

**<sup>1</sup>Koraljka Rajković-Molek, <sup>1</sup>Robert Meandžija**

<sup>3</sup>Odjel za opću citologiju, Zavod za kliničku citologiju KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

<sup>2</sup>Klinika za internu medicinu KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

**Cilj:** Utvrditi broj i demografske karakteristike pacijenata s dijagnozom akutne leukemije (AL), broj i rezultati izvršenih citokemijskih analiza, imunofenotipizacija protočnom citometrijom, citogenetskih analiza metodom FISH te zastupljenost pojedinih tipova i podtipova AL kod pacijenata koji su primljeni i/ili liječeni na Klinici za internu medicinu KBC-a Rijeka od 2004. do 2013.

**Materijal i metode:** (imunofenotipizacija, FISH analiza i citokemijska analiza): ispitivani su tipovi i podtipovi AL prema citomorfološkoj i citokemijskoj analizi te učinjenim imunofenotipizacijama i FISH analizama.

**Rezultati:** na Klinici za internu medicinu od 2004. do 2013. godine primljeno je i/ili liječeno 160 pacijenata s dijagnozom AL. Prosječan broj AL godišnje je šesnaest. Najviše ih je bilo 2009. god. (21 AL) i 2013. god. (20 AL). Od 160 pacijenata s dijagnozom AL, muškaraca je bilo 86, a žena 74. Prema starosnoj dobi najviše oboljelih od AL je od 61. do 70. godine (42) i od 71. do 80. godine (48). Citokemijskih analiza, od cjelokupnog uzorka, učinjeno je 93 ili 58 %. Citokemijskih analiza ≥ 75 % učinjeno je 2006.; 2007. i 2013. godine.

Na ispitivanom uzorku učinjeno je 50 imunofenotipizacija (38 %), a FISH analiza 24 (15 %).

Od cjelokupnog uzorka akutnih limfatičnih leukemija (ALL) bilo je 19; akutnih mijeloičnih leukemija (AML) 114; granično za AL 8; neodređeni tip AL bilo je 5. Za 14 pacijenata postavljena je dijagnoza samo AL. Od 114 dijagnosticiranih AML-a, utvrđeno da je najzastupljenija AML – M2 ( 35 ), zatim AML – M4 ( 17 ), a AML – M3 ( 14 ). S dijagnozom samo AML bilo je 27 pacijenata. Kod 6 pacijenata nije se moglo utvrditi da li je AML o ili AML 1, da li je AML 1 ili AML 2, da li je AML 4 ili AML 6, te da li je AML 4 ili AML 5.

**Zaključak:** Prosječan broj AL godišnje je 16. Muškarci više oboljevaju nego žene. AL je bolest starije populacije, najčešće iznad 60. godine starosti. AML učestalija je od ALL. Najčešća AML je AML – M2.

# VRIJEDNOST ENDOSKOPSKE RETROGRADNE KOLANGIOPANKREATOGRAFIJE (ERCP) I ULTRAZVUČNO VOĐENE CITOLOŠKE PUNKCIJE (EUS-FNA) U CITOLOŠKOJ DIJAGNOSTIC

## *VALUE OF ENDOSCOPIC RETROGRADE CHOLANGIOPANCREATOGRAPHY (ERCP) AND ULTRASOUND GUIDED FINE NEEDLE ASPIRATION BIOPSY (EUS-FNA) CYTOLOGY IN DIAGNOSTICS*

**<sup>1</sup>Sandra Šlegl, <sup>1</sup>Ivana Miše, <sup>1</sup>Silvija Grbin, <sup>1</sup>Julijana Mandžo, <sup>2</sup>Tajana Pavić, <sup>2</sup>Alen Bišćanin**

<sup>1</sup>Zavod za kliničku citologiju, KBC „Sestre milosrdnice”, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Zavod za gastroenterologiju KBC „Sestre milosrdnice”, Zagreb, Hrvatska

---

**Cilj:** Pokazati važnost ERCP-a i EUS-FNA u citološkoj dijagnostici, odnosno ukazati na važnost uzimanja adekvatnih kao i razliku benignih od malignih uzoraka.

ERCP kombinira endoskopsku i radiološku pretragu žučnih i vodova gušterače, kojom se otkrivaju lezije u istima (kamenci, infekcije, tumori) u cilju dijagnostike odnosno terapije. Citotehničar radi razmaza direktnim razmazivanjem četkice na stakla, isti se fiksiraju sušenjem na zraku i bojaju May-Grunwald-Giemsa (MGG) metodom. EUS koristi kombinaciju endoskopa i ultrazvuka u detekciji karaktera lezije, proširenosti karcinoma gušterače odnosno eventualne infiltracije jetre i/ili gušterače, kroz koji se uvodi igla za citološku punciju. Ultrazvukom vizualizirana lezija se punktira, mandren izvuče van, na vrh stavi šprica (od 20 ml) te promjena ponovo punktira, učine razmazi i dalje standardno tehnički obrađuju, a dio ostavi za dodatne tehnike odnosno mikrobiologiju.

**Materijal i metode:** U dvogodišnjem periodu (2014. i 2015.) u našem laboratoriju obrađeno je 136 ERCP-a i 91 EUS-FNA uzoraka., kategoriziranih u neadekvatne i adekvatne, te suspektne i maligne.

**Rezultati:** Od 136 ERCP-ova 60 ih je bilo adekvatnih (44 %), 3 neadekvatna (0,22 %), 24 suspektna (18 %) i 49 malignih (36 %), a od 91 EUS-a 46 adekvatnih (50 %), 13 neadekvatnih (14 %), 11 suspektnih (12 %) i 21 maligni (23 %).

**Zaključak:** Naš rad pokazuje da citologija dobivenih ERCP-ova, a nešto manje EUS-FNA uzoraka definitivno ima smisla u dijagnostici lezija probavnog odnosno hepatobilijarnog trakta, međutim uvelike je ovisna o dobrom i kvalitetnom uzorkovanju.

# **UPOZNAJTE EUROPEAN ADVISORY COMMITTEE OF CYTOTECHNOLOGY (EACC)**

## **MEET THE EUROPEAN ADVISORY COMMITTEE OF CYTOTECHNOLOGY (EACC)**

**<sup>1</sup>Veronika Anić, <sup>2</sup>Maj Liv Eide**

<sup>1</sup>Zavod za kliničku citologiju i citogenetiku, Klinička bolnica Merkur, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Department of Pathology and Medical Genetics, Trondheim University Hospital, Trondheim, Norway

---

**Cilj:** Predstaviti EACC, prikazati i podsjetiti na prošlost, trenutne aktivnosti te prezentirati težnje za budućnost EACC-a kao krovne organizacije Europskih citotehnoloških društava u kojoj Hrvatska udruga citotehnologa (HUCIT) ima članstvo od 2005. godine.

**Materijal i metode:** U izradi ovoga rada korišteni su dostupni dokumenti koji nam govore o prošlosti EACC-a, pregled stanja u sadašnjosti te planove i želje EACC-a za buduće generacije citotehnologa.

**Rezultati:** EACC je osnovan 1978. godine. Prva sjednica citotehnologa organizirana od strane članova EACC-a pri Europskom citološkom kongresu (ECC) održana je 1985. godine. EACC je uz EFCS sudjelovao u osnivanju i održavanju prvoga Quality Assurance, Training and Examinations committee – QUATE testa. U sadašnjosti EACC ima predstavnike 13 europskih zemalja te osim redovitih godišnjih sastanaka, održavanju sekcije citotehnologa pri svakome Europskom kongresu citologije, EACC radi na promoviranju i poboljšanju sadašnjeg položaja citotehnologa u Europi te stvara plan i program za prilagodbu i unapređenje edukacije citotehnologa za buduće generacije. Obzirom na izmjene s kojima smo svakodnevno suočeni u citodiagnostici uvođenjem novih tehnologija te izmjenama postojećih, smatramo da je izrada novoga programa edukacije od izuzetne važnosti. EACC će u suradnji s EFCS raditi na uvođenju standardiziranih pravila za citotehnološku struku u Europi imajući na umu internacionalne standarde.

**Zaključak:** Budućnost citotehnologa ovisi o promjenama koje treba uvoditi danas. Vjerujemo da će EACC svojim radom omogućiti citotehnolozima da održe svoju ulogu u citomorfološkim strukama. Citopatologija uz nove tehnologije kao profesija, a citotehnolozи kao struka, svojim vještinama i poznavanjem morfologije uz primjenu dodatnih tehnika predstavljaju izuzetno vrijedan profil koji ima svjetlu budućnost.

# **EUROPEAN ADVISORY COMMITTEE OF CYTOTECHNOLOGY (EACC) PREPORUKE ZA OBUKU I OBRAZOVANJE CITOTEHNOLOGA U EUROPI *RECOMMENDATIONS OF THE EUROPEAN ADVISORY COMMITTEE OF CYTOTECHNOLOGY (EACC) FOR TRAINING AND EDUCATION OF CYTOTECHNOLOGISTS IN EUROPE***

**<sup>1</sup>Veronika Anić, <sup>2</sup>Maj Liv Eide**

<sup>1</sup>Zavod za kliničku citologiju i citogenetiku, Klinička bolnica Merkur, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Department of Pathology and Medical Genetics, Trondheim University Hospital, Trondheim, Norway

---

**Cilj:** Neujednačenost i nepostojanje edukacije citotehnologa u Europi bila je osnova za izradu preporuka za obuku i edukaciju citotehnologa u Europi od strane European Advisory Committee of Cytotechnology (EACC).

**Materijal i metode:** Prijašnji radovi i podaci EACC-a i European Federation of Cytology Societies (EFCS) vezani uz izradu smjernica za edukaciju citotehnologa u Europi korišteni su u izradi ovih preporuka.

**Rezultati:** Zbog potrebe harmonizacije i unapređenja postojeće edukacije te kao pomoć i smjernica u izradi programa edukacije iz citotehnologije nacionalnim društvima u zemljama Europe koje još uvijek nemaju ili imaju manjkavu edukaciju citotehnologa, stav EACC-a je da citotehnološka edukacija treba trajati minimum godinu dana organizirana u akreditiranim sveučilištima. Obrazovanje treba osigurati znanja iz ginekološke (u trajanju od 6 mjeseci) i neginekološke citologije (3 mjeseca eksfolijacijska, 3 mjeseca aspiracijska citologija) uz dobro poznавање, razumijevanje i mogućnost primjene dodatnih i novih metoda (citogenetske, molekularne itd.) iz sva tri navedena područja. U edukaciji moraju sudjelovati citopatolozi kao i citotehnolozi s višegodišnjim iskustvom. Obzirom na raznolikost ali i nedostatak Europskih standarda o citotehnološkoj edukaciji, preporuča se nakon završene edukacije pristupanje QUATE (Quality Assurance, Training and Examinations committee) ispitu.

**Zaključak:** Obzirom na promjene u citodijagnostici nastale primjenom novih metoda, program citotehnološke edukacije treba neophodne izmjene i nadopune. EACC smatra da je izuzetno važno da navedene preporuke postanu vodilja u stvaranju budućih edukacijskih programa iz područja citotehnologije.

# **POSTER PREZENTACIJE**

---

## ***POSTER PRESENTATIONS***



# UDRUŽENOST HPV INFEKCIJE I PUŠENJA U RAZVOJU SKVAMOZNE INTAEPITELNE LEZIJE VRATA MATERNICE

1

**1 Jurić Nina, 2Šlaković Majda, 1Delić Taib, 1Smajić Emina, 1Bilalović Sandra**

<sup>1</sup>Poliklinika Sunce Agram, Sarajevo, Bosna i Hercegovina

<sup>2</sup>Zavod za ginekologiju, perinatologiju i neplodnost „Mehmedbašić“, Bosna i Hercegovina

**Cilj:** Rak vrata maternice u 90 % slučajeva nastaje preko predstadija, tzv. preinvazivnih lezija vrata maternice koje se javljaju 10–15 godina ranije, a dijagnosticiraju se citološkom probirnom metodom, Papanicolaouovim testom. Nekoliko kofaktora u suradnji sa HPV-om dodatno povećavaju taj rizik, a oni su: cc-interferoni drugih spolno prenosivih infekcija, pušenje, veći broj poroda, primjena oralnih kontraceptiva, imunodeficijencija, prehrambeni faktori kao što su deficit vitamina C i folne kiseline. Pušenje je udruženo sa povećanim rizikom CIN-a nezavisno od spolne aktivnosti, a visoke razine nikotina i kotinina nađene su u cervikalnoj sluzi što učvršćuje vezu pušenja i CIN-a. Cilj ovog istraživanja je utvrditi udruženost HPV infekcije i navike pušenja u razvoju skvamozne intraepitelne lezije vrata maternice.

**Materijal i metode:** Studija je retrospektivna i obuhvatila je period od 2013. do 2015. godine. Pacijentice kojima je citološki postavljena dijagnoza skvamozne intraepitelne lezije vrata maternice obrađivane su na Poliklinici Sunce–Agram, a potom potvrđene patohistološki, uključene su u ovu studiju. Studijom je obuhvaćeno 186 pacijentica. VCE razmazi su se citološki analizirali kvalitativno i semikvantitativno. Citološku kvalitativnu analizu VCE razmaza mikroskopski prvo je obavljao citotehnolog/citoskriner, a potom ljekar specijalist kliničke citologije. Brisevi za HPV tipizaciju uzimani su sterilnim hermetički zatvorenim epruvetama u kojima je štapić pri kraju bio obmotan vatom. Uzorak je uziman iz egzo- i endocerviksa i uz propratnu dokumentaciju odmah proslijđivan u laboratoriju za molekularnu biologiju. U laboratoriji je rađena dalja izolacija i identifikacija tipova HPV korišćenjem PCR metode.

**Rezultati:** Prosječna starosna dob ispitanica je iznosila  $39,66 \pm 9,31$  godina. Najstarija ispitanica je imala 74 godine, dok je najmlađa ispitanica imala 23 godine. Ustanovljeno je da je najveći broj ispitanica pripadao starosnoj skupini od 30-39 godina (43,5 %), a zatim starosnoj skupini 40-49 godina (31,7 %). Kod ispitanica koje nemaju naviku pušenja nije ustanovljena statistički značajna razlika u stupnju displazije u odnosu na visoko rizični i nisko rizični tip HPV-a ( $\chi^2 = 2,322$ ;  $df = 3$ ;  $p = 0,444$ ). Međutim, ustanovljena je statistički značajna razlika u stupnju displazije u odnosu na visoko rizične i nisko rizične tipove HPV infekcije kod ispitanica koje puše. Ispitanice koje puše i imaju visoko rizični tip HPV-a imaju i veći stupanj displazije,  $\chi^2 = 9,711$ ;  $df = 3$ ;  $p = 0,039$ . Primjenom Pearsonove korelacije nije ustanovljena korelacija između stupnja displazije i pušačkog staža ispitanice.

**Zaključak:** Navika pušenja je bila udružena sa HPV infekcijom u 103 slučaja ili 55,37 % pacijentica. Pušenje je bilo najčešće udružen kofaktor sa HPV infekcijom u razvoju skvamozne intraepitelne lezije. Ustanovljena je statistički značajna razlika u stupnju displazije u odnosu na nisko rizične i visoko rizične tipove HPV infekcije kod ispitanica koje puše. Ispitanice koje puše i imaju visoko rizični tip HPV-a imaju i veći stupanj displazije.

## CITOLOŠKA IDENTIFIKACIJA NEVIRUSNIH UZROČNIKA U SKVAMOZNIM INTRAEPITELNIM LEZIJAMA

### CYTOTOLOGICAL IDENTIFICATION OF NON-VIRAL AGENTS IN SQUAMOUS INTRAEPITHELIAL LESIONS

**Smajić Emina, Bilalović Sandra, Jurić Nina**

Poliklinika Sunce Agram Sarajevo, Sarajevo, Bosna i Hercegovina

**Cilj:** Identificirati učestalost uzročnika nevirusne etiologije kod pacijentica generativne i postmenopausalne dobi s citološkim nalazom skvamozne intraepitelne lezije.

**Materijal i metode:** U ovom radu retrospektivno je analizirano 100 VCE razmaza i mikrobioloških briseva žena u razdoblju od siječnja 2015. do prosinca 2015. godine na Odjelu za kliničku citologiju Poliklinike Sunce Agram. Citološku obradu briseva i identifikaciju nevirusnih uzročnika proveli su citotehnolozi i specijalista kliničke citologije Odjela za citologiju Poliklinike Sunce Agram. Mikrobiološka obrada VCE briseva je rađena u privatnom mikrobiološkom laboratoriju. Pacijentice su podijeljene u dvije skupine. Prvu skupinu je činilo 50 pacijentica u generativnoj dobi, drugu skupinu su činile 50 pacijentica u postmenopauzi.

**Rezultati:** Najveći broj ispitanica generativne dobi je imalo uredan nalaz Papa testa ( $n = 23$ ), zatim ASCUS ( $n = 17$ ). Displaziju CIN I je imalo 7, a CIN II 3 ispitanice. U postmenopausalnoj grupi također je najveći broj ispitanica imalo uredan nalaz ( $n = 14$ ), zatim CIN I 13 i CIN II 12 ispitanica. S nalazom CIN III bile su 3 ispitanice, dok je ASCUS imalo 8 ispitanica. Primjenom hi kvadrat testa ustanovljena je statistički značajna razlika u citološkim nalazima ispitanica ispitivanih skupina,  $\chi^2 = 17,294$ ;  $p = 0,002$ . U vaginalnom brisu ispitanica generativne dobi u 38% slučajeva nađena je *Candida spp.*, a zatim najučestaliji su bili *Gardnarella vaginalis* i *Trichomonas vaginalis* u po 20% slučajeva. Kod ispitanica postmenopausalne grupe također je najučestalija bila *Candida spp.* u 42% slučajeva, a onda *Gardnarella vaginalis* u 38% slučajeva, te *Trichomonas vaginalis* u 16% slučajeva. Primjenom hi kvadrat testa ustanovljena je statički značajna razlika u patološkoj vaginalnoj flori,  $\chi^2 = 3,933$ ;  $p = 0,047$ .

**Zaključak:** Ključni faktori prevencije i kontrole spolno prenosivih infekcija su brza i pouzdana dijagnostika, te brza i efikasna terapija oba partnera sa svrhom eradicacije uzročnika. Na osnovu našeg istraživanja možemo zaključiti da analiza Papa testa omogućava morfološku identifikaciju nevirusnih uzročnika infekcija, što je potvrđeno mikrobiološkom izolacijom navedenih uzročnika.

## JAKA UPALA I DISKARIOZA U VCE OBRISKU *SEVERE INFLAMMATORY CHANGES AND DYSKARYOSIS IN CERVICOVAGINAL SMEAR*

3

Branka Bedrina Jakičić, Ljiljana Stranić

Odjel za kliničku citologiju, OB Pula, Pula, Hrvatska

**Cilj:** Prepoznavanje jakih upala, gdje je bitno iskustvo citotehnologa pomoću kojega će moći razlučiti da li se citomorfološke promjene odnosne na uzročnike koji mogu dati jaku upalnu sliku ili se radi o leziji epitelja, ali je citološka analiza otežana.

**Materijal i metode:** Papa test – osnovni test za cervikalne lezije, koji ponekad može detektirati endometralne, vaginalne i ostale karcinome. Metoda je Papa test obojan po Papanicolau. Preparati su fiksirani metodom tzv. „mokre“ fiksacije gdje se VCE razmaz „vlažan“ odmah uroni u fiksativ (96 % alkohol).

**Rezultati:** U razmazu u kojem je prevladavala jaka upala s Gardnerellom, nakon sanacije upale dijagnosticirano je intraepitelno oštećenje pločastih stanica niskog stupnja. U razmazu s Herpes simpleks virusom nakon terapije dijagnosticirano je intraepitelno oštećenje pločastih stanica visokog stupnja.

**Zaključak:** U razmazima u kojima su reaktivne promjene poput binukleacije, multinukleacije, kariopiknoze, kariorekse, hiperkeratoze, parakeratoze bile naročito izražene da su čak upućivale na diskariozu cervikalnim brisom dokazano je da se radi o Ureaplasmi. U određenom postotku razmaza gdje je dijagnosticirana jaka upala u slijedećem kontrolnom papa testu dijagnosticirana je lezija epitela.

## PRVI CIKLUS NACIONALNOG PREVENTIVNOG PROGRAMA RANOG OTKRIVANJA RAKA VRATA MATERNICE – ISKUSTVO KB MERKUR-a

4

Ines Krivak Bolanča, Karmela Šentija, Suzana Katalenić Simon

Odjel za ginekološku citologiju, Zavod za kliničku citologiju i citogenetiku, KB Merkur, Zagreb, Hrvatska

Odjel za ginekološku citologiju Zavoda je uključen u Nacionalni preventivni program ranog otkrivanja raka vrata maternice. Odjel zaprima poslane uzorke iz deset ugovornih ordinacija primarne zdravstvene zaštite žena. U periodu od studenog 2012. do kraja 2015. g. je zaprimljeno ukupno 3771 VCE razmaza. U analizi je sudjelovalo 4 citotehnologa i 3 liječnika specijaliste citologa.

Tijekom prve godine trajanja probira zaprimljeno je ukupno 994 razmaza od 20.557, što čini 4,8 % ukupnih Papa pretraga Odjela, tijekom druge godine je zaprimljeno 822 od 18.552 razmaza (4,4 %), a u posljednjoj godini perioda je zabilježeno povećanje broja razmaza na 9,57 % (1.964 od 20.522).

Ukupno je bilo 596 abnormalnih nalaza (15,8 %) [7,9 < 15, 8 < 20,5] među kojima su najčešće bili zastupljeni ASCUS (51,1 %), atipična metaplazija 4,3 %, LSIL u 31,8 % te HSIL-a (6 %). Ukupno je bilo (498/3771) 13,2 % nezadovoljavajućih (114) i suboptimalnih uzoraka (383), a citološku dijagnozu nije bilo moguće postaviti u 6/498 slučajeva (1,2 %).

Razlozi svih nezadovoljavajućih uzoraka se mogu podijeliti u tri skupine: faktori u laboratoriju (0,2 %) uslijed lošeg bojenja i obrade preparata; faktori pacijenta (0,8 %) npr. zbog dolaska u vrijeme ili neposredno iza mensisa, stavljanje vaginaleta i sl. Najzastupljeniji razlozi su bili faktori uzimanja (47,7 %), dakle faktori na koje direktno mogu utjecati ginekolozи tijekom uzimanja i/ili fiksiranja uzorka. Najčešći je razlog tome bilo loše uzimanje i oskudan materijal te nedostatak endocervikalnih stanica.

**Zaključak:** Dobiveni rezultati prvog ciklusa su detektirali probleme koji utječu na rezultate, uzroke nezadovoljavajućih i suboptimalnih uzoraka te razlike u broju dijagnosticiranih abnormalnosti među sudionicima analize. Istovremeno mogu poslužiti kao smjernice u rješavanju problema i kao osnova analize i kontrole kvalitete rada.

# PODUDARNOST NALAZA CITOTEHNOLOGA I CITOLOGA U OKVIRU PREVENTIVNOG PROGRAMA RANO OTKRIVANJA RAKA VRATA MATERNICE

## THE CONCORDANCE OF THE CYTOTECHNOLOGISTS CYTOLOGICAL RESULTS AND THE FINAL DIAGNOSIS BY CYTOLOGISTS IN THE NATIONAL SCREENING PROGRAM FOR EARLY DETECTION OF CERVICAL CANCER

**V. Švencbir Popovski, Lj. Gavranović, S. Rakek Novak, M. Baburić, K. Šentija,  
S. Katalenić Simon, I. Krivak Bolanča**

Odjel za ginekološku citologiju, Zavod za kliničku citologiju i citogenetiku, KB Merkur, Zagreb, Hrvatska

**5**

**Cilj:** Usvojiti podudarnosti nalaza Papa testova pregledanih od citoteknologa i potvrđenih od strane citologa u okviru preventivnog programa ranog otkrivanja raka vrata maternice.

**Materijali i metode:** Primaljeno je i obrađeno 3771 VCE razmaza dostavljenih iz suradnih ordinacija primarne zdravstvene zaštite u periodu od 2013. do 2015. g. od kojih su citoteknologozi pregledali 3188 razmaza.

**Rezultati:** Od ukupnog broja citoloških VCE razmaza koje su citoteknologozi pregledali zabilježeno je najviše urednih nalaza 77,5 % (2470/3188). Ukupna podudarnost među nalazima citoteknologa i liječnika je bila 92,2 %. Prema stupnju abnormalnosti po modificiranoj Bethesda klasifikaciji Zagreb 2002. uzorci su podjeljeni u kategorije: ASCUS, atipična metaplazija, ASC-H, CIN I, CIN II, CIN III, CIS, AGC i karcinom. Među abnormalnim nalazima u potpunosti je bilo slaganje u dijagnozama CIS-a (4/4) i karcinoma (1/1), dok je u ostalim dijagnozama podudarnost padala prema kategorijama slabijih promjena. Tako da je najmanja podudarnost citoloških VCE razmaza (25 %) bila u kategoriji atipične metaplazije 59,5 % (25/42). Neslaganje je bilo izraženije kod promjena cilindričnog epitela, osobito u kategoriji AGC – vjerojatno intraepitelna lezija, ali nije bilo velikog uzorka u toj kategoriji.

Od sveukupnog broja pregledanih nalaza 0,19 % (N = 6/3188) nije zadovoljavalo za analizu, te ih je bilo potrebno ponoviti.

**Zaključak:** Najveća razlika u nalazima je bila u kategorijama ASCUS-a i AGC-a, u prvom redu zbog nedostatka jasnih citoloških kriterija u razlikovanju cilindričnih abnormalnosti, zatim zbog subjektivnosti procjene, ali i zbog poteškoća u razlikovanju reaktivnih od onkoloških promjena.

## DIJAGNOSTIČKI ZNAČAJ DUALNOG BOJANJA – PRVA ISKUSTVA

6

Suzana Katalenić Simon, Ines Krivak Bolanča, Karmela Šentija

Odjel za ginekološku citologiju, Zavod za kliničku citologiju i citogenetiku, KB Merkur, Zagreb, Hrvatska

**Cilj** rada je prikazati dijagnostički značaj rezultata dualnog bojenja u korelaciji s citološkim nalazima i dvojbenim citološkim dijagnozama.

**Materijal i metode:** prikazan je rezultat dualnog bojenjana CINecPLUS setom (Roche laboratories, Heidelberg, Germany) na 103 uzoraka uz izdvajanje onih slučajeva kod kojih je uporaba dualnog bojenja koristila u korekciji citološke dijagnoze te usmjerenuju dalnjih dijagnostičkih postupaka.

**Rezultati:** na prikupljenim uzorcima od 103 pacijentica, učinilo se imunocitokemijsko bojanje. Od ukupnog broja pacijntica, 42 pacijentice (40,7 %) su tipizirane na visoko onkogenu grupu virusa (Cobas HPV test, Roche), 37 HPV HR+ (88 %). Nađena je očekivana povezanost dualnog bojanja, infekcije s visoko onkogenim tipovima virusa i povezanost s težom citološkom dijagnozom (kod dg LSIL; 14 je HPV+ i 13 CINTecPLUS pozitivno; kod dg. HSIL; 9 pacijentica je HPV+ i CINTecPLUS pozitivno). U skupini od 12 pacijentica nakon učinjene punch biopsije ili Letz-a na kontrolnim obriscima triju pacijentica sumnjalo se na postojanje rezidualne lezije nakon imunobojanja (3 CINecPLUS +), koje su i dokazane patohistološkom verifikacijom. Kod dviju pacijentica je nakon postavljenje citološke dijagnoze i imunocitokemijskog bojenja korigirana citološka dijagnoza u težu leziju a ujedno je i tipizacija HPV bila pozitivna. Nadalje, uporaba imunobojenja je pomogla u diferencijalnoj dijagnostici HSIL-a kod postmenopauzalnih žena, zbog morfoloških sličnosti s histiocitarnim stanicama ili u slučajevima na recidiv neoplastičnog procesa kod postradijacijskih promjena. Dijagnostička funkcija imunobojenja je iskazana i u diferenciranju promjena na cilindričnim endocervikalnim stanicama, razlučivši atipične-vjerovatno reaktivne promjene od vjerovatno glandularnih intraepitelnih lezija.

**Zaključak:** uporaba imunocitokemijskog bojenja korisna nam je kako u postavljanju ispravne citološke dijagnoze, tako i u diferencijalnoj dijagnostici procesa koji se teže morfološki razlučuju, a time nam pomaže i u usmjeravanju dalnjih dijagnostičkih postupaka.

## P16/KI-67 DUAL STAIN AND HPV 16 GENOTYPE IN THE PREDICTION OF HSIL+ OUTCOME OF WOMEN WITH ABNORMAL CERVICAL CYTOLOGY

**7** <sup>1</sup>Danijela Vrdoljak-Mozetić, <sup>1</sup>Damjana Verša Ostojić, <sup>1</sup>Snježana Štemberger-Papić,

<sup>1</sup>Roberta Rubeša-Mihaljević, <sup>1</sup>Morana Dinter, <sup>2</sup>Alemka Brnčić-Fischer,

<sup>3</sup>Maja Krašević

<sup>1</sup>Department of Clinical Cytology, Clinical Hospital Centre Rijeka, Rijeka, Croatia

<sup>2</sup>Department of Gynaecology and obstetrics, Clinical Hospital Centre Rijeka, Rijeka, Croatia

<sup>3</sup>Department of Pathology, School of Medicine, University of Rijeka, Rijeka, Croatia

**Objective:** Cytological abnormalities found in Pap test are frequent findings with uncertain clinical outcome. To distinguish patients with cytological changes that require treatment from spontaneously resolving disease additional analyses could be performed. We evaluated the association of p16/Ki-67 dual stain, HPV 16 genotype and cytomorphology in the prediction of the clinical outcome.

**Methods:** Patients (N = 276) were selected from women referred to colposcopy with cytology diagnosis of ASCUS (N = 98), LSIL (N = 87) and HSIL-favour CIN2 (N = 91), all high risk HPV DNA positive. A reprocessed cytology slides was stained using the p16/Ki-67 dual stain cytology kit (CINtecPLUS, Roche, Switzerland) and HPV genotyping assay was performed (InnoLipa, Innogenetics, Belgium). Patients with at least two consecutive negative Pap smears, ASCUS or LSIL on follow up and negative or CIN1 histology were recorded as negative outcome. Positive outcome was considered a histologically proven diagnosis of HSIL or higher (HSIL+). Logistic regression model was used to evaluate analysed variables.

**Results:** The strongest predictor was p16/Ki-67 dual stain. When found positive it showed almost six time higher probability of HSIL+ outcome (OR = 5.71, 95 % CI = 2.54-12.82, P < < 0.001). HPV 16 genotype presence was connected with almost three time (OR = 2.86, 95 % CI = 1.38-5.93, P = 0.005) and cytology diagnosis for two time (OR = 1.95, 95 % CI = 1.31-2.90, P < 0.001) higher probability for HSIL+ outcome. Finding of macrocytosis and immature metaplasia were predictors of negative clinical outcome (macrocytosis: OR = 0.57, 95 % CI = 0.34-0.95, P = 0.03; immature metaplasia: OR = 0.56, 95 % CI = 0.32-0.97, P = 0.04).

**Conclusion:** p16/Ki-67 dual stain showed to be the strongest predictor of the clinical outcome compared to HPV 16 genotype presence and cytological diagnosis of ASCUS, LSIL and HSIL-favour CIN2. p16/Ki-67 dual stain could be used in the management of patients with abnormal cytology prior to colposcopy referral.

## ASC-H AND P16/KI-67 DUAL-STAINING: OUR EXPERIENCES

8

Nina Irgel, Simona Šramek Zatler, Alenka Repše Fokter

Department of pathology and cytology, Celje General Hospital, Celje, Slovenia

**Objective:** Smears with cytological diagnosis of atypical squamous cells, cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion include cases with atypical squamous cells that exhibit some features suggestive of but not sufficient to call HSIL. The purpose of our study was to assess whether p16/Ki-67 dual-stained cytology can provide high sensitivity for CIN2+ in screening while maintaining high specificity in smears with cytological diagnosis of ASC-H.

**Material and methods:** We evaluated the outcome of Pap smears diagnosed as ASC-H, obtained from the women attending the organized cervical cancer screening program in 2012. The cytologic diagnoses were compared with biopsy results and/or cytologic follow-up for at least one year. The outcome was defined as clinically significant at the threshold of CIN2+. Retrospectively we performed p16/Ki-67 dual staining on conventional Papanicolaou stained smears with ASC-H diagnosis.

**Results:** Among 38,689 consecutive Pap smears 139 (0,36 %) were interpreted as ASC-H during the study period. 22 patients had no follow-up data, leaving 117 cases in the study group. The rate of histologically proven high grade cervical lesions (CIN2 and CIN3) was 51 % (60/117). CIN1 was diagnosed in 22 patients (19 %) and normal histology or negative follow-up was found in 35 patients (30 %). Additionally performed p16/Ki-67 dual staining was positive 55 out of 60 (92 %) histologically proven high grade cervical lesions and in 7 out of 22 (32 %) with histological diagnosis of CIN1.

**Conclusion:** A substantial subset of patients with ASC-H interpretations is associated with an appreciable risk of clinically significant cervical neoplasia. Dual-stained test for presence of cervical epithelial cells coexpressing the p16/Ki-67 biomarkers may be an additional tool in cervical cancer screening with higher sensitivity and specificity.

## **ASC-H CITOLOGIJA – PRAĆENJE I KLINIČKI ISHOD ASC-H CYTOLOGY – FOLLOW UP AND CLINICAL OUTCOME**

**9**

**Danijela Baždarić, Iva Matić, Danijela Vrdoljak-Mozetič, Damjana Verša Ostojić,  
Snježana Štemberger-Papić**

Zavod za kliničku citologiju, Klinički bolnički centar Rijeka, Rijeka, Hrvatska

---

**Cilj:** ASC-H se smatra ozbiljnom citološkom dijagnozom koja zahtijeva obradu. Cilj rada je utvrditi značaj ASC-H citološke dijagnoze analizom kontrolnih citoloških i histoloških nalaza po postavljenoj dijagnozi, te rezultata HR HPV DNA i p16/Ki67 imunocitokemijskog testiranja.

**Materijali i metode:** Obradili smo Papa testove kojima je u periodu od siječnja do lipnja 2013. godine postavljena ASC-H dijagnoza. U studiju smo uključili rezultate HR HPV DNA (HC2, Qiagen, Germany) testiranja i p16/Ki-67 (CINTEC PLUS, Roche, Switzerland) imunocitokemijskog bojenja. Praćeni su kontrolni citološki i histološki nalazi. Utvrđili smo 2 klinički značajna ishoda: negativan i HSIL+.

**Rezultati:** Od ukupno 167 ASC-H dijagnosticiranih PAPA testova 126 je analizirano HR HPV DNA testom i 80,16 % je imalo pozitivan rezultat. p16/Ki67 test rađen je kod 37 uzoraka, od čega je 89,19 % bilo pozitivno. U 55 % slučajeva bili su poznati histološki rezultati. Od toga, u 69 % slučajeva histološka dijagnoza je bila HSIL+ uključujući i jedan karcinom pločastog epitela. HSIL+ nalazi su zabilježeni u 77 % od HR HPV pozitivnih slučajeva te u jednom od pet negativnih. U 66 % uzoraka koji su bili p16/Ki67 pozitivni zabilježena je dijagnoza HSIL+, te nijedna dijagnoza HSIL+ kod p16/Ki-67 negativnih uzoraka.

**Zaključak:** Kod više od dvije trećine slučajeva citološke ASC-H dijagnoze, uz pozitivan HR HPV DNA test dijagnosticiran je HSIL+. Negativni rezultat p16/Ki67 imunocitokemijskog bojenja kod ASC-H citologije pokazao se kao vrijedan negativni prediktivni faktor za dijagnozu HSIL+ lezije.

## RECOGNITION OF ATYPICAL ENDOMETRIAL CELLS IN PAP SMEARS

10

L. Salobir, S. Šramek Zatler, A. Repše Fokter

General Hospital Celje, Celje, Slovenia

**Objectives:** To find out the number of Pap smears with atypical endometrial cells in our laboratory and analyse them (cytologic diagnosis, reason for obtain, age of a women and histologic follow up).

**Methods:** The computerized database of our laboratory was searched for Pap smears with normal "out-of-phase" EMC in women aged 40 years or older (nEMC), atypical EMC (aEMC) regardless of age and smears with neoplastic EMC in the period from January 2008 to december 2015. We also searched for histologic follow-up of these women.

**Results:** 124 (0,04 %) out of 321,292 smears were included. The most common cytologic diagnosis was aEMC (41/124), nEMC (40/124) and neoplastic EMC (18/124). 66 % of Pap smears were obtained from the women attending regular gynecological exam in the organized cervical screening program, 26 % of them had Pap smear obtained after treatment and 8 % of them had other reasons. Most of the patients (76/124) were in the age group from 51 to 70 years. Histologic examination was performed in 65 patients. All patients without histologic examination (59) had a negative cytologic follow up. Endometrial carcinoma was diagnosed in 4 (13 %), 9 (30 %), 13 (44 %) and 4 (13 %) of cases with cytologic diagnosis of normal EMC, atypical EMC, atypical EMC, favor neoplastic and endometrial carcinoma, respectively. 17 (57 %) out of 30 endometrial adenocarcinoma cases were asymptomatic at the time of cytologic examination.

**Conclusions:** Endometrial cells, especially atypical are not frequent finding in Pap smears, however, they are associated with greater risk of clinically significant endometrial disease and these patients should be followed closely.

## KADA POSUMNJATI NA KARCINOM ENDOMETRIJA – PRIKAZ SLUČAJA

11

**1 Karmela Šentija, 1 Ines Krivak Bolanča, 1 Suzana Katalenić Simon, 2,3 Anita Škrtić**

<sup>1</sup>Zavod za kliničku citologiju i citogenetiku, Odjel za ginekološku citologiju, KB Merkur, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Klinički zavod za patologiju i citologiju, KB Merkur, Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup>Zavod za patologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

Mnogi autori u svojim istraživanjima pokušali su kvantificirati i utvrditi prediktivnu vrijednost nalaza histiocitarnih stanica u VCE razmazima.

**Cilj rada:** prikazali smo dijagnostički značaj nalaza histiocitarnih stanica kod simptomatske bolesnice bez jasnih morfoloških znakova maligniteta u VCE razmazu.

**Materijal i metode:** prikazan je slučaj bolesnice u postmenopauzi koja dolazi na kliniku radi oskudnog vaginalnog krvarenja. Kliničkim pregledom nalazi se vodenasti iscjadak u rodnici, polip veličine zrna riže. Vaginalni ultrazvuk pokazuje zadebljan endometrij 14 mm, endometralni polip 30x15mm. Prilikom dolaska uzima se VCE razmaz.

**Rezultati:** Dobiveni uzorak na zadovoljava kriterije za morfološku analizu, ali je učinjena procjena abnormalnosti. Materijal je oskudan pločastim stanicama, nalazi se tek nešto stanica s prisutnom vrlo dobrom estrogenom stimulacijom i izrazitom piknozom jezgara. Na vodenastoj podlozi nalazi se obilje upalnih stanica te dosta pojedinačnih i manjih nakupina mononuklearnih histiocitarnih stanica ovalnih, okruglastih ili bubrežastih jezgara, obilnije svijetle, vakuolizirane i pjenušave citoplazme. Morfološki se ne mogu isključiti i reaktivno promijenjene stanice strome. U dobivenom uzorku endometralne stanice nisu nađene, ali se nisu mogle sa sigurnošću isključiti. Iako je uzorak ocijenjen kao negativan na intraepitelnu leziju, preporučila se daljnja obrada, frakcionirana kiretaža i patohistološka analiza. Slijedila je ablacija polipa i frakcionirana kiretaža. Patohistološkom analizom postavljena je dijagnoza karcinoma endometralnog porijekla.

**Zaključak:** Iako Bethesda sustav ne navodi histocitarne i stromalne stanice u patologiji endometrija, njihovo prisustvo u VCE razmazu uz prisutne kliničke simptome i estrogenu stimulaciju može biti pokazatelj malignog procesa endometrija te je potrebno indicirati daljnju dijagnostičku obradu.

## PRIMJENA DIREKTNE ENDOMETRALNE *BRUSH* CITOLOGIJE U DETEKCIJI PREMALIGNIH I MALIGNIH LEZIJA ENDOMETRIJA

**<sup>1</sup>Ivana Đaković, <sup>1,2</sup>Valerija Miličić, <sup>1</sup>Tea Zelić, <sup>3</sup>Ivana Prvulović, <sup>4</sup>Iva Mardešić,**

**<sup>1</sup>Vjenceslav Martinek, <sup>1</sup>Ivona Dubravac**

<sup>1</sup>Medicinski fakultet, Sveučilište u Osijeku, Osijek, Hrvatska

<sup>2</sup>Klinički zavod za kliničku citologiju, Klinički bolnički centar Osijek, Osijek, Hrvatska

<sup>3</sup>Odjel za patologiju i citologiju, OB J. Benčević, Slavonski Brod, Hrvatska

<sup>4</sup>Odjel za patologiju i citologiju, OB Vinkovci, Vinkovci, Hrvatska

**12**

**Cilj:** Procijeniti dijagnostičku vrijednost direktne endometralne *brush* citologije u detekciji premalignih i malignih lezija endometrija.

**Materijal i metode:** Retrospektivnom su studijom obuhvaćene ispitanice u kojih je na Kliničkom zavodu za kliničku citologiju KBC Osijek u razdoblju od 2002. do kraja 2015. godine izvršen citološki pregled endometralnog *brush* razmaza, uz uvjet da su u vremenskom intervalu od najduže 6 mjeseci nakon citološke dijagnoze imale i patohistološku verifikaciju. Studijom su obuhvaćene i ispitanice s urednim citološkim nalazom koje nisu imale patohistološku verifikaciju citološkog nalaza, a praćene su najmanje tri godine klinički i ultrazvučno. Isključni kriteriji bili su neadekvatni nalazi. Citološke dijagnoze su podijeljene u četiri kategorije: benigno, hiperplazija, hiperplazija s atipijama te suspektna/maligna lezija. Histološki nalazi učinjeni su na Zavodu za patološku anatomiju i sudsku medicinu KBC Osijek. Patohistološka je dijagnoza postavljena na kiretmanu ili reseksijskom materijalu. Težina promjene određena je u skladu s trenutno važećom WHO klasifikacijom.

**Rezultati:** Osjetljivost endometralne *brush* citologije za maligne lezije iznosi 70,8 %, a izuzetno je niska za hiperplazije s atipijama (42,8 %). Specifičnost je visoka za benigne (94,0 %) i maligne lezije (99,2 %), a najniža za hiperplazije (76,5 %). Pozitivna prediktivna vrijednost, kao najbolji pokazatelj dijagnostičke vrijednosti diferencijalne citologije, iznosi za benigne nalaze 98,3 %, hiperplazije 17,1 %, hiperplazije s atipijama 8,6 % te za maligne lezije 89,5 %.

**Zaključak:** Endometralna *brush* citologija pouzdana je dijagnostička metoda za diferenciranje benignih od malignih lezija endometrija, a njezina primjena može umanjiti potrebu za drugim invazivnijim i skupljim dijagnostičkim zahvatima.

## USPOREDBA KSILOLA I *TISSUE-CLEAR* OTOPINE U POSTUPKU PAPANICOLAOU BOJANJA

### *COMPARISON XYLOL VERSUS TISSUE-CLEAR SOLUTION WITH THE STANDARD PAPANICOLAOU STAIN*

13

Orhideja Deduš, Kornelija Knez, Leila Perković, Dunja Ivanović, Nives Ljubić,  
Mirna Sučić

Zavod za patologiju i citologiju, KB "Sveti Duh", Zagreb, Hrvatska

**Cilj:** Usپoredба kvalitete citoloških preparata sedimenta aspirata obojenih po standardnoj Papanicolaou metodi na dva načina: kada se koristi ksilol ili *Tissue-Clear* otopina. *Tissue-Clear* otopina je mješavina ugljikovodika i zamjena je za ksilen u histologiji u postupku deparafinizacije i bojanja. *Tissue-Clear* manje isparava nego ksilol, pa kada se koristi, miris radnog okoliša u laboratoriju je ugodniji i rizik za zdravlje je manji.

**Materijal i metode:** Analizirali su se aspirati 29 bolesnika nakon standardnog Papanicolaou bojenja na dva načina, kada se koristi ksilol i kada se koristi *Tissue-Clear* otopina. Kvaliteta preparata ocjenjena je brojevima od 1 do 3 (1 – slaba kvaliteta; 2 – srednja kvaliteta i 3 – vrlo dobra kvaliteta preparata bez zamućenosti citološkog uzorka pa se stanice mikroskopski mogu dobro analizirati).

**Rezultati:** Sedimenti 29 aspirata obojeni su na dva načina. Analizu Papanicolaou metodom provodilo je 6 promatrača. Prosječna ocjena svih promatrača za kvalitetu preparata s ksilolom bila je 3 te 2 za kvalitetu preparata s *Tissue-Clear* otopinom, a razlika u ocjenjivanju bila je statistički značajna ( $p < 0,01$ ). Svaki od 6 promatrača dao je prosječnu ocjenu 3 za kvalitetu prparata obrađenih s ksilolom. Dok su tri ispitivača dala prosječnu ocjenu 2, a tri ispitivača prosječnu ocjenu 3 za kvalitetu preparata obrađenih s otopinom *Tissue-Clear*.

**Zaključak:** Prema ocjeni 6 ispitivača, prosječna ocjena kvalitete preparata sa ksilolom bila je bolja. Međutim, kako je mikrookoliš laboratorija zdraviji i ugodniji kada se koristi *Tissue-Clear*, bilo bi vrijedno pokušati modificirati postupke Papanicolaou bojenja s otopinom *Tissue-Clear* kako bi se mikroskopskom analizom preparati poboljšali i postali jednako kvalitetni kao preparati obrađeni s ksilolom.

## ROLE OF CYTOMORPHOLOGY ALONE IN SUBTYPING OF LUNG CARCINOMA IN PAIRED CYTOLOGY/BIOPSY BRONCHOSCOPIC SAMPLES

<sup>1</sup>Smojver-Ježek S, <sup>1</sup>Vrabec Branica B, <sup>1</sup>Juroš Z, <sup>2</sup>Roglić M, <sup>2</sup>Jakopović M,  
<sup>3</sup>Pleština S, <sup>2</sup>Kukulj S, <sup>4</sup>Alerić I, <sup>2</sup>Čučević B, <sup>1</sup>Seiwerth S, <sup>2</sup>Samaržija M.

14

<sup>1</sup> Department of Pathology and Cytology, University Hospital Center Zagreb, School of Medicine, University of Zagreb, Zagreb, Croatia

<sup>2</sup> Department for Respiratory Diseases Jordanovac, University Hospital Center Zagreb, School of Medicine, University of Zagreb, Zagreb, Croatia

<sup>3</sup> Department for Respiratory Diseases Jordanovac, University Hospital Center Zagreb, School of Medicine, University of Rijeka, Rijeka, Croatia

<sup>4</sup> Department for Respiratory Diseases Jordanovac, University Hospital Center Zagreb, School of Medicine, University of Osijek, Osijek, Croatia

**Objective:** New lung carcinoma classification IASLC/ATS/ERS 2011. proposed parallel reviewing of paired cytology and biopsy specimens, to improve diagnostic accuracy.

Aim of the study is to establish value of cytomorphologic criteria alone in correct diagnosis and subtyping of lung carcinomas in paired cytology/biopsy bronchoscopic samples in our institution.

**Materials and methods:** Medical records and original cytological and histopathological reports of 892 patients with paired bronchoscopic samples from January to December 2015 have been reviewed. Cytological imprints of bronchoscopic biopsy have been routinely used in our institution. In the study were included 345 patients with cytomorphological diagnosis of carcinoma without use of ICK and histological diagnosis of carcinoma with/without use of IHK in paired samples.

**Results:** Among 345 paired samples cytomorphology/histology overall agreement was 89.38 % for major carcinoma subtypes: squamous 93.83 %; adenocarcinoma 81.32 %; small cell 91.67 %; mixed neuroendocrine 85.7 %. In cytology group of squamous carcinoma, IHK has been performed in 54.32 % of paired histology for correct subtyping; in cytology group of adenocarcinoma, IHK has been performed in 78.02 %; in group of small cell cytology IHK has been performed in 97.22 %. In 22.32 % (77) samples cytological diagnosis was NSCLC NOS and in 1.45 % (5) only carcinoma. In 10.99 % of cytology group of adenocarcinoma, histopathological diagnosis was squamous carcinoma after IHK use. After histology with IHK in cytology groups of NSCLC-NOS and carcinoma, in 5.80 % (20/345) further histological subtyping was not possible.

**Conclusion:** Cytomorphology alone is still crucial for subtyping of lung carcinomas.

## TKI-S IN SECOND LINE TREATMENT OF PATIENTS WITH ADVANCED EGFR MUTATION POSITIVE NSCLC

**<sup>1</sup>Pleština S, <sup>2</sup>Smojver-Ježek S, <sup>3</sup>Brčić L, <sup>4</sup>Seiwerth S, <sup>5</sup>Jakopović M, <sup>5</sup>Samaržija M**

**15**

<sup>1</sup>Department for Respiratory Diseases Jordanovac, UHC Zagreb, School of Medicine, University of Rijeka, Croatia

<sup>2</sup>Department od Pathology and Cytology, Division of Pulmonary Cytology, UHC Zagreb, School of Medicine, University of Zagreb, Croatia

<sup>3</sup>Institute of Pathology, Medical University of Graz, Austria

<sup>4</sup>Department od Pathology and Cytology, UHC Zagreb, School of Medicine, University of Zagreb, Croatia

<sup>5</sup>Department for Respiratory Diseases Jordanovac, UHC Zagreb, School of Medicine, University of Zagreb, Croatia

**Objective:** According to the Croatian Health Insurance guidelines EGFR-TKI therapy is indicated in the second line treatment in patients with advanced EGFR+ NSCLC. Various cytological samples are suitable for EGFR mutation analysis. Multiple trials have demonstrated improvement in RR, QoL and mPFS with first-line EGFR-TKI therapy compared with standard platinum-doublet chemotherapy. In this population of patients one in five never receive EGFR-TKI despite planning of giving TKI therapy later in the course of treatment.

**Material and methods:** A retrospective analysis was done on 89 patients with advanced EGFR+ NSCLC in Department for Respiratory Diseases Jordanovac, UHC Zagreb between July 2012 and October 2015. Mutations were detected (RT-PCR, Cobas) mostly in MGG stained, uncovered cytological smears (aspirates, bronchial brushes, pleural effusions, FNAs) during reflex testing.

**Results:** From a total of 89 EGFR+ NSCLC patients 7 % received TKI in first line treatment, 47 % patients in the second line, and 26 % were treated with erlotinib in the third line. The remaining 18 patients (20 %) have never received any TKI in any line during oncology treatment.

**Conclusion:** Despite of known mutation status 20 % patients with advanced EGFR+ NSCLC in our department never received TKI in oncological treatment. which is consistent with the results of leading clinical trials.

## THE VALUE OF TRANSBRONCHIAL NEEDLE ASPIRATION CYTOLOGY IN THE DIAGNOSIS OF SARCOIDOSIS

16

<sup>1</sup>**Željka Tatomirović, <sup>1</sup>Vesna Škuletić, <sup>1</sup>Dragana Peković, <sup>1</sup>Saša Ristić,  
<sup>2</sup>Vukoica Karličić**

<sup>1</sup>Institute of Pathology and Forensic Medicine, Military Medical Academy, Belgrade, Serbia

<sup>2</sup>Clinic for Pulmonary Disease, Military Medical Academy, Belgrade, Serbia

**The aim** of this study is to assess the contribution of conventional transbronchial needle aspiration (TBNA) cytology in the diagnosis of sarcoidosis presenting as mediastinal/hilar lymphadenopathy.

**Methods:** In this retrospective study, 58 patients with suspicion of stage I and II sarcoidosis underwent first flexible, and then, a rigid bronchoscopy, during which TBNA mediastinal or hilar lymph node with 19G needle was done. Material from the needle was exfoliated on glass slide and prepared for the cytological and pathohistological examination.

**Results:** Out of 58 patients submitted to TBNA of mediastinal or hilar lymph nodes, adequate material for cytological diagnostics was obtained in 53 (91.37 %). Out of 53 adequate cytological samples, in 38 (71.69 %) noncaseous granulomatous inflammation (NGI) was found, while in corresponding pathohistological samples, NGI was found in 48 (90.56 %), which was significantly higher ( $p < 0.05$ ). In cytological smears, out of the cell types typical for granulomatous inflammation, in 26 (63.15 %) patients the clusters of the epithelioid cells were found, in 8 (21.05 %) there were the both, clusters of the epithelioid cells and giant multinuclear histiocytes, and in 6 (15.76 %), only single scattered epithelioid cells or small clusters of several epithelioid cells were found. Sensitivity of TBNA cytology in our group of patients with sarcoidosis was 76 %, specificity 100 % and accuracy 77.34 %.

**Conclusion:** TBNA is efficient and secure procedure in the diagnosis of sarcoidosis, minimally invasive and with a little risk from complications. Using 19G needle enables obtaining material for histological and cytological analyses as well which contribute the sensitivity of diagnostic of sarcoidosis.

# ULOGA CITOLOGIJE U DIJAGNOSTICI ADENOKARCINOMA U PLEURALNIM IZLJEVIMA

## THE ROLE OF CYTOLOGY IN THE DIAGNOSIS ADENOCARCINOMA IN PLEURAL EFFUSION

**1Željka Kušen, 2Veljko Flego, 1Christophe Štemberger, 1Zvjezdana Risteska**

**1** Zavod za kliničku citologiju, KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

**2** Zavod za pulmologiju, Klinika za internu medicinu, KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

**Cilj:** Pleuralni izljev je nakupljanje tekućine u pleuralnom prostoru, kao posljedica bolesti pleure, pluća ili drugih udaljenih organa. Cilj istraživanja provedenog za potrebe ovog rada bio je istražiti ulogu citologije u dijagnostici adenokarcinoma u pleuralnim izljevima.

**Materijal i metode:** Istraživanje je provedeno na Zavodu za pulmologiju Klinike za internu medicinu KBC Rijeka. Podatci su prikupljeni koristeći medicinsku dokumentaciju spomenutog zavoda, te Zavoda za kliničku citologiju KBC Rijeka, lokalitet Sušak. Obrađeni su podatci 577 pacijenata kojima je učinjena pleuralna punkcija tijekom 2012. i 2013. godine. Tekući uzorci pleuralnih izljeva naneseni su na obilježeno predmetno staklo, te su centrifugirani u citocentrifugu 3 minute na 800 okretaja u minuti. Sushi preparati su obojani po May-Grünwald-Giemsa, te analizirani pod svjetlosnim mikroskopom.

**Rezultati:** Prikupljeni podatci stavljeni su u proračunsku tablicu i statistički analizirani. Rezultati su pokazali da se najviše ispitanika našlo u dobroj skupini između 71. i 80. godine života, od kojih je 59 % muškaraca i 41 % žena. Maligne stanice adenokarcinoma u izljevu su pronađene kod 18 % ispitanika, i to: adenokarcinoma pluća u 39 %, dojke 33 %, debelog crijeva 9 %, želudca 5 %, bubrega 5 %, jajnika 3 %, gušterače 2 %, jetre 2 %, prostate 2 % i adenokarcinoma vrata maternice 1 %. Suspektan nalaz bio je u 0,3 % ispitanika, dok kod ostalih nisu nađane maligne stanice u sedimentima pleuralnog izljeva. Maligne stanice ponađene su u 49 % hemoragičnih izljeva, 25 % miješanog tipa, 22 % limfocitnog tipa, 3 % neutrofilnog tipa i 1 % eozinofilnog tipa izljeva.

**Zaključak:** Uloga citologije u dijagnostici adenokarcinoma u pleuralnim izljevima od posebnog je značaja, jer je nalaz malignih stanica često prvi dijagnostički nalaz.

## IMUNOEKSPRESIJA CD2 I CD20 U LIMFATIČNIM STANICAMA IZLJEVA

18

<sup>1</sup>Dunja Ivanović, <sup>1</sup>Mirna Sučić, <sup>1</sup>Nives Ljubić, <sup>1</sup>Leila Perković,  
<sup>2</sup>Dubravka Županić Krmek, <sup>2</sup>Gina Frković Solomun, <sup>1</sup>Fabijan Knežević

<sup>1</sup>Zavod za patologiju i citologiju, KB "Sveti Duh", Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Klinika za unutarnje bolesti, KB "Sveti Duh", Zagreb, Hrvatska

Limfocitoza s pretežno T limfocitima u pleuralnim izljevima (PI) se najčešće nalazi u bolesnika s kroničnom bolesti srca, plućnom embolijom, malignim bolestima i tuberkulozom. Brojni limfociti i limfatične nalaze se u izljevima i u bolesnika s limfom ili kao prvi znak ili u kasnoj fazi bolesti.

**Cilj rada** bio je usporediti imunoekspreziju CD2 i CD20 limfocitnih biljega u limfocitima i limfatičnim stanicama bolesnika s izrazitom limfocitozom u izljevu ( $N = 13$ ) i u bolesnika s limfomskim stanicama u izljevu ( $N = 4$ ).

**Ispitanici i metode:** U 17 bolesnika citomorfološki je analiziran sediment izljeva nakon Pappenheim i imunocitokemijskog bojenja. Imunoeksprezija CD20 i CD2 analizirana je u limfocitima i limfatičnim stanicama i izražena postotkom.

**Rezultati:** U PI svih bolesnika s limfocitozom (3 bolesnika s malignom bolesti, 7 bolesnika s kroničnim bolestima i 3 bolesnika s bronhopneumonijom) nađeni su visoki postotci CD2<sup>+</sup> limfocita (medijan 65 %) i niski postotci CD20<sup>+</sup> limfocita (medijan 15 %). U izljevima 4 bolesnika (2 pleuralna i 2 abdominalna) s ne-Hodginovim limfomom (NHL) B stanica nađeni su visoki postotci CD20<sup>+</sup> limfatičnih stanic (medijan 75 %) i niski postotci CD2<sup>+</sup> limfatičnih stanic (medijan 13 %), a taj imunofenotip odgovorao je tipu NHL (1 limfoplazmocitni limfom, 2 B limfoma velikih stanica i 1 limfom tipa Burkitt). Međutim, u jedne bolesnice nađene su dvije skupine limfatičnih stanic: velike atipične CD20<sup>+</sup>CD2<sup>-</sup> limfatične stанице i CD20<sup>-</sup>CD2<sup>+</sup> mali limfociti.

**Zaključak:** Visok postotak CD2<sup>+</sup> limfocita nađen je u svih bolesnika s reaktivnom limfocitozom u izljevu, dok su u bolesnika s B-NHL nađeni visoki postotci CD20<sup>+</sup> limfatičnih stanic. Međutim, stanice B primarnog limfoma izljeva su CD20 negativne. Također, uz limfomske B stanice se mogu naći i T-limfociti, a i T-limfoblastni limfom se često nalazi u PI. Stoga je CD2 i CD20 imunoekspreziju u limfocitima i limfatičnim stanicama izljeva potrebno tumačiti prema citomorfologiji stanic u izljevu te također u dijagnostici primijeniti dodatne tehnologije (protočnu citometriju, molekularnu analizu).

## IMUNOEKSPRESIJA TELOMERAZE U LIMFOCITIMA BOLESNIKA S KLL

19

<sup>1</sup>**Mirna Sučić**, <sup>1</sup>**Nives Ljubić**, <sup>1</sup>**Leila Perković**, <sup>1</sup>**Dunja Ivanović**,  
<sup>2</sup>**Dubravka Županić Krmek**, <sup>2</sup>**Gina Frković Solomun**, <sup>1</sup>**Fabijan Knežević**

<sup>1</sup>Zavod za patologiju i citologiju, KB "Sveti Duh", Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Klinika za unutarnje bolesti, KB "Sveti Duh", Zagreb, Hrvatska

Aktivacija telomeraza reverzne transkriptaze (TERT) uzrokuje nekontrolirani rast stanice i potiče tumorigenezu. U bolesnika s B-kroničnom limfocitnom leukemijom (KLL) visoke vrijednosti telomeraze određene kvantitativnom PCR metodom nalaze se u bolesnika bez IgVH mutacije i povezane su s progresijom bolesti i lošijom prognozom.

**Cilj rada** bio je analizirati i usporediti imunoekspresiju telomeraze u jezgrama limfocita koštane srži bolesnika s KLL i limfocita u izljevima s reaktivnom limfocitozom.

**Ispitanici i metode:** Nakon imunocitokemijskog bojenja s protutijelom za telomerazu (klon C-20) analizirane su koštane srži u 8 bolesnika s KLL i sedimenti izljeva u 3 bolesnika s reaktivnom limfocitozom. Imunoekspresija telomeraze u jezgrama limfocita izražena je postotkom i semikvantitativnom ocjenom (svaki od 100 limfocita ocijenjen je skalom od 0 do 4 ovisno o jačini imunoreakcije i umnožak ocjena od 0 do 4 s brojem limfocita u razredima se zbrojio).

**Rezultati:** Postotci i vrijednosti ocjene telomeraza pozitivnih limfocita koštane srži u bolesnika s KLL (medijan postotka 67; medijan ocjene 74,5) su bili statistički značajno viši ( $p < 0,05$ ) u odnosu na negativne ili vrlo niske postotke i vrijednosti ocjene telomeraza pozitivnih limfocita u izljevima (medijan postotka 0; medijan ocjene 0).

**Zaključak:** Visoke vrijednosti postotaka i ocjene telomeraza pozitivnih KLL limfocita su u skladu s visokom PCR ekspresijom telomeraze u bolesnika s KLL prema podacima u literaturi. U slijedećim studijama bilo bi vrijedno istražiti da li imunoekspresija telomeraze može biti, poput PCR ekspresije telomeraze, dobra metoda u prepoznavanju skupine KLL bolesnika s progresijom bolesti i lošijom prognozom.

## CYTOTOLOGY AND FLOW CYTOMETRY OF MALIGNANT EFFUSIONS OF HIGH GRADE LYMPHOMAS

**20** **Violeta Šoljić, Sanja Draganović, Đani Godler, Jelena Todorović, Darko Alfirević**

Department of Pathology, Cytology and Forensic Medicine, University Hospital in Mostar, Mostar, Bosnia and Herzegovina

**Objective:** We examined the cytomorphological, immunocytological and flow-cytometric findings of malignant effusions from three patients with suspected lymphoma or carcinoma

**Material and methods:** Immunocytochemistry was performed on air-fixed MGG stained cytocentrifuge smears applying three cytoplasmatic (BCL-2, BCL-6, cytokeratin) and one nuclear (Ki-67) antibody. All effusions were run on FACSCanto II using our standard panel that includes CD19, CD45, CD5, CD22, CD10, TdT, CD23, HLA-DR, CD103, CD20, CD38, CD43, kappa, lambda, CD56, CD2, CD3, CD4, CD8, CD7. Only viable cells were analysed.

**Results:** Pleural effusion of one patient showed CD19+ CD22+ phenotype with cytoplasmic kappa light chain restriction. Immunocytochemistry staining of the effusion was positive for BCL-2. Ki-67 count was 69 %. These neoplastic B cells were large in size as illustrated by intermediate scatter that are in cytomorphological correlation with DLBCL. Pathohistological diagnosis: diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) of the mediastinum. Pleural effusion of the second patient showed low rates of polyclonal B-cells, and a majority of small cells which expressed pan T markers. However, cytocentrifuge smears of pleural effusions showed large atypical cells that are in cytomorphological correlation with DLBCL, positive for CD20 and BCL-2 (immunocytochemistry). Ki-67 count was 30 %. Pathohistological diagnosis: DLBCL of the 7th vertebral body. Ascites from the third patient showed CD19+ CD20+CD10+ phenotype with surface kappa light chain restriction. Immunocytochemistry staining of ascites fluid was positive for BCL-6. Ki-67 count was 98 %. These neoplastic B cells were large with vacuoles as illustrated by intermediate scatter that is in cytomorphological correlation with Burkitt's lymphoma. Pathohistological diagnosis: Burkitt's lymphoma of the ovary.

**Conclusion:** Determination of cytoplasmic immunoglobulin light chain restriction, BCL-2, BCL-6 and Ki-67 expression and cytomorphological examination helped making the cytological diagnoses more precise when analysing high grade lymphoma cases.

# **POJAVA MIJELODISPLASTIČNOG SINDROMA U BOLESNICE S NELIJEČENIM LIMFOPROLIFERATIVNIM POREMEĆAJEM**

## ***MYELODISPLASTIC SYNDROME IN A PATIENT WITH UNTREATED LYMPHOPROLIFERATIVE SYNDROME***

**21**

**<sup>1</sup>Morana Kosanović Bajić, <sup>2</sup>Inga Mandac Rogulj, <sup>1</sup>Gordana Kaić, <sup>1</sup>Marin Kursar,  
<sup>1,2</sup>Slobodanka Ostojić Kolonić, <sup>1,2</sup>Ana Planinc-Peraica**

<sup>1</sup>Klinička bolnica Merkur, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

Istovremena pojava limfoproliferativnog sindroma (LPS) i mijelodisplastičnog sindroma (MDS) je rijetka pojava i samo se sporadično opisuju takvi bolesnici. Zbog dijagnostičkih i terapijskih dilema vrijedno je prikazati takve bolesnike.

65-godišnja bolesnica urednog fizikalnog nalaza javlja se hematologu radi slučajno otkrivene neutropenije ( $L 3,2$ , limf.  $73,1$ , seg.  $22\%$ , Hb  $127\text{ g/L}$ , Tr  $152 \times 10^9/\text{L}$ ). Ranije histerektomija radi mioma, holecistektomija. Prije 10g. pleuralni izljev nepoznatog uzroka, 5 godina liječi se zbog hipotireoze, hormoni štitnjače u granicama referentih vrijednosti. Prije 4 godine tuberkulozni limfadenitis supraklavikularnog limfnog čvora, nakon 3 mjeseca terapije izlječena. Obradom neutropenije nađena je lagana distrombopoeza u koštanoj srži (KS), brojniji limfociti u leukogramu. Imunofenotipizacija stanica periferne krvi (PK) ukazje na infiltraciju B-NHL-a (CD19+CD20+CD22+CD38-CD11c-CD79b-CD138-CD5-CD23-CD10- s klonalnim izražajem kapa lakin lanaca imunoglobulina). Nakon 4 mjeseca ponovljena citološka analiza KS i nalaz potvrđuje LPS. ANA i RF negativni, antigranulocitna antitijela (direktni test) pozitivna, dokazana su autoprotofijela razreda IgG. Biokemijski nalazi uredni (IgG, beta-2-mikroglobulin. LDH, uk. bjelančevine). Tijekom 1,5 godine i dalje urednog fizikalnog nalaza, ali neutropenija sve više izražena s relativnom limfocitozom, bez limfadenopatije, broj L pada na  $1,3 \times 10^9/\text{L}$ , limfociti  $69,5\%$  ( $0,91 \times 10^9/\text{L}$ ), neutrofili  $24,4\%$  ( $0,32 \times 10^9/\text{L}$ ), trombociti i hemoglobin neznatno sniženi, uredni. Sada hospitalizirana radi febriliteta i liječena antibioticima. Ponovljena je analiza KS koja potvrđuje LPS, ali sada ima i MDS-RAEB-2 – 19 % mijeloblasta u KS. Kariogram iz KS uredan. U početku primala imunosupresivnu terapiju (prednison, a nakontoga kratko ciklosporin). Terapija je bez učinka pa se nastavlja se rituksimabom. Kako je i ova terapija bez učinka planira se nastavak teapije 5-azacitidinom.

U bolesnika s neobičnom manifestacijom limfoprolifertivne bolesti valja tragati za mogućim drugim uzrocima. Kod liječenja ovakvih bolesnika razumno je liječiti dominantniju bolest.

## PRIMARNI NON HODGKIN LIMFOM JETRE – PRIKAZ SLUČAJA

**<sup>1</sup>Samija Ropar, <sup>2</sup>T. Friščić, <sup>3</sup>Biljana Jelić Puškarić, <sup>4</sup>Njetočka Gredelj Šimec**

**22**

<sup>1</sup>Odjel za patologiju i citologiju, Opća bolnica Karlovac, Karlovac, Hrvatska

<sup>2</sup>Odjel za opću internu medicinu, internističku onkologiju, hematologiju i nefrologiju, Opća bolnica Karlovac, Karlovac, Hrvatska

<sup>3</sup>Zavod za kliničku citologiju i citogenetiku, Klinička bolnica Merkur, Zagreb, Hrvatska

<sup>4</sup>Zavod za hematologiju, Klinička bolnica Merkur, Zagreb, Hrvatska

**Cilj:** Prikaz kliničke prezentacije i dijagnostike primarnog limfoma jetre, koji čini oko 0,4 % svih slučajeva ekstranodalnih non Hodgkin limfoma (NHL) i 0,016 % svih slučajeva NHL-a. Definiran je prisustvom limfomskih stanica u jetri, a bez zahvaćenosti drugih organa.

**Materijal i metode:** Opisujemo slučaj 67-godišnjeg muškarca, koji je primljen u bolnicu zbog bolova u gornjem dijelu trbuha, hepatomegalije i radiološki verificiranih multiplih promjena u jetrenom parenhimu, a bez prisutnosti patoloških promjena na drugim organima. Dijagnostička obrada uključivala je punkciju promjena u jetri pod kontrolom ultrazvuka, citološku analizu punktata bojanog po MGGr-u, imunocitokemijsku analizu i protočnu citometriju (PC) punktata jetre te punkciju i biopsiju koštane srži.

**Rezultati:** Citološkom punkcijom promjena jetre dobiven je adekvatan uzorak u kojem su uz hepatocite nađene atipične limfatičke stanice. Imunocitokemijskom analizom potvrđeno je da se radi o CD20 pozitivnim limfatičkim stanicama. Analizom punktata PC-om potvrđeno je da se radi o difuznom B velikostaničnom limfomu. Citološkom analizom i imunofenotipizacijom aspirata koštane srži te patohistološkom analizom biopsije koštane srži nije nađena infiltracija limfomskim stanicama

**Zaključak:** Zlatni standard dijagnostike NHL je patohistološka dijagnoza (PHD). U slučajevima kada uzimanje uzorka za PHD izlaže pacijenta riziku, liječenje se provodi na temelju dijagnoze postavljene citološkom analizom punktata promjene te imunocitokemijskom analizom i protočnom citometrijom. Prikazali smo bolesnika s rijetkom oblikom NHL-a čije je uspješno liječenje uz postizanje kompletne remisije bolesti provedeno na temelju dijagnoze postavljene na uzorcima dobivenim citološkom punkcijom.

## DIJAGNOSTIČKA VRIJEDNOST PRSTENASTIH SIDEROBLASTA

**23** **<sup>1</sup>Nives Ljubić, <sup>1</sup>Mirna Sučić, <sup>1</sup>Leila Perković, <sup>1</sup>Dunja Ivanović,  
<sup>2</sup>Dubravka Županić Krmek, <sup>2</sup>Gina Frković Solomun, <sup>1</sup>Fabijan Knežević**

<sup>1</sup>Zavod za patologiju i citologiju, KB „Sveti Duh“, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Klinika za unutarnje bolesti, KB „Sveti Duh“, Zagreb, Hrvatska

Dishematopoeza je prvenstveno pokazatelj mijelodisplastičnog sindroma (MDS). Diseritropoeza je karakterizirana promjenama jezgre i citoplazme te prstenastim sideroblastima (RS). U RS se nakuplja feritin u mitohondrijima koji se prikazuje Berlinskim modrilom, a kriterij za RS je najmanje 5 zrnaca u najmanje 1/3 kruga oko jezgre. Već nalaz od 1 % RS znak je patološke eritropoeze, a veći broj RS može biti posljedica stečenog (MDS i akutne mijeloične leukemije – AML) ili nasljednog poremećaja gena (nasljedne sideroblastne anemije) koji djeluju na metabolizam željeza u mitohondrijima. U MDS i AML se nalaze i mutacije drugih gena uključenih u metabolizam mitohondrija (IDH1 i IDH2 gena za izocitrat dehidrogenaze).

**Cilj rada** bio usporediti broj sideroblasta i RS u 4 skupine bolesnika: s anemijom, s dishematopoezom, s MDS-om i mijeloproliferativnom bolesti (MPB).

**Ispitanici i metode:** Nakon citokemijskog postupka Berlinskim modrilom analizirao se postatak sideroblasta i RS u ukupnom broju eritroblasta u koštanoj srži u 4 skupine bolesnika: s anemijom (N = 10), s dishematopoezom (N = 7), s MDS-om (N = 7) i s MPB-om (N = 6).

**Rezultati:** Medijan postotaka sideroblasta (35 %) bio je najveći u skupini bolesnika s MDS-om i najmanji u bolesnika s dishematopoezom (0.5 %). Medijan postotka RS bio je najveći u MDS skupini (5 %) sa statistički značajnom razlikom između skupina anemija i MDS ( $p < 0,05$ ). U 2 MPB bolesnika nađeni su RS postotci 1 % i 3 %, a postotci RS manji od 3 % nađeni su samo u po jednog bolesnika u skupini anemija i skupini dishematopoeze.

**Zaključak:** Postotci sideroblasta i RS bili su najveći u MDS skupini. Premda je u 2 MPB bolesnika nađeno 1 % i 3 % RS, više od 3 % RS najčešće je pridruženi znak diseritropoeze u MDS.

## UTJECAJ PARVOVIRUSNE INFEKCIJE NA CITOLOGIJU KOŠTANE SRŽI: PRIKAZ SLUČAJA

24

**<sup>1</sup>Ivana Miše, <sup>1</sup>Ivana Maričević, <sup>2</sup>Siniša Stevanović, <sup>3</sup>Roberta Šarkanji-Golub**

<sup>1</sup>Zavod za kliničku citologiju, KBC „Sestre milosrdnice”, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>ORL Klinika KBC „Sestre milosrdnice”, Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup>Dom zdravlja Zagreb-Centar, Zagreb, Hrvatska

**Uvod:** Parvovirus B19, uzročnik *erythema infectiosum* u djece je eritrovirus zbog sposobnosti invadiranja eritroidnih progenitornih stanica u koštanoj srži, uz citopatski efekt stvaranja gigantskih proeritroblasti promjera 25-32 mikrometra s velikim nuklearnim virusnim inkluzijama. Posljedica je obično klinički nemanifestna anemija odnosno pancitopenija koje mogu biti teške kod postojećeg hematološkog deficitata. Najčešći putovi širenja su respiratori, krvnim produktima, nozokomijalni, a inkubacija od 1-4 tjedna.

**Prikaz slučaja:** 64-ogodišnjaku operiranom 25 dana prije zbog karcinoma larinka kada je primio koncentrate eritrocita, učinjen je mijelogram radi pancitopenije praćene jednodnevnim subfebrilitetom ( $37,5^{\circ}\text{C}$ ), uz najnižu vrijednost eritrocita (Erc)  $3,0 \times 10^{12}/\text{l}$ , leukocita (Lkc)  $1,9 \times 10^9/\text{l}$ , trombocita (Trc)  $61 \times 10^9/\text{l}$ , a urednim biokemijskim parametrima. Unatrag mjesec dana u KKS-u se izdvajala izolirana anemija ( $\text{Erc}_2,9 \times 10^{12}/\text{l}$ ), potom prolazna leukocitoza ( $12,8 \times 10^9/\text{l}$ ) s neutrofiljom (82 %) drugi odnosno visok CRP (80,7) sedmi dan po operaciji. Koštana srž je bila umjereno celularna uz reducirana eritrocitopoezu s tek 3 % proeritroblasti, dijelom atipičnih – jače ili izrazito povećanih (megaproeritroblasti), velikih jezgara s nepravilnim sivkastoplavim inkluzijama, često vakuoliziranih citoplazmi, bez zrelijih oblika eritropoeze; uredna trombocitopoeza i umnožena zrela granulocitopoeza s programulacijama, svim razvojnim oblicima no dominacijom intermedijarnih. DKS je pokazao blažu limfocitozu (48 %) s nešto limfoplazmocita, češće plazma stanice, neutrofilna toksična granula i pojedinačne polimorfne trombocite. Zaključili smo da atipični veliki proeritroblasti, „stop“ u eritropoezi i reaktivna koštana srž upućuju na parvovirusnu infekciju te sugerirali serološku obradu koja nije učinjena. Samo dva dana potom poboljšala se trombocitopenija ( $102 \times 10^9/\text{l}$ ), nakon 35 dana i poslije zaostala tek anemija ( $\text{Erc}_{3,0} \times 10^{12}/\text{l} / \text{Lkc}_{4,6} \times 10^9/\text{l} / \text{Trc}_{227} \times 10^9/\text{l}$ ), evidentirana i prije pancitopenije te sigurno nisu uzročno povezane.

**Zaključak:** Ova prolazna kratkotrajna pancitopenija vrlo vjerojatno je uzrokovana parvovirusom zbog tipičnog citomorfološkog nalaza u koštanoj srži neopisanom u nijednom hematološkom niti entitetu druge etiologije, u operiranog bolničkog pacijenta s preegzistirajućom anemijom koji je primio koncentrate eritrocita, što odgovara literurnim podacima o parvovirusnoj infekciji.

## **RIJETKI SEKUNDARIZMI U SLEZENI / RARE SECONDARY INVOLVEMENT OF THE SPLEEN**

**<sup>1</sup>Morana Kosanović Bajić, <sup>1</sup>Inga Mandac Rogulj, <sup>1</sup>Biljana Jelić Puškarić,**

**<sup>1,2</sup>Ana Planinc-Peraica, <sup>1,3</sup>Delfa Radić-Krišto**

<sup>1</sup>Klinička bolnica Merkur, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup>Medicinski fakultet Sveučilišta u Osijeku, Osijek, Hrvatska

**25**

**Uvod:** Infiltrati u slezeni, a bez aktivne maligne bolesti nekog drugog sijela, mogu postaviti sumnju na primarni limfom slezene, vaskularne tumore ili infektivne lezije. Ukoliko je bolesnik ranije imao dijagnozu maligne bolesti, pojava infiltrata u slezeni trebala bi upućivati na sekundarizam primarnog tumora. Među tumorima kod kojih se češće nalaze sekundarizmi u slezeni su karcinom dojke, pluća, jajnika, kolorektalni, želuca i melanom.

**Prikaz slučaja:** Na Kliniku je primljena 59-godišnja žena radi dodatne obrade solidnotkivnog ekspanzivnog procesa u slezeni promjera oko 7 cm. Bolesnica je prije 7 godina liječena radi karcinoma jajnika desnostranom ovarijskom i histerektomijom te je dobila adjuvantnu kemoterapiju kojom se postigne kompletna remisija. Nakon toga se redovito kontrolirala u ginekološkoj ambulanti, ali je radi bolova u trbuhi i ascitesa početkom ove godine bolničkom obradom nađena promjena u slezeni koja je citološki punktirana te je u punktatu opisana infiltracija slezene malignim stanicama porijekla karcinoma jajnika. Slične su maligne stanice opisane i u citološkoj analizi ascitesa.

**Zaključak:** Sekundarizmi u slezeni se najčešće pojavljuju u kasnijim stadijima karcinoma, dok su solitarni sekundarizmi u slezeni puno rjeđi. Citološka funkcija infiltrata u slezeni zauzima važno mjesto u dijagnostičkom algoritmu te je ključna u što ranijoj potvrdi tumorske proširenosti radi odluke o načinu liječenja.

## PERIODIC ACID – SCHIFF (PAS) REAKCIJA U HEMATOONKOLOŠKOJ CITODIAGNOSTICI

### PERIODIC ACID – SCHIFF (PAS) REACTION IN HEMATOLOGY AND ONCOLOGY CYTODIAGNOSTICS

Sandra Šlegl, Ivana Miše, Marijana Herceg, Silvija Grbin, Julijana Mandžo

Zavod za kliničku citologiju KBC „Sestre Milosrdnice“, Zagreb, Hrvatska

**Cilj:** Ukažati na vrijednost i korisnost PAS reakcije u hematološkoj i onkološkoj citodiagnostici.

**Materijal i metode:** PAS reakcijom se dokazuju stanični ugljikohidrati i glikoproteini – unutar membrane i citoplazme. Temelji se na oksidacijskom djelovanju perjodne kiseline na glikolne skupine glukoze i oslobađanju aldehidnih skupina koje se zatim prikažu reakcijom s fuksin sumpornom kiselinom (SCHIFF-ov reagens). Nastaje složeni grimiznoljubičasti spoj koji se mikroskopski očitava kao granularna, grudičasta ili difuzna pozitivnost.

**Rezultati:** Stanice granulocitopoeze i monocitopoeze su PAS pozitivne, a sa zrelošću stanice raste i intenzitet reakcije. U nekim podtipovima AML-a i ALL-a blasti su PAS pozitivni što se prezentira sitnim grimiznim granulama u citoplazmi, dok se PAS pozitivni limfoblasti odlikuju velikim citoplazmičnim granulama. Atipični limfociti u kroničnoj limfocitnoj leukemiji su PAS pozitivni što ju razlikuje od Non Hodgkinova limfoma malih stanica. PAS pozitivne atipične plazma stanice nalazimo kod plazmocitoma. Stanice nekih dječjih solidnih tumora (Ewingov sarkom, rabdomiosarkom) su PAS pozitivne što ih razlikuje od akutnih leukemija i limfoma. PAS pozitivna reakcija u stanicama hipernefroma i disgerminoma može ih razlikovati od drugih malignoma.

**Zakjučak:** PAS metoda je važna citokemijska neenzimska metoda koja zbog tehničke jednostavnosti, brzine izvođenja i cijene još uvijek ima i treba zadržati rutinsko mjesto i široku zastupljenost u citodiagnostici hematoloških i onkoloških bolesti.

## DIJAGNOSTIČKA VRIJEDNOST CITOLOGIJE ŽARIŠNIH PROMJENA U JETRI I GUŠTERAČI – USPOREDBA SA PATOHISTOLOŠKIM NALAZOM

27

Fröhlich I, Kovačević A, Pauzar B, Staklenac B, Perić M, Vrselja N, Miličić V, Lončar B.

Klinički zavod za kliničku citologiju, KBC Osijek, Osijek, Hrvatska

**Cilj:** Odrediti vrijednost citodiagnostike ultrazvučno vođene punkcije žarišnih promjena u jetri i gušterači.

**Materijali i metode:** U razdoblju 2011.-2015. godine je učinjeno 217 ultrazvučno vođenih punkcija promjena u jetri i 185 ultrazvučno vođenih punkcija promjena u gušterači. Citološki su analizirani razmazi bojani MGG metodom. Učinjena je korelacija citološkog i patohistološkog nalaza.

**Rezultati:** Od 217 učinjenih punktata promjena u jetri uzorak je bio nedostatan u 13 (6 %) bolesnika. Preostali su razmazi citološki klasificirani kao benigni u 70 (32 %) bolesnika i u 134 (62 %) bolesnika kao maligni. Za 103 bolesnika je bila moguća usporedba citološkog i patohistološkog nalaza. U 16 (16 %) bolesnika je potvrđena benigna dijagnoza, a najčešće se radilo o fokalnoj nodularnoj hiperplaziji. U 64 (61 %) bolesnika u kojih je potvrđena maligna dijagnoza najčešće se radilo o metastazi adenokarcinoma u 17 (26 %) bolesnika, hepatocelularnom karcinomu u 16 (25 %) bolesnika i holangiocelularnom karcinomu u 14 (23 %) bolesnika. Od 185 učinjenih punktata promjena u gušterači uzorak je bio nedostatan u 44 (24 %) bolesnika. U 50 (27 %) bolesnika punktati su citološki klasificirani kao benigni, a u 91 (49 %) bolesnika kao maligni. Za 33 (19 %) bolesnika bila je moguća usporedba citološkog i patohistološkog nalaza. U 6 (18 %) bolesnika je potvrđena benigna dijagnoza, a najčešće se radilo o upalnim promjenama. U 10 (55 %) bolesnika u kojih je potvrđena maligna dijagnoza najčešće se radilo o karcinomu gušterače.

**Zaključak:** U obradi bolesnika sa žarišnim promjenama u jetri i gušterači ultrazvučno vođena citološka punkcija je dijagnostički vrijedna metoda. Za optimalan rezultat neophodna je bliska suradnja citologa, radiologa i patologa.

## NEOBIČNA PREZENTACIJA GIST-a

**<sup>1</sup>Marija Škoro, <sup>1</sup>Tajana Štoos-Veić, <sup>1</sup>Nina Petra Novak, <sup>2</sup>Mario Tadić,  
<sup>3</sup>Mirjana Vukelić**

<sup>1</sup>Klinički zavod za patologiju i kliničku citologiju, KB Dubrava, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Zavod za gastroenterologiju, Klinika za unutarnje bolesti, KB Dubrava, Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup>Klinički zavod za dijagnostičku i intervencijsku radiologiju, KB Dubrava, Zagreb, Hrvatska

**Uvod i cilj:** Usprkos napretku slikovnih metoda, tkivna dijagnoza je neophodna za postavljanje precizne dijagnoze. Citološka punkcija tankom iglom i analiza može promijeniti kliničku dijagnozu i utjecati na postupak s bolesnikom. Ovdje prikazujemo slučaj bolesnice s palpabilnim tumorom u abdomenu.

**Materijal i metode:** Bolesnica u dobi od 63 godine, javila se u hitnu kiruršku službu zbog bolova u lijevom prsištu i abdomenu. Navodi da je zadobila udarac u prsni koš prije 10 dana. Kliničkim pregledom uočava se palpabilna rezistencija veličine 15x15 cm u lijevom hipochondriju.

Ultrazvučnim pregledom abdomena nalazi se cistična tvorba 15 x 15 cm u lijevom hemiabdomenu te se bolesnica upućuje na kompjuteriziranu tomografiju (CT). Nalaz govori o solidno-cističnoj tvorbi koja odgovara cističnom karcinomu gušterače. Bolesnica je upućena na endoskopski ultrazvuk. EUS-om je nađena velika tvorba koja ne pripada gušterači te je napravljena citološka punkcija (EUS-FNA) solidnog i cističnog dijela.

**Rezultati:** Punktijom cističnog dijela dobiveno je 25 ml sukrvave tekućine i u sedimentima se nađu eritrociti, te nešto siderofaga. U razmazima punktata solidnog dijela se nalaze nakupine vretenastih stanica izduženih jezgara, nježnog kromatina, bipolarnih sivoplavih citoplazmi. Imunocitokemijski se dokažu CD117 i CD34 pozitivne stanice, te se postavi dijagnoza gastrointestinalnog stromalnog tumora sa cističnim promjenama uz znake krvarenja. Tvorba je operativnim putem odstranjena u cijelosti, a PHD nalaz je potvrđio citološku dijagnozu. Pacijentica je dobrog općeg stanja 4 godine nakon zahvata, bez terapije.

**Zaključak:** Jedan od kriterija biološkog ponašanja GIST-a jest i veličina tumora. Prema slikovnim metodama radilo se o bolesnici s inoperabilnim tumorom gušterače. Citološka punkcija vođena EUS-om omogućila je točnu dijagnozu te utjecala na daljnji postupak s bolesnicom.

## DIJAGNOSTIČKA VRIJEDNOST TFF<sub>3</sub> PROTEINA U TUMORIMA DOJKE

29

<sup>1</sup>Maja Tolušić Levak, <sup>1</sup>Ivana Lovrić, <sup>1</sup>Tatjana Belovari, <sup>2</sup>Mirela Baus Lončar,  
<sup>3</sup>Valerija Blažičević, <sup>4</sup>Biljana Pauzar

<sup>1</sup>Katedra za histologiju i embriologiju, Medicinski fakultet Osijek, Osijek, Hrvatska

<sup>2</sup>Zavod za molekularnu medicinu, Institut Ruđer Bošković, Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup>Klinički zavod za patologiju i sudsku medicinu, KBC Osijek, Osijek, Hrvatska

<sup>4</sup>Klinički zavod za kliničku citologiju, KBC Osijek, Hrvatska

**Cilj:** TFF<sub>3</sub> protein je dio TFF skupine proteina koji eksprimiraju u zdravom tkivu dojke kao i u tumorima. U zdravom tkivu sudjeluje u zaštiti i obnovi epitela i sluznica, no u malignim tumorima potiče angiogenezu i migraciju stanica te sprječava apoptozu, što dovodi do pojačane invazivnosti tumora. Reguliran je estrogenom, no eksprimira i u hormonski neovisnim tumorima. Cilj je ovog istraživanja utvrditi jačinu ekspresije TFF<sub>3</sub> proteina u benignim i malignim tumorima dojke.

**Materijal i metode:** U istraživanje je uključeno 10 ispitanih uzoraka s benignim promjenama dojke (C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>), 9 sa suspektnim, vjerojatno malignim promjenama (C<sub>4</sub>) te 11 s malignim promjenama (C<sub>5</sub>). Prema smjernicama iz St. Gallena, nakon patohistološke verifikacije tumori su klasificirani u 4 kategorije: luminalni tip A, luminalni tip B, HER-2 pozitivni i trostruko negativni. Imunohistokemijsko bojanje antiTFF<sub>3</sub> protutijelom je ocijenjeno: 0 – nema imunopozitivnosti; 1- slaba imunopozitivnost; 2- srednje jaka imunopozitivnost; 3- jaka imunopozitivnost.

**Rezultati:** 8 je tumora bilo benigno, 5 je malignih tumora luminalni tip A, 10 luminalni tip B, 2 HER-2 pozitivna i 5 trostruko negativnih. Ekspresija TFF proteina u benignim tumorima je prisutna ali slaba a u malignim tumorima imunopozitivnost je srednje jaka ili jaka. Nije vidljiva razlika u jačini signala u malignim hormonski ovisnim (luminal A, luminal B) i hormonski neovisnim tumorima.

**Zaključak:** Ekspresija TFF<sub>3</sub> proteina znatno je viša u malignim promjenama nego u benignim promjenama i zdravom tkivu. Istraživanjem na većem uzorku pacijentica uz određivanje ekspresije TFF<sub>3</sub> gena moglo bi potvrditi stvarni utjecaj TFF<sub>3</sub> proteina u dijagnostici i prognozi tumora dojke.

## CITOLOŠKO GRADIRANJE INVAZIVNOG KARCINOMA DOJKE

**1Ivana Prvulović, 2,3Valerija Miličić, 1Maja Mišić**

<sup>1</sup>Služba za citologiju i patologiju, Opća bolnica Dr. J. Benčević, Slavonski Brod, Hrvatska

<sup>2</sup>Klinički zavod za kliničku citologiju, Klinički bolnički centar Osijek, Osijek, Hrvatska

<sup>3</sup>Medicinski fakultet, Sveučilište u Osijeku, Osijek, Hrvatska

**Cilj** istraživanja bio je korelirati rezultate citološkog gradiranja invazivnog karcinoma dojke s histološkim gradusom te prosuditi varijabilnost citološke tehnike gradiranja među citolozima.

**Materijali i metode:** uzorci četrdeset i pet ispitanica kojima je citološkom punkcijom tankom igлом (FNAC) dokazan invazivni karcinom dojke, te je isti potvrđen i histološki, gradirani su od strane tri citologa u dva navrata. Za analizu stupnja podudarnosti citološkog gradusa invazivnog karcinoma dojke s histološkim gradusom koristio se Kendall τ-B test.

**Rezultati:** τ-B vrijednosti pri prvom citološkom gradiranju kretale su se u rasponu od 0,43 – 0,67 (dobro do izvrsno slaganje), dok su u drugom navratu iznosile od 0,63 – 0,70 (izvrsno slaganje). Slaganje pojedinog promatrača pri ponovljenom citološkom gradiranju (intraobserver varijabilnost) iznosi 0,57 – 0,79.

**Zaključak:** Rezultati ukazuju da je citološko gradiranje reproducibilno i da izvrsno korelira s histološkim gradusom. Posljedično tome predstavlja koristan parametar u predviđanju histološkog gradusa, odnosno biološkog ponašanja tumora.

## PAPILARNI KARCINOM ŠITINJAČE U SCINTIGRAFSKIVRUĆEM ČVORU

**31** <sup>1</sup>Mia Šunjić Stakor, <sup>2</sup>Peroš K.

<sup>1</sup>Zavod za kliničku citologiju i citogenetiku, KB Merkur, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Sveučilišna klinika Vuk Vrhovac, KB Merkur, Zagreb, Hrvatska

**Cilj:** Ukazati na važnost citologije u dijagnostici bolesti štitinjače.

**Prikaz slučaja:** U kliniku je primljen 46-godišnji muškarac sa simptomima hipertireoze. Ultrazvučnim pregledom štitinjače prikaze se hipoehogeni čvor u desnog režnju štitinjače promjera 10 mm te hipoehogeni čvor s mikrokalcifikatima u donjem polu lijevog režnja štitinjače promjera 20 mm. Scintigrafija štitinjače Tc-99 pertehtnetatom pokazala je difuzno slabiju aktivnost parenhima te vrući čvor u lijevom režnju što odgovara hipoehogenom čvoru prikazanim ultrazvukom. Učinjena je citološka punkcija oba čvora pod kontrolom ultrazvuka.

U razmazima punktata čvora u lijevom režnju nađene su mnogobrojne papilarne nakupine stanica s karakterističnim znakovima za papilarni karcinom štitinjače te je bolesnik upućen na operativni zahvat. Učinjena je totala tireoidektomija. Patohistološkom analizom potvrđena citološka dijagnoza papilarnog karcinoma štitinjače te su nađene metastaze u regionalne limfne čvorove.

**Zaključak:** Papilarni karcinom štitinjače rijetko je prisutan u scintigrafski vrućem čvoru uz klinički razvijenu hipertireozu. Iako je incidencija vrlo niska potrebno je razmišljati o ovom entitetu. Postupnici za dijagnostiku i liječenje vrućih čvorova u hipertireozi ne preporučuju citološku dijagnostiku. Ovaj slučaj pokazuje važnost citologije u dijagnostici bolesti štitinjače te je potrebno učiniti citološku punkciju svih ultrazvučno značajnih čvorova.

## ISTOVREMENA POJAVA PAPILARNOG I MEDULARNOG KARCINOMA ŠITINJAČE

32

**1Petra Peruško Kozina, 1Žana Besser Silconi, 1Ilija Kučinar, 2Irena Igrec**

<sup>1</sup>Opća bolnica Pula, Pula, Hrvatska

<sup>2</sup>Županijska bolnica Čakovec, Čakovec, Hrvatska

**Cilj:** Prikaz slučaja pacijenta sa istovremenom pojavom papilarnog i medularnog karcinoma štitnjače.

**Prikaz slučaja:** Četrdesetpet-godišnji muškarac s oteklinom na desnoj strani vrata u trajanju od mjesec dana upućen je na Odjel za kliničku citologiju radi punkcije tankom iglom. Prethodno je učinio ultrazvuk vrata te su na desnoj strani u jugularnoj regiji nađeni povećani limfni čvorovi u potpunosti izmijenjene strukture od kojih najveći mjeri  $34 \times 14$  mm. Ultrazvučnim pregledom štitnjače prikazan je solidan čvor sa cističnim promjenama u gronjoj polovini desnog režnja, velič.  $27 \times 22 \times 19$  mm, a u lijevom režnju nađeno je nekoliko manjih hipoehogenih, vaskulariziranih nodusa sa kalcifikatima. PET/CT ukazuje na patološko nakupljanje FDG u limfnim čvorovima vrata, te prvenstveno ukazuje na maligni karakter istih. Iz laboratorijskih nalaza izdvaja se povišeni CEA (274,1).

Učini se citološka punkcija pod kontrolom ultrazvuka čvora na vratu desno i čvora u desnom režnju štitnjače. U razmazima punktata nađeno je obilno malignih epitelnih stanica pojedinačno te u manjim i većim nepravilnim nakupinama, okruglih do izduženih ekscentrično položenih jezri, prisutne anizonukleoze, oskudne do srednje obilne svijetle, većinom neoštro ograničene citoplazme, mjestimice sa crvenim granulacijama. Morfološki nalaz odgovara medularnom karcinomu.

Pacijent se dalje upućuje specijalisti ORL te je hospitaliziran radi totalne tireoidektomije s disekcijom vrata desno. Histološki tumorsko tkivo u jednom režnju građeno je od atipičnih epitelnih stanica koje oblažu nepravilne folikularne prostore ali i mjestimice vidljive resičaste formacije s fibrovaskularnom stromom, dok je tumorsko tkivo u drugom režnju građeno od tračaka i gnijezda atipičnih stanica kubične do vretenaste forme, a koje su međusobno odvojene tankim tračcima fibrozne strome. Patohistološki nalaz govori u prilog papilarnog i medularnog karcinoma štitnjače, te metastatskog medularnog karcinoma.

**Zaključak:** Potrebna je dobra komunikacija između liječnika te multidisciplinaran pristup pacijentu u svrhu što bržeg postavljanja dijagnoze i adekvatnog liječenja.

## RENAL CELL CARCINOMA METASTASIS TO THYROID GLAND: A CASE REPORT

33

Julija Blatnik, Margareta Strojan Fležar, Helena Gutnik

Institute of Pathology, Faculty of Medicine, University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

**Objective:** Thyroid neoplasms are usually primary in origin, however when cytomorphology of the malignant cells differs from usual thyroid carcinomas a secondary tumor should be considered.

**Material and methods:** Seventy-five years old male patient with a history of surgery for renal carcinoma presented with a nodule in the right lobe of the thyroid. US-guided fine needle aspiration biopsy was performed. Three direct smears were made, two were air-dried and Giemsa stained, one was spray fixed and Papanicolaou stained and later immunostained for RCC antigen.

**Results:** Cytopathological examination revealed some large tissue fragments with branching fibrovascular cores covered with medium sized to large cells. Some loosely cohesive small clusters with pink stromal material (in Giemsa stained smear) were also found. The cytoplasm was abundant, fragile and finely vacuolated. The nuclei were small, round, with slight anisonucleosis. Only a few foamy or hemosiderin-containing macrophages were observed. Background contained fresh blood. Malignant cells were immunopositive for RCC antigen. A metastatic renal cell carcinoma to the thyroid was diagnosed.

**Conclusion:** Metastatic renal cell carcinoma to the thyroid should be considered in any patient presenting with a thyroid mass and a medical history of renal cell carcinoma. Metastatic neoplasms to the thyroid gland are rare, however the renal clear cell carcinoma is the most frequent site of origin of thyroid metastases. It represents 12 to 34 % of all secondary thyroid tumors. Metastases to the thyroid can occur even after more than 20 years after nefrectomy (average time interval 7.5 years). Cytopathological diagnosis can be made based on typical cytomorphology coupled with immunostaining for RCC antigen.

## METASTAZA SVIJETLOSTANIČNOG KARCINOMA BUBREGA U ŠITNU ŽLJEZDU

### *METASTATIC CLEAR CELL RENAL CARCINOMA TO THE THYROID GLAND*

**34**

**<sup>1</sup>Dinka Šundov, <sup>1</sup>Renata Beljan Perak, <sup>1</sup>Martina Bogdan Pleština,**

**<sup>1</sup>Marina Vrdoljak Troglić, <sup>2</sup>Dubravka Brdar**

<sup>1</sup>Klinički zavod za patologiju, sudska medicinu i citologiju, KBC Split, Split, Hrvatska

<sup>2</sup>Klinički zavod za nuklearnu medicinu, KBC Split, Split, Hrvatska

**Uvod:** Metastatski tumori čine 1,4–2,5 % tumora štitne žlezde. Među tumorima koji metastaziraju u štitnu žlezdu izdvajaju se karcinomi pluća, dojke, debelog crijeva, bubrega te melanom.

**Prikaz slučaja:** 62-godišnja žena hospitalizirana je zbog simptomatske normocitne anemije i melene. Prije 13 godina nefrektomirana je radi tumora bubrega. U kliničkom statusu navodi se izrazito uvećana štitna žlezda. Dijagnostičkom obradom verificira se krvareći duodenalni vrijed. MSCT abdomena prikazuje dvije heterogene hipervaskularne tvorbe, u loži desnog bubrega i uz glavu gušterače dorzalno. Konzultira se urolog, onkolog i abdominalni kirurg prije konačne odluke o mogućem operativnom liječenju. Zbog velikog kliničkog nalaza učini se i obrada štitne žlezde. Ultrazvučnim pregledom u desnom režnju prikazuju se dva velika cistična čvora. U lijevom režnju prikazuje se hipoehogeni čvor promjera  $11,5 \times 10 \times 12$  mm, te u području istmusa izoehogeni čvor veličine  $24,5 \times 20 \times 23$  mm. Citološkim analizom punktata čvora lijevog režnja i čvora istmusa nađu se nakupine i tračci epitelnih stanica niskog nukleo-citoplazmatskog omjera i obilne, svijetle, dijelom sitno vakuolizirane citoplazme. Iako podatak o prethodnoj nefrektomiji nije naznačen na uputnici, s obzirom na morfološku sliku postavi se sumnja na metastazu svjetlostaničnog karcinoma bubrega. Imunocitokemijskom analizom tumorske stanice su bile izrazito pozitivne na RCC, CD10, Vimentin i PAX8, a negativne na TTF-1, Tireoglobulin i CK7, čime je potvrđena morfološka sumnja.

**Zaključak:** Punktacija tankom iglom uz morfološku i imunocitokemijsku analizu nezamjenjiva je dijagnostička metoda u obradi čvorova štitne žlezde, a uz anamnezu prethodne maligne bolesti važna je karika u algoritmu odluka o dalnjem liječenju.

## INTRATIREOIDNI ADENOM PARATIREOIDNE ŽLIJEZDE – UZROK HIPERKALCEMIČNE KRIZE SA SMRTNIM ISHODOM

<sup>1</sup>**Roberta Šarkanji-Golub**, <sup>2</sup>**Ankica Vasilj**, <sup>3</sup>**B. Pigac**, <sup>2</sup>**Sandra Kojić Katović**,

<sup>4</sup>**Darija Mužinić**, <sup>5</sup>**Sandra Moslavac**

35

<sup>1</sup>DZ Zagreb Centar, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>KBC Sestre Milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup>OB Varaždin, Varaždin, Hrvatska

<sup>4</sup>KB Merkur, Zagreb, Hrvatska

<sup>5</sup>Poliklinika Sunce, Zagreb, Hrvatska

Primarni hiperparatireoidizam je čest uzrok hiperkalcemije sa značajnim porastom incidencije (1 %) u postmenopausalnih žena. Nastaje autonomnim lučenjem paratireoidnog hormona (PTH) u solitarnom adenomu (85 %), a vrlo rijetko u karcinomu paratireoidne žljezde (0,5 %). Adenomi paratireoidne žljezde ektopični su u 16-25 % slučajeva, od toga oko 1 % u štitnjači. Posljedica povišene razine PTH u krvi ili punktatu je hiperkalcemija koja se klinički manifestira nespecifičnim i blagim simptomima, dok je hiperkalcemična kriza rijetka. Smrtni ishod hiperkalcemične krize uglavnom se javlja kod karcinoma paratireoidne žljezde, a iznimno kod adenoma.

**Prikaz slučaja:** Žena u dobi od 50 godina duži niz godina liječena od depresije, bubrežnih kamenaca, kostobolje i kroničnog umora dolazi na UZV pregled štitnjače, gdje se nađe hipoehogeni čvor dimenzija  $39 \times 29 \times 15$  mm u donjem polu desnog režnja koji se scintigrafski prikaže kao „hladna zona“. Učinjenom citološkom punkcijom čvora pod kontrolom UZV-a nađene su brojne trodimenzionalne, dijelom rozetne skupine manjih epitelnih stanica oskudne citoplazme, brojne uniformne gole jezgre te endotel kapilara. Na osnovi navedenog postavljena je citološka dijagnoza folikularnog tumora štitnjače, vjerojatno adenoma. Tjedan dana prije zakazanog operativnog zahvata bolesnica umire u hiperkalcemičnoj krizi. Patohistološki nalaz čvora u štitnjači dobivenog obdukcijom, uz dodatnu imunohistokemijsku obradu (pozitivan PTH) dijagnosticira adenom paratireoidne žlježde.

**Zaključak:** Hiperparatireoidizam se manifestira nespecifičnim simptomima hiperkalcemije, a ektopični adenom paratireoidne žljezde u citološkom razmazu morfološki se može zamijeniti s tumorima štitnjače što je viđeno u ovom slučaju. Pozitivan nalaz PTH u punktatu neophodan je za definitivnu preoperativnu dijagnozu adenoma paratireoidne žljezde, a pravovremeno učinjen spašava život bolesniku.

## PILOMatrikom u desetomješčnog dojenčeta – prikaz slučaja

36

<sup>1</sup>Jelena Roganović, <sup>2</sup>Izabela Kranjčec, <sup>3</sup>Irena Seili-Bekafigo, <sup>4</sup>Nives Jonjić

<sup>1</sup>Klinika za pedijatriju KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

<sup>2</sup>Klinika za dječje bolesti Zagreb, Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup>Zavod za kliničku citologiju KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

<sup>4</sup>Zavod za patologiju KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

Pilomatrikom je dobroćudni tumor kožnih adneksa. Najčešće se prezentira kao solitarna bezbolna tvorba u području glave, rjeđe ekstremiteta. U postavljanju dijagnoze od pomoći je citološka pretraga, a definitivna dijagnoza se postavlja patohistološkom analizom. Terapija izbora je kompletna kirurška eksicija, s malom vjerojatnošću lokalnog recidiva.

**Prikaz slučaja:** Desetomjesečno muško dojenče upućeno je pedijatrijskom onkologu od nadležnog pedijatra radi bezbolne tvorbe lijeve sljepoočne regije koju roditelji zamjećuju unatrag mjesec dana i povezuju s ubodom insekta. Kod pregleda je lijevo temporalno vidljiva i palpabilna dobro ograničena tvorba veličine oko 1,5 cm, srednje tvrde konzistencije, djelomično pomicna, bezbolna. Ultrazvučno je prikazana hipoehogena formacija promjera oko 2 cm, koja sugerira granulom. Kraniogram je isključio koštanu destrukciju. Citološkom analizom punktata tvorbe viđene su brojne nakupine sitnijih stanica uz utiskivanje jezgara i bazofilne protruzije citoplazme te mjestimično oskudno ekstracelularne ružičaste supstance, nešto fagocita, limfatičnih stanica, granulocita, oskudno kalcificiranog detritusa, po koja skvama i pločasta stanica, temeljem čega je postavljena sumnja na pilomatrikom. Učinjena je ekstirpacija tvorbe. Patohistološki nalaz je potvrdio benignu adneksalnu leziju koja odgovara pilomatrikom. Dvije godine nakon ekstirpacije dječak je bez znakova recidiva.

**Zaključak:** Na pilomatrikom treba misliti u diferencijalnoj dijagnozi solitarnih adneksalnih tumora u djece. Citološka analiza punktata tvorbe s nalazom primitivnih bazaloidnih stanica visokog omjera jezgre i citoplazme, s bazofilnim protruzijama citoplazme, fagocita, granulocita, orijaških stanica stranog tijela, kalcifikata i detritusa upućuje na dijagnozu, no moguća je pogrešna interpretacija. Mogućnost recidiva, iako mala, postoji, te je indicirano praćenje.

## **OCULAR MELANOMA *IN SITU***

**37**

**Ankica Vasilj, Sandra Kojić Katović**

Department of cytology, "Sestre Milosrdnice" University Hospital Center, Zagreb, Croatia

---

Cytology brushing has been widely used as a method for evaluating the ocular surface and superficial cell layers in the diagnosis and follow-up of several ocular surface tumors of both epithelial and melanocytic origin. Lesions of melanocytic origin are as common as epithelial tumors and include conjunctival racial melanosis, primary acquired melanosis (PAM), secondary melanosis, nevus and melanoma.

**Case report:** A 46 year old man, with an irregular pigmented lesion of the higher eyelid margin of the right eye simulating malignant tumor, was treated surgically based on the results of biopsy and diagnosed with secondary melanosis by histology 14 years ago. After 10 years the patient has returned with the same clinical picture. The eye was treated surgically and had histopathological confirmation of the melanoma *in situ* or atypical melanocytic hyperplasia with high risk for developing conjunctival melanoma. After three years the patient reappeared with pigmented lesion on the bulbar conjunctiva of the right eye temporal quadrant. Conjunctival congestion was noted adjacent to the lesion. Left eye was normal. There was no lymphadenopathy and systemic examination was within normal limits. Brush cytology was performed. The lesion was scraped gently with the help of sterile spatula. Smears revealed atypical melanocytic cells with an irregular nuclear chromatin pattern and the presence of large nucleoli. Observation of mitosis and anisokaryosis in cells containing melanin were regarded as cytological features of malignancy and cytology finding suggests melanoma *in situ*.

**Conclusion:** Exfoliative cytology could help ophthalmologists in clinical decision making obviate the need for more invasive biopsy procedure for primary diagnosis and diagnosis of recurrence.

## ULOGA CITOLOGIJE U DIJAGNOSTICI OFTALMOLOŠKIH LEZIJA *THE ROLE OF CYTOLOGY IN THE DIAGNOSIS OF OPHTHALMIC LESIONS*

38

<sup>1</sup>Roberta Rubeša-Mihaljević, <sup>1</sup>Morana Dinter, <sup>1</sup>Damjana Verša-Ostojić,  
<sup>1</sup>Snježana Štemberger-Papić, <sup>2</sup>Maja Novak Stroligo, <sup>2</sup>Tamara Mišljenović Vučerić,  
<sup>1</sup>Danijela Vrdoljak-Mozetič

<sup>1</sup>Zavod za kliničku citologiju, Klinički bolnički centar Rijeka, Rijeka, Hrvatska

<sup>2</sup>Klinika za oftalmologiju, Klinički bolnički centar Rijeka, Rijeka, Hrvatska

**Cilj:** Citologija je sve više prihvaćena u oftalmologiji kao vrlo uspješna dijagnostička metoda. Citološki postupci su jednostavni, sigurni i neinvazivni, osobito korisni u slučajevima kada samo klinički pregled nije dovoljan za postavljanje dijagnoze. Citologija omogućava brzo dijagnosticiranje lokalno agresivnih bolesti kao i pravilno planiranje terapijskog postupka.

**Materijali i metode:** Analizirani su citološki uzorci pacijenata s lezijama oka ili vjeđe obrađivanih na Klinici za oftalmologiju, KBC-a Rijeka u razdoblju od jedne godine. Ukupno je analizirano dvanaest uzoraka dobivenih struganjem, metodom otiska ili aspiracijskom puncijom. Analizirana je prisutnost upalnih, ne-neoplastičnih ili neoplastičnih promjena te uspoređena citološka i histološka diagnoza.

**Rezultati:** Među ne-neoplastičnim lezijama tri klinički suspektna tumora vjeđe potvrđena su citološki i histološki kao upalne promjene i reaktivni limfni čvor. Rijedak slučaj kronične upale suznog kanala koja nije dokazana mikrobiološki, identificirana je citološki kao aktinomikotična infekcija. U skupini neoplastičnih promjena tri slučaja bazocelularnog karcinoma vjeđe dijagnosticirani su kao primarni tumor ili recidiv te jedan slučaj karcinoma pločastih stanica rožnice. Bolesnik s obostranim periorbitalnim edemom sugestivnim za Wegenerovu granulomatozu nije potvrđen citološki.

**Zaključak:** Citološke metode omogućuju razlikovanje benignih od malignih oftalmoloških lezija, kao i primarnih tumora od recidiva ili metastaza. Citologija je važna tijekom kliničke obrade te u praćenju bolesnika. Zbog specifičnog smještaja očnih lezija kao i mogućnosti pojavljivanja širokog spektra bolesti precizna dijagnostika zahtijeva blisku suradnju između oftalmologa i citologa.

## SARKOM INTERDIGITALNIH DENTRITIČKIH STANICA U INTRAMAMARNOM LIMFНОM ČVORU – PRIKAZ SLUČAJA

39

<sup>1</sup>Rajković Molek Koraljka, <sup>2</sup>Lučin Ksenija, <sup>2</sup>Avirović Manuela

<sup>1</sup>Zavod za kliničku citologiju, Klinički bolnički centar Rijeka, Rijeka, Hrvatska

<sup>2</sup>Zavod za patologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

---

Sarkom interdigitalnih dentritičkih stanica je vrlo rijedak tumor koji se prvenstveno javlja kao solitarni tumor u limfnom čvoru, rjeđe ekstranodalno ili kao proširena bolest.

**Prikaz slučaja:** Prethodno zdrava 52 godišnja bolesnica prezentirala se čvorom u aksilarnom nastavku lijeve dojke koji se pratio godinu dana ultrazvučno nakon čega je punktiran. U punktatu se se nalazilo mnoštvo limfatičnih stanica uz rijetke manje grupice ili pojedinačne krupne polimorfne stanice hiperkromatskih jezgri, neupadljivih nukleola, obilnije svjetlobazofilne citoplazme uz po koju multinuklearnu stanicu. Citološki nalaz glasio je limfatično tkivo uz nešto malignih stanica nejasnog porijekla. Operativnim zahvatom odstranjeno je sedam limfnih čvorova od čega su tri sadržala tumorski infiltrat građen od vretenastih i dijelom od stanica epiteloidnog izgleda koje su bile panCK-, CK5/6-, CK7-, GCDFP-, GATA3-, p63-, S100+, vimentin+, HMB45-, Melan A-, WT1-, EMA žarišno+, CD10 žarišno+, SMA-, CD31-, CD34-, napsin-, TTF-, calretinin-, CD1a fokalno+, CD21-, CD23-, LCA fokalno+. PET-CT-om se postoperativno ne nalazi metabolički aktivne proširene maligne bolesti.

**Zaključak:** Limfni čvorovi česta su mjesta citoloških punkcija pa je u slučaju nalaza malignih stanica nejasne diferencijacije potrebno pomisliti i na ovaj rijetki primarni maligni tumor limfnog čvora.

# TUMOR BLASTIČNIH PLAZMACITOIDNIH DENDRITIČKIH STANICA (LEUKEMIJSKA FAZA)

## *BLASTIC PLASMACYTOID DENDRITIC CELL NEOPLASM (LEUKAEMIC PHASE)*

40

**<sup>1</sup>Dinka Šundov, <sup>1</sup>Antonia Pavlović, <sup>2</sup>Jelena Srbljin, <sup>1</sup>Dragana Kvasina Vrličak,  
<sup>1</sup>Ivana Karaman**

<sup>1</sup> Klinički zavod za patologiju, sudska medicinu i citologiju, KBC Split, Split, Hrvatska

<sup>2</sup> Odjel za patologiju, citologiju i sudska medicinu, OB Zadar, Zadar, Hrvatska

**Uvod:** Tumor blastičnih plazmacitoidnih dendritičkih stanica (TBPDS) je rijedak klinički agresivan tumor nepoznate etiologije. Uz asimptomatske kožne lezije bolest zahvaća limfne čvorove, koštanu srž i perifernu krv (fulminantna leukemijska faza). U 10-20 % slučajeva udružen je s ili prelazi u mijelomonocitnu ili akutnu mijeloičnu leukemiju (sekundarna leukemija).

**Prikaz slučaja:** 57-godišnji muškarac hospitaliziran je zbog jakog inspiratornog stridora, gubitka težine, noćnog znojenja te multiplih lividnih makula promjera do 2 cm po prsnom košu i trbuhu. Dvije godine ranije dijagnosticiran mu je kožni TBPDS desne podlaktice bez znakova diseminacije, a četiri godine ranije kronični mijeloproliferativni sindrom (Ph negativan, JAK 2 negativan). Sadašnjom obradom utvrđena je sistemska limfadenopatija, hepatosplenomegalija, leukocitoza i trombocitopenija. U aspiratu koštane srži nađene su umnožene atipične, nezrele, srednje velike stanice, okruglih te dijelom nepravilnih konvolutnih jezgara i oskudne bazofilne citoplazme s vidljivim mikrovakuolama. Nezrele stanice su POX i NSE negativne, PAS pozitivne, CD34, TdT i CD117 negativne, CD4 pozitivne uz po koju CD56 pozitivnu stanicu. Izražene su i displastične promjene na megakariocitima. Citološkom analizom aspirata postavljena je sumnja na leukemijsku transformaciju TBPDS. Protočnom citometrijom potvrđeno je da populacija nezrelih stanica ne odgovara sekundarnoj leukemiji nego CD4+CD56+CD123+HLADR+ plazmacitoidnim dendritičkim stanicama.

**Zaključak:** TBPDS je agresivna hematološka neoplazma koja progredira u fulminantnu leukemijsku fazu, ali u slučajevima koegzistencije s kroničnom mijeloproliferativnom bolesti može progredirati i u sekundarnu akutnu leukemiju. Citomorfologija s dodatnom citokemijskom i imunocitokemijskom analizom ključna je stepenica u multidisciplinarnom pristupu i usmjeravanju daljnje obrade u dijagnostici hematoloških neoplazmi.

# CITOLOGIJA KAO DIJAGNOSTIČKI ALAT U PRIMARNOM I RECIDIVNOM TUMORU MEKOG TKIVA: SLUČAJ LEIOMIOSARKOMA SJEMENOVODA

41

<sup>1</sup>Roberta Šarkanji-Golub, <sup>2</sup>Ankica Vasilj, <sup>3</sup>B.Pigac, <sup>2</sup>Sandra Kojić Katović,  
<sup>2</sup>Ivana Miše

<sup>1</sup>Dom zdravlja Zagreb Centar, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>KBC „Sestre milosrdnice”, Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup>OB Varaždin, Varaždin, Hrvatska

Liemiosarkomi su zločudni tumori porijekla glatkomosičnih stanica, koji čine 5-10 % svih zločudnih tumora mekog tkiva. Paratestikularni čine 0,8 % svih sarkoma, mogu nastati u sjemenovodu, skrotumu ili epididimisu, a petinu njih čine leiomiosarkomi sjemenovoda. Najčešće se leiomiosarkomi javljaju u skrotumu, a vrlo rijetko se tumor prezentira preponskom masom. Preponske regije su sijelo različitih vrsta dobroćudnih i zločudnih tumora te netumorskih tvorbi.

**Prikaz slučaja:** Muškarac u dobi od 41 godine dolazi zbog tvrde, bezbolne, za podlogu fiksirane tvorbe u lijevoj preponi. UZV nalaz opisuje hipodenznu heterogenu formaciju 39x42 mm otvorene etiologije, uz vanjski preponski otvor lijevo. Učinjena je punkcija tankom iglom opisane tvorbe pod kontrolom UZV-a. U osrednje celularnim razmazima nađene su pojedinačne vretenaste stanice izduženih jezgara zaobljenih rubova, mjestimice multinuklearnih i polimorfnih, uz po koju stanicu tipa osteoklasta, na osnovu čega je postavljena citološka dijagnoza: maligni mezenhimalni tumor-sarkom. Bolesnik je operiran, a patohistološka dijagnoza glasila je leiomiosarkom sjemenovoda, gradus 2. U postupku postoperativnog praćenja citološka punkcija je u dva navrata bila negativna, a nakon četiri i pol godine od dijagnoze citološkom punkcijom dijagnosticiran je lokalni recidiv osnovne bolesti.

**Zaključak:** Citološka dijagnoza malignog mezenhimalnog tumora u slučaju našeg bolesnika omogućila je adekvatni i pravovremeni terapijski postupak čime se potvrđuje nezaobilazno mjesto citološke dijagnostike primarnih i sekundarnih tumora preponske regije.

## VAŽNOST CITODIJAGNOSTIKE URINA U BK VIRUSNOJ INFECIJI BUBREŽNOG PRESATKA

42

<sup>1</sup>Christophe Štemberger, <sup>2</sup>Gordana Đorđević, <sup>3</sup>Martina Pavletić Peršić

<sup>1</sup>Zavod za kliničku citologiju, Klinički bolnički centar Rijeka, Rijeka, Hrvatska

<sup>2</sup>Zavod za patologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

<sup>3</sup>Klinika za internu medicinu, KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

Imunosupresivno liječenje je rizik za pojavu oportunističkih infekcija u bolesnika s transplantiranim bubregom. Poliomavirusna nefropatija uzrokovana BK virusom predstavlja jednu od značajnijih infektivnih komplikacija i uzroka gubitka transplantata s različitom prevalencijom od 1-10 %. Dijagnoza se temelji na otkrivanju virusa ili njegovih učinaka u urinu, krvi i bubrežnom tkivu. U novije vrijeme, kombinacija ranog otkrivanja, dijagnostike i liječenja daje bolje rezultate u preživljavanju presatka.

Cilj je bio potvrditi važnost citologije urina koja ukazuje na rizik od moguće polioma virusne infekcije transplantata s potrebom daljnje dijagnostike.

**Prikaz slučaja:** Prikazali smo slučaj 49-godišnje pacijentice s transplantatom bubreга starim 11 mjeseci bioptirane zbog poremećaja funkcije presatka, s uputnom dijagnozom recidivirajućih uroinfekcija ili moguće krize odbacivanja. Citološki nalaz „decoy“ stanica u urinu sa sumnjom na BKV nefropatiju dobio je potvrdu u bioptičkom uzorku testiranom imunohistokemijski s pozitivnom reakcijom za SV40 u brojnim jezgrama tubularnih stanica.

**Zaključak:** Značajke polioma virusnih nefropatija koje ukazuju na aktivnu infekciju su BK viremija i virurija te pojava „decoy“ stanica u urinu. Citodijagnostika urina kao neinvazivna pretraga je tako nezaobilazna metoda rane dijagnostike i praćenja u ovom poremećaju funkcije transplantata.

## CITOMORFOLOGIJA URINA U BOLESNIKA S POLIOMA VIRUS STANICAMA (PVS)

43

Leila Perković, Mirna Sučić, Nives Ljubić, Dunja Ivanović, Fabijan Knežević

Zavod za patologiju i citologiju, KB „Sveti Duh“, Zagreb, Hrvatska

Infekcija s poliomavirusom (PV) događa se najčešće već u djetinjstvu, tako da 97 % odrasle populacije ima protutijela na PV. Virus ostaje latentan, a nakon reaktivacije PV ili superinfekcije najčešće se u urinu nalaze stanice s citopatskim promjenama jezgre – PVS ili DC stanice (*od engl. decoy cells*) te često i simptomi hemoragičnog cistitisa (HC).

**Cilj rada** je bio analizirati citomorfologiju urina i SV40 antigen PV u bolesnika s citomorfološkim znacima upale mokraćnog mjeđura s PV.

**Ispitanici i metode:** U 16 bolesnika citomorfološki je analiziran sediment urina nakon Pappenheim i imunocitokemijskog bojenja za SV40.

**Rezultati:** PVS su nađene u 1,9 % naših bolesnika (16 od 859) tijekom 3 mjeseca. U svih 16 bolesnika nađene su najčešće i najspecifičnije PVS-I (velika, hiperkromatska jezgra s dvostrukom membranom), u 3 bolesnika nađena je po koja PVS-IV (vezikularna jezgra s mjestimice nakupinama kromatina), a samo u po jednog bolesnika nađena je po koja PVS-II (inkluzije u jezgri- poput inkluzija citomegalo virusa) i PVS-III (multinuklearne hiperkromatske jezgre). Stanice urotela s citoplazmatskim inkluzijama koje se ponekad nalaze uz PVS nisu nađene u naših bolesnika. U svih 16 bolesnika granulociti nisu bili brojni, 6 bolesnika imalo je eritrocituru, a samo 2 bolesnika su imala teže simptome HC. U 4 bolesnika analiziran je SV40 u urinu. SV40 bio je pozitivan u jezgrama PVS u urinu samo jednog bolesnika s HC liječenog kemoterapijom zbog tumora pluća.

**Zaključak:** Prepoznavanje PVS i analiza SV40 omogućuju citomorfološku dijagnostiku PV cistitisa te također izbjegavanje pogrešne dijagnoze tumorskih stanica. Dobro je citomorfološki nalaz PVS te pozitivan nalaz za SV40, kao i svaku sumnju na PV cistitis potvrditi molekularnom analizom koja je zlatni standard dijagnostike PV infekcije.

## DIJAGNOSTIČKA VRIJEDNOST CITOLOGIJE UROTRAKTA U KBC OSIJEK PRIJE „PARIŠKE KLASIFIKACIJE“

<sup>1,2</sup>**Valerija Miličić**, <sup>3</sup>Ivana Prvulović, <sup>4</sup>Iva Mardešić, <sup>1,5</sup>Igor Tomašković, <sup>1</sup>Tea Zelić,  
<sup>1</sup>Vjenceslav Martinek

44

<sup>1</sup>Medicinski fakultet, Sveučilište u Osijeku, Osijek, Hrvatska

<sup>2</sup>Klinički zavod za kliničku citologiju, Klinički bolnički centar Osijek, Osijek, Hrvatska

<sup>3</sup>Odjel za patologiju i citologiju, OB J. Benčević, Slavonski Brod, Hrvatska

<sup>4</sup>Odjel za patologiju i citologiju, OB Vinkovci, Vinkovci, Hrvatska

<sup>5</sup>Klinika za urologiju, KBC „Sestre milosrdnice“, Zagreb, Hrvatska

**Cilj:** Utvrditi dijagnostičku vrijednost urinarne citologije ovisno o stupnju diferenciranosti tumora, odrediti korelaciju citološke i histološke dijagnoze ovisno o izgledu tumora (*flat* ili papilarna neoplazma) te prisustvu/odsustvu invazije.

**Materijal i metode:** Retrospektivnom je studijom obuhvaćeno 10.717 pacijenata u kojih je na Kliničkom zavodu za kliničku citologiju KBC Osijeku u devetogodišnjem razdoblju učinjen citološki pregled urina. Nalazi su klasificirani u tri dijagnostičke kategorije: benigno, diskariotične stanice te suspektno/maligno. Citološki nalazi koji opisuju atipične stanice urotela nisu izdvojeni kao posebna dijagnostička kategorija, budući da isti odgovaraju reaktivnim promjenama urotela i svrstani su u benignu kategoriju. Patohistološki nalazi (ukupno 283) učinjeni su na Kliničkom zavodu za patologiju i sudsku medicinu KBC Osijek i opisani u skladu s Koncenzusnom klasifikacijom urotelialnih neoplazmi WHO/ISUP 1998.

**Rezultati:** Osjetljivost citologije za otkrivanje *high grade* lezija iznosi 84 %, specifičnost 99,7 %, a pozitivna prediktivna vrijednost 77,1 %. Ispravno prepoznato malignim je 97,4 % *flat lezija*, a u 2,6 % slučajeva opisane su diskariotične stanice. Papilarne *low grade* neinvazivne lezije nisu prepoznate u 86,4 % slučajeva. Citološki je otkriveno 87,7 % invazivnih i 29,8 % neinvazivnih lezija (što govori u prilog da citologu pri postavljanju maligne dijagnoze odluku značajno olakšava prisustvo maligne dijateze uz postojanje kriterija za malignost na samim stanicama urotela).

**Zaključak:** Rezultati potvrđuju visoku dijagnostičku vrijednost urinarne citologije za *high grade* lezije, bolju korelaciju citološke i histološke dijagnoze kod *flat* lezija u odnosu na papilarne lezije, te kod invazivnih lezija u odnosu na neinvazivne.

## **UČESTALOST I ZNAČAJ NALAZA ATIPIČNIH UROTELNIH STANICA U CITOLOŠKIM UZORCIMA URINA U O.B. DR. J. BENČEVIĆ, SLAVONSKI BROD U JEDNOGODIŠNJEM PERIODU**

**45**

**Maja Mišić, Ljubica Fuštar-Preradović, Ivana Prvulović, Rea Taradi**

Odjel za patologiju i citologiju, O.B. Dr. J. Benčević, Slavonski Brod, Hrvatska

**Cilj:** Odrediti učestalost nalaza atipičnih urotelnih stanica u citološkim uzorcima urina, utvrditi njihov značaj usporedbom s patohistološkim nalazima i nalazima urološke dijagnostičke obrade, te revidirati postojeće citološke nalaze u skladu s Pariškom klasifikacijom citologije urina.

**Materijali i metode:** Proveli smo retrospektivnu studiju analizom računalne baze podataka i revizijom citoloških uzoraka sedimenta urina uzetih kroz tri dana u O.B. J. Benčević, Slavonski Brod tijekom 2015. g. u kojima su nađene atipične i maligne urotelne stanice. Uzorci su bojani May-Grünwald-Giemsa i Papanicolaou metodama.

**Rezultati:** Tijekom 2015.g. učinjena je citološka analiza 1467 uzoraka spontano izmokrenog urina i 13 uzoraka separativnih urina iz uretera, kod ukupno 1209 pacijenata. Maligne stanice nađene su u 60 uzoraka, što je patohistološki potvrđeno u 42 (70 %) slučaja. Udio nalaza abnormalnih stanica urotela, ali bez sigurnih znakova maligniteta iznosio je 6,89 %, od kojih je u 26,5 % slučajeva daljinom dijagnostičkom obradom potvrđen karcinom. U 33 uzorka citološkom analizom nađena je blaga atipija ili diskarioza stanica urotela, a u 3 pacijenta je potvrđen karcinom. U 54 uzorka je nađena umjerena atipija, teža atipija ili suspektni karcinom, koji je potvrđen u 23 slučaja. Od 15 uzoraka u kojima je citološki utvrđena papilarna proliferacija stanica urotela, kod samo jednog pacijenta je patohistološki verificiran karcinom.

**Zaključak:** Učestalost nalaza atipičnih urotelnih stanica u citološkim uzorcima urina u našem laboratoriju u skladu je s podacima iz svjetske literature. S ciljem poboljšanja usmjerenja daljnje dijagnostičke obrade i liječenja pacijenata, bilo bi korisno prilagoditi terminologiju Pariškoj klasifikaciji citologije urina.

## CITOLOGIJA U DIJAGNOSTICI PAPILARNIH *LOW GRADE* LEZIJA UROTELA

<sup>1</sup>Iva Mardešić, <sup>2,3</sup>Valerija Miličić, <sup>4</sup>Ivana Prvulović, <sup>2,5</sup>Igor Tomašković, <sup>6</sup>Iva Bobuš,  
<sup>2</sup>Tea Zelić

46

<sup>1</sup>Odjel za patologiju i citologiju, OB Vinkovci, Vinkovci, Hrvatska

<sup>2</sup>Medicinski fakultet, Sveučilište u Osijeku, Osijek, Hrvatska

<sup>3</sup>Klinički zavod za kliničku citologiju, Klinički bolnički centar Osijek, Osijek, Hrvatska

<sup>4</sup>Odjel za patologiju i citologiju, OB J. Benčević, Slavonski Brod, Hrvatska

<sup>5</sup>Klinika za urologiju, KBC „Sestre milosrdnice“, Zagreb, Hrvatska

<sup>6</sup>Klinika za tumore, KBC „Sestre milosrdnice“, Zagreb, Hrvatska

**Cilj:** Utvrditi udio citološki ispravno dijagnosticiranih papiloma te *low grade* karcinoma urotela u Kliničkom zavodu za kliničku citologiju KBC Osijek te Odjelu za patologiju i citologiju OB Vinkovci tijekom 2015. godine te učiniti reviziju dostupnih uzoraka uvažavajući kriterije *Pariške klasifikacije* za urinarnu citologiju.

**Materijal i metode:** Retrospektivnom je studijom obuhvaćeno 30 ispitanika kojima je tijekom 2015. godine na Zavodu za citologiju KBC Osijek i Odjelu za citologiju OB Vinkovci učinjen pregled urina te je zatim tijekom cistoskopije uzet uzorak za patohistološku verifikaciju i utvrđena papilarna lezija urotela (papilom, papilarna neoplazma niskog malignog potencijala – PUNLMP, *low grade* neinvazivni papilarni karcinom-LGniPUC ili *low grade* papilarni invazivni karcinom – LGPUC).

**Rezultati:** Citološkim pregledom urina nije uočeno ukupno 25 (83 %) papilarnih lezija urotrakta (4 papiloma, 2 PUNLMP, 18 LGniPUC, 1 LGPUC), a dijagnosticirano je samo 5 lezija. Citološki suspektnim opisani su 1 PUNLMP i 2 LGniPUC, a malignim 2 LGniPUC. Revizijom dostupnih uzoraka nisu uočeni propusti u postavljanju citološke dijagnoze.

**Zaključak:** Rezultati potvrđuju već poznatu insuficijentnost citologije u dijagnostici *low grade* lezija urotrakta, ali to ne umanjuje ulogu citologije urina u zbrinjavanju uroloških bolesnika obzirom da je ona jedina neinvazivna metoda za detekciju *high grade* urotelialnih karcinoma, što ostaje njezina prednost. Budući da su revizijom sve negativne dijagnoze potvrđene potrebno je uložiti dodatni napor za pronalaženje adekvatnijeg načina pripreme uzorka koji bi pridonijeo celularnosti uzorka te eventualno na taj način utjecao na povećanje osjetljivosti citologije u detekciji *low grade* lezija.

## CERVICAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA IN URINARY BLADDER WASHING: A CASE REPORT

47

Andreja Legen, Helena Gutnik, Margareta Strojan Fležar

Institute of Pathology, Faculty of Medicine, University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

**Objective:** The association between human papillomaviruses (HPV) infection and the development of cervical squamous cell carcinoma (SCC) is well established, however there is no evidence of its role in the development of primary SCC of the urinary bladder. The biomarker p16 which is used to confirm the HPV related cervical SCC may be expressed in primary urinary bladder SCCs however its expression is not HPV related. We present a case of cervical SCC infiltrating the urinary bladder.

**Materials and methods:** Eighty years old female was diagnosed with SCC of uterine cervix. Three months later hematuria occurred and a large tumor mass was seen at cystoscopy. A bladder washing was performed and the sample was filtered and Papanicolaou stained. Immunostaining for p16 was performed.

**Results:** The sample contained malignant cells of oval or polygonal shape with medium abundant dense basophilic or keratinized cytoplasm and enlarged, irregularly shaped and hyperchromatic nuclei, many cells were binucleated. Background contained necrotic debris, erythrocytes and lymphocytes. The nuclei and cytoplasm of malignant cells were immunopositive for p16. Based on all findings the diagnosis of SCC of uterine cervix infiltrating the urinary bladder was made.

**Conclusion:** It is impossible to separate between primary urinary bladder SCC and cervical SCC infiltrating urinary bladder on the basis of cell morphology in urinary cytology samples. The biomarker p16 is not diagnostic in such cases because many primary urinary bladder SCCs express p16 unrelated to HPV infection. So careful evaluation of clinical history is necessary to establish the right diagnosis.

## QUANTITATIVE REAL-TIME PCR (QPCR) MICRORNA PROFILING

**<sup>1</sup>Mariana Kardum Paro Mirjana, <sup>2</sup>Inga Mandac Rogulj, <sup>2</sup>Slobodanka Ostojić Kolonić,  
<sup>3,4</sup>Coralie Hoareau-Aveilla, <sup>3,4</sup>Cathy Quelen, <sup>3,4</sup>Pierre Brousset**

**48**

<sup>1</sup>Department of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine Merkur University Hospital, Zajceva 19, 10000 Zagreb, Croatia

<sup>2</sup>Department of Internal Medicine Merkur University Hospital, Zajceva 19, 10000 Zagreb, Croatia

<sup>3</sup>Université de Toulouse-UPS and Centre National de La Recherche Scientifique, Laboratoire de Biologie Moléculaire Eucaryote, Toulouse, France

<sup>4</sup>IUC-T-Oncopole, Laboratoire d'Anatomie Cytologie Pathologiques, Toulouse, France

**Background:** MicroRNAs (miRNAs) circulate in a highly stable, cell-free form in the blood. Their profiling either in human serum or plasma could be clinically useful in noninvasive molecular diagnostic tumor testing. Prerequisite for developing circulating miRNA-based diagnostics is the ability to measure miRNAs with sufficient sensitivity and efficiency to be clinically effective.

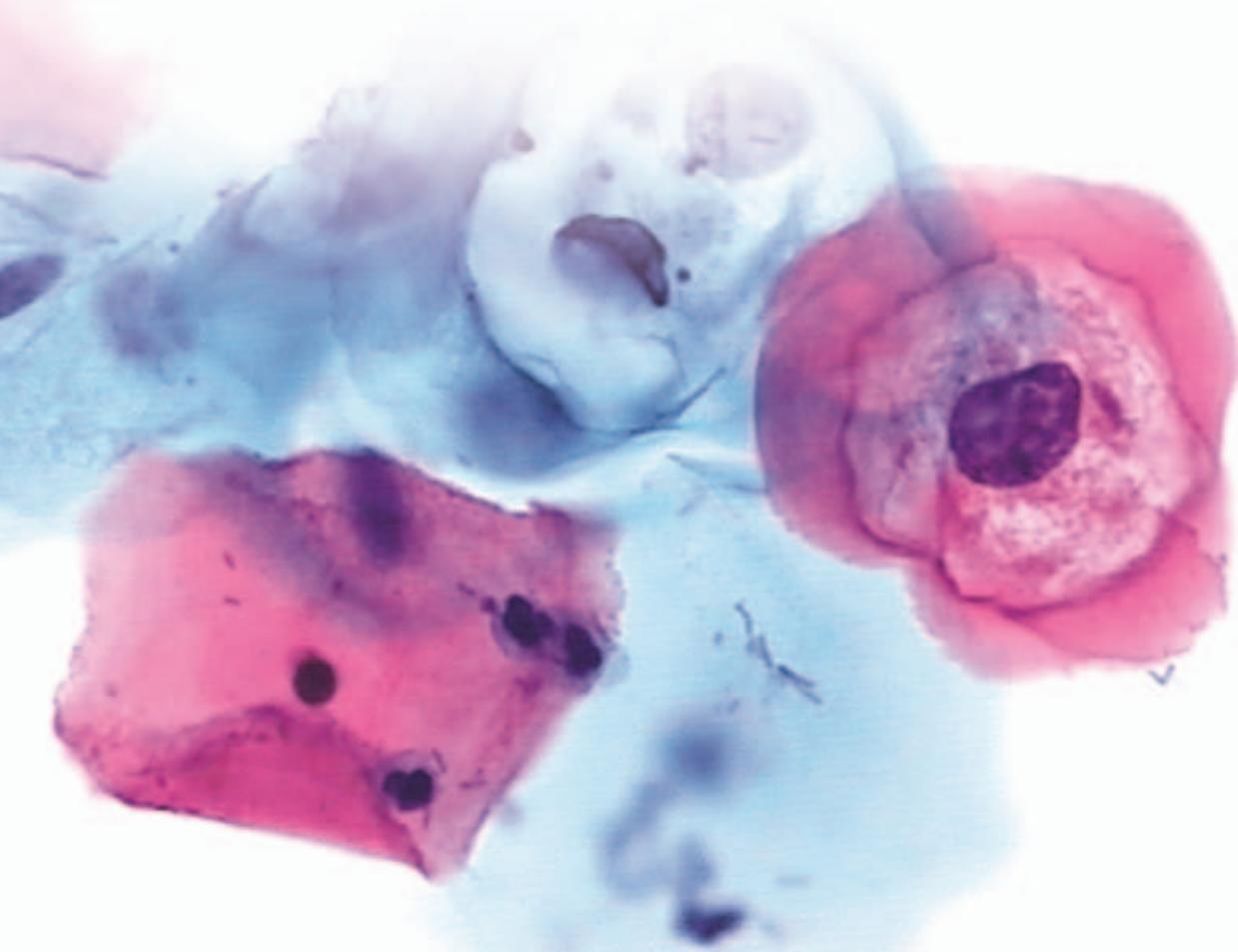
**Aim of the study:** To establish clinically effective miRNA profiling using TaqMan based qPCR platform. Materials and Methods. TaqMan based qPCR profiling for diagnostic purposes was developed in conjunction with Université de Toulouse UPS and Centre National de La Recherche Scientifique. miRNA profiling was done in a molecular laboratory accredited according ISO 15189. From human plasma (4 healthy volunteers and 18 MDS patients) purification (miRNeasy Serum/Plasma Kit, Qiagen) reverse transcription (miScript II RT Kit, Qiagen) and qPCR miRNAs profiling (miScript SYBR Green PCR Kit/Custom miScript miRNA PCR Arrays, Qiagen; ABI 7300, Applied Biosystems) were done. Sample preparation was monitored by miRNeasy Serum/Plasma Spike-In Control (Qiagen). miRNA RT control assay (miRTC) and positive PCR control (PPC) were also used to determine the presence of RT and PCR inhibitors. Data normalization (cell-miR-39-3p) and data analysis (web-based software) were done according to the manufacturer instructions (Qiagen).

**Results:** Dissociation curves with a single peaks indicated presence of specific amplification products without primer dimers. Each miScript miRNA PCR Array has been verified by the producer to ensure dynamic range/sensitivity. The calculated R<sup>2</sup> was 0,913 and slope -2,998. With the recommended Ct cut-off set at 35 qPCR array reproducibility and RT efficiency were satisfactory. The data collected from two independent runs were normalized by the cell-miR-39 as a reference gene. No statistically significant differences of miRNAs expression levels between healthy volunteers and MDS patients were observed (*hsa-miR-125a = 0.5184; hsa-miR-99b = 0.2626; hsa-miR-126 = 0.4024; hsa-miR-125b = 0.1227*). In MDS all miRNAs were up regulated, but not over 2-fold change of healthy volunteers (*hsa-miR-125a = 1.72; hsa-miR-99b = 1.43; hsa-miR-126 = 1.40; hsa-miR-125b = 0.72*).

**Conclusions:** Proper qPCR controls and data normalization eliminated technical differences that may be due to miRNA quality and assured clinically effective miRNA profiling for diagnostic purposes in MDS.

SATELITSKI SIMPOZIJ: TAKEDA /

*SATELLITE SYMPOSIUM: TAKEDA*



# PROGNOSTIČKA VRIJEDNOST, KVANTIFIKACIJA I STANDARDIZACIJA TESTIRANJA EKSPRESIJE CD30 BILJEGA U LIMFOMIMA

Nives Jonjić

Zavod za patologiju KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska

CD30 je transmembranski glikoproteinski receptor, član *tumor necrosis factor receptor* (TNFR) obitelji, prepoznat kao antigen povezan s aktivacijom limfocita. Ovisno o tipu stanice s izraženim CD30 biljegom i o mikrookolišu, CD30 signaliziranje preko MAP-kinazne ili NF-κB kinazne kaskade može rezultirati pojačanom proliferacijom i preživljavanjem stanica, promjenama imunog odgovora i povećanoj osjetljivosti na apoptozu. Krvne stanice s CD30 izražajem uključuju NK stanice, aktivirane B- i T-limfocite, aktivirane monocite i makrofage te eozinofile. CD30 je visoko izražen u klasičnom Hodgkinovom limfomu i anaplastičnom velikostaničnom limfomu (ALCL), uključujući i kutanu formu ALCL. Ekspresija CD30 kod B-staničnih limfoma prikazana je u difuznom B-velikostaničnom limfomu kod 4-26% slučajeva, povezana s boljom prognozom (uz prognostički značaj i najnižeg detektibilnog CD30 pozitiviteta kod DLBCL limfoma germinalnog centra). CD30 ekspresija opisana je i kod folikularnog limfoma (36 – 50 % slučajeva) te primarnog mediastinalnog B-staničnog limfoma (69 – 86 % slučajeva). Značajne razine CD30 ekspresije prisutne su u podtipovima T-staničnog limfoma: PTCL-NOS (do 32 %), AITL (do 33 %), EATL (13 – 100 %), ekstranodalnog NK/T-staničnog limfoma (35 – 75 %), transformirane *mycosis fungoides* (24 – 100 %), limfomatoidne papuloze (60 – 100 %) i adultne T-stanične leukemije/limfoma (0 – 38 % slučajeva). Mnogi su izazovi imunohistokemijske CD30 kvantifikacije – od prikupljanja i dostavljanja uzorka, fiksacije, otkrivanja antiga i korištenih protutijela, praćeni znatnim varijacijama tehnike i metodologije između laboratorija. Stoga je potrebna najbolja moguća razina ekspertize, standardizacije i kontrole kvalitete. Točna kvantifikacija CD30 biljega u uvjetima niske ekspresije ostaje nezadovoljena potreba koju može potpomoći računalna multispektralna analiza uzorka, omogućujući veću osjetljivost, detekciju iznad ograničenja ljudskog oka i granica vizualizacije. Dodatno, računalni softver za analizu slike omogućuje simultanu multiparametarsku vizualizaciju više biomarkera na stanicama, korisnu u opisivanju malignih stanica, kao i stanica mikrookoliša. Značajne prognostičke i terapijske implikacije u različitim podtipovima limfoma zahtjevaju osjetljivu i točnu kvantifikaciju niskih razina CD30 ekspresije, katkad uz primjenu vrlo niskih graničnih vrijednosti CD30 pozitiviteta. Međutim, računalom-potpomognuta analiza uzorka ne bi bila limitirana na jedan ili nekoliko biomarkera, već bi omogućila kliničke odluke temeljene na brojnim biomarkerima i terapijskim opcijama koje postaju dostupne u eri individualiziranog ciljanog liječenja limfoma, uključujući CD30 targetirani imunokonjugat te druge imunoterapije.

## LISTA AUTORA

- Agai, Merdita 90, 114  
Alerić, I. 149  
Alfirević, Darko 155  
Aljinović Ratković, N. 64  
Anić, Veronika 133, 134  
Antulov, Jasenka 77, 99  
Aralica, Gorana 83, 97  
Armanda, Višnja 59  
Avirović, Manuela 174  
Babarović, Emina 33, 74  
Babić, Damir 30, 39, 40, 46  
Babić, Antonija 86  
Baburić, M. 140  
Banic, Ivana 85, 87  
Barišić, Ana 39, 40, 46, 111, 112  
Bašić, Dajana 122  
Batinić, Drago 86  
Baus Lončar, Mirela 164  
Baždarić, Danijela 144  
Bedrina Jakičić, Branka 138  
Begovac, Josip 84  
Belovari, Tatjana 164  
Beljan, Lucija 77, 99  
Beljan Perak, Renata 169  
Besser Silconi, Žana 107, 167  
Bilalović, Sandra 136, 137  
Biočić, J. 64  
Bišćanin, Alen 132  
Blatnik, Julija 168  
Blažičević, Valerija 164  
Bobus Kelcec, Iva 90, 114, 181  
Bogdan Pleština, Martina 169  
Bonevski, Aleksandra 58  
Bradić, Tihomir 97  
Brajdić, Davor 64, 65  
Brčić, L. 150  
Brdar, Dubravka 169  
Brnčić-Fischer, Alemka 36, 142  
Brousset, Pierre 183  
Bubendorf, Lukas 68  
Bulat Lokas, Sandra 85, 87  
Buljević, Vedrana 92  
Buljubašić, Ljiljana 108  
Canko, Silvija 128  
Cicvara Pećina, Tatjana 95  
Ciganj, Eda 122  
Cuvaj, Silvio 123, 124  
Čučević, B. 149  
Čulić, Srđana 59  
Ćurić, Josip 97  
Davidović, Sanja 77  
Deduš, Orhideja 148  
Dinter, Morana 33, 35, 42, 45, 53, 125, 144, 173  
Draganović, Sanja 155  
Dubravac, Ivona 108, 147  
Dubravčić, Klara 86  
Đaković, Ivana 108, 147  
Đanić, Davorin 61, 62  
Đanić, Petar 65  
Đorđević, Gordana 177  
Eminović, Senija 35, 43  
Fabijanić, Iris 40, 46, 112  
Flegar-Meštrić, Zlata 72, 80  
Flego, Veljko 152  
Franić-Šimić, Ivana 77  
Friščić, T. 157  
Frković Solomun, Gina 153, 154, 158  
Fröhlich, I. 162  
Fumić, Gordana 130, 131  
Fuštar Preradović, Ljubica 61, 62, 101, 180  
Gabaj, Mirjana 91  
Gašparov, Slavko 72, 80  
Gavranović, Lj. 140  
Gavrić, Ž. 127  
Gjadrov Kuveždić, Koraljka 77, 99  
Glavan Gačanin, Lana 36  
Godler, Đani 155  
Gorenec, Lana 84  
Grbin, Silvija 132, 161  
Gredelj Šimec, Njetočka 70, 78, 80, 81, 157  
Grgić, Franjo 111  
Grgić, Ivana 84

- Gutnik, Helena 168, 182  
 Hadžisejdić, Ita 74  
 Haller, Herman 36  
 Harabajsa, Suzana 119  
 Hauser, Goran 102  
 Herceg, Marijana 161  
 Hoareau-Aveilla, Coralie 183  
 Igrec, Irena 167  
 Irgel, Nina 143  
 Iščić-Beš, Janja 84  
 Ivanović, Dunja 148, 153, 154, 158, 178  
 Jakopović, M. 149, 150  
 Jakovljević, Gordana 58  
 Jelić Puškarić, Biljana 58, 70, 78, 80, 100, 157, 160  
 Jelušić, B. 121  
 Jonjić, Nives 74, 109, 119, 171, 185  
 Jurić, Daniela 39, 40, 46, 111, 112  
 Jurić, Nina 136, 137  
 Juroš, Z. 55, 149  
 Kaić, Gordana 58, 70, 78, 80, 100, 156  
 Kanić, Romina 77, 99  
 Karaman, Ivana 175  
 Kardum Paro, Mirjana Marianna 70, 72, 183  
 Kardum-Skelin, Ika 58, 70, 72, 78, 80, 81, 100  
 Karličić, Vukoica 151  
 Katalenić Simon, Suzana 41, 44, 104, 139, 140, 141, 146  
 Kelečić, Jadranka 86  
 Kirac, Iva 90, 93  
 Klarić, Marko 36, 42  
 Knez, Kornelija 148  
 Knežević, Fabijan 153, 154, 158, 178  
 Kocman, Branislav 100  
 Kojić Katović, Sandra 50, 63, 170, 172, 176  
 Kolak, Toni 97  
 Kovačević, A. 162  
 Kranjčec, Izabela 171  
 Krašević, Maja 45, 142  
 Krivak Bolanča, Ines 34, 41, 44, 104, 139, 140, 141, 146  
 Kučinar, Ilija 167  
 Kujundžić, Milan 97  
 Kukulj, S. 149  
 Kupanovac, Željko 54  
 Kurić, Lejla 86  
 Kursar, Marin 78, 156  
 Kušec, Rajko 83, 97  
 Kušen, Željka 152  
 Kvasina Vrljičak, Dragana 175  
 Lakoš, Gordan 42  
 Lasan-Trčić, Ružica 59, 70, 81  
 Legen, Andreja 182  
 Liv Eide, Maj 117, 133, 134  
 Livajić, Marija 74  
 Lončar, Branka 108, 113, 162  
 Lončar, Iva 33, 120  
 Lonjak, Z. 121  
 Lovrić, Ivana 164  
 Lozić, Bernarda 59  
 Lučin, Ksenija 174  
 Lukić Suknaić, Andreja 91  
 Lukšić, I. 64  
 Ljubić, Nives 148, 153, 154, 158, 178  
 Macan, Marija 30  
 Macan, Darko 64, 65  
 Mahovlić, Vesna 25, 39, 40, 46, 111, 112, 123, 124  
 Mandac Rogulj, Inga 78, 80, 156, 160, 183  
 Mandžo, Julijana 132, 161  
 Manestar, Miljenko 45  
 Manestar Marčelja, Marija 129, 130  
 Manojlović, Spomenka 64, 65  
 Mardešić, Iva 147, 179, 181  
 Maričević, Ivana 159  
 Markanjević, Tina 33, 120  
 Markić, Joško 59  
 Martinek, Vjenceslav 147, 179  
 Martinović, Marko 78  
 Mateša, Neven 48  
 Matić, Iva 125, 144  
 Matušan-Ilijaš, Koviljka 53  
 Meandžija, Robert 130, 131  
 Mičić, Tamara 107  
 Milas, Ivan 94  
 Miličić, Valerija 108, 113, 115, 147, 162, 165, 179, 181  
 Miše, Ivana 105, 106, 132, 159, 161, 176  
 Mišić, Maja 62, 108, 115, 165, 180  
 Mišljenović Vučerić, Tamara 173  
 Molnar Stantić, B. 121

- Moslavac, Sandra 170  
 Muller, D. 64  
 Mustać, E. 129  
 Mustapić, Daniela 124  
 Mužinić, Darija 170  
 Načinović-Duletić, Antica 131  
 Naglić, Gordana 129, 130  
 Nakić, Dinka 28  
 Novak, Nina Petra 95, 83, 163  
 Novak Stroligo, Maja 173  
 Obad-Kovačević, Dragica 100  
 Orešković, M. 121  
 Ostojić Kolonić, Slobodanka 70, 72, 78, 80, 81, 156, 160, 183  
 Ovanin-Rakić, A. 121  
 Pauzar, Biljana 113, 162, 164  
 Pavičić, K. 127  
 Pavić, Tajana 132  
 Pavletić Peršić, Martina 177  
 Pavlović, Antonia 175  
 Pažur, Marina 58, 70, 78  
 Peković, Dragana 151  
 Perić, Marija 108, 113, 162  
 Perković, Leila 148, 153, 154, 158, 178  
 Peroš, K. 166  
 Perović, Danko 35, 36  
 Peruško Kozina, Petra 107, 167  
 Petrović, Damir 111, 112  
 Pigac, B. 170, 176  
 Piljić Burazer, Marina 56, 110  
 Planinc-Peraica, Ana 70, 75, 78, 80, 156, 160  
 Pleština, S. 149, 150  
 Poduje, Vesna 124  
 Polancec, Denis 85, 87  
 Primic Žakelj, Maja, 27  
 Prvulović, Ivana 62, 108, 115, 147, 165, 179, 180, 181  
 Quelen, Cathy 183  
 Radić Krišto, Delfa 70, 78, 80, 160  
 Rajhvajn, Sanda 39, 40, 46, 111, 112  
 Rajković Molek, Koraljka 53, 109, 129, 130, 131, 174  
 Rakek Novak, S. 140  
 Ramljak, Vesna 90, 93, 114, 115  
 Rebolj, Matejka 32  
 Repše Fokter, Alenka 27, 143, 145  
 Rešetar, Renato 125  
 Ries, Sunčica 77, 99  
 Risteska, Zvjezdana 152  
 Ristić, Saša 151  
 Roganović, Jelena 171  
 Roglić, M. 149  
 Ropar, Samija 126, 157  
 Roth, Andrej 93  
 Rubeša-Mihaljević, Roberta 33, 35, 42, 45, 53, 120, 142, 173  
 Rubić, Katica 126  
 Sačer, Marija 91  
 Salobir, L. 145  
 Samaržija, M. 149, 150  
 Santo, Tibor 113  
 Seili-Bekafigo, Irena 73, 109, 129, 130, 131, 171  
 Seiwerth, S. 149, 150  
 Smajić, Emina 136, 137  
 Smojver-Ježek, Silvana 52, 119, 149, 150  
 Srbljin, Jelena 175  
 Srebotnik Kirbiš, Irena 118  
 Staklenac, Blaženka 113, 162  
 Stepan-Giljević, Jasminka 58  
 Stevanović, Siniša 159  
 Stranić, Ljiljana 138  
 Strojan Fležar, Margareta 67, 168, 182  
 Sučić, Mirna 148, 153, 154, 158, 178  
 Šamija Projić, Ivana 39, 40, 46, 111, 112  
 Šapina, Matej 108  
 Šarkanji-Golub, Roberta 159, 170, 176  
 Šentija, Karmela 41, 44, 104, 139, 140, 141, 146  
 Šiftar, Zoran 70, 72, 80  
 Škopljanc-Maćina, Lada 39, 40, 46, 111, 112  
 Škoro, Marjja 41, 80, 83, 95, 100, 146, 163  
 Škuletić, Vesna 151  
 Škurla, Bruno 100  
 Šlaković, Majda 136  
 Šlegl, Sandra 132, 161  
 Šokac Halapir, Željka 123  
 Šoljić, Violeta 155  
 Šramek Zatler, Simona 143, 145  
 Štemberger, Christophe 53, 152, 177  
 Štemberger-Papić, Snježana, 33, 35, 42, 45, 92, 142, 144, 173

- Štimac, Davor 102  
Štoos Veić, Tajana 83, 95, 97, 98, 163  
Šundov, Dinka 169, 175  
Šunjić Stakor, Mia 166  
Švencbir Popovski, V. 140  
Švigir, M. 127  
Tadić, Mario 97, 163  
Taib, Delić 136  
Taradi, Rea 180  
Tatomirović, Željka 151  
Todorović, Jelena 155  
Tolušić Levak, Maja 164  
Tomasović Lončarić, Čedna 83, 95  
Tomašković, Igor 179, 181  
Tomičić, Karlo 112  
Trutin Ostović, Karmen 62, 64, 65, 128  
Turkalj, Mirjana 85, 87  
Tušek, A.M. 127  
Uglešić, V. 64  
Valković, Toni 73, 74  
Vasilj, Ankica 50, 63, 170, 172, 176  
Vejnović, Danilo 36  
Verša-Ostojić, Damjana 33, 35, 42, 45, 120, 142, 144, 173  
Vielih, Philippe 49, 89  
Vilić, M. 121  
Vince, Adriana 84  
Virag, M. 64, 65  
Vrabec Branica, B. 149  
Vrdoljak, Danko Velimir 93  
Vrdoljak Trogrić, Marina 169  
Vrdoljak-Mozetić, Danijela 29, 33, 35, 42, 45, 122, 125, 142, 144, 173  
Vrselja, Nataša 108, 113, 162  
Vujčić, Dunja 108  
Vukelić, Mirjana 163  
Vunić, Ana 122  
Zamolo, Gordana 109  
Zekan, Joško 39, 40  
Zelić, Tea 147, 179, 181  
Zenic, Lucija 85, 87  
Zidovec Lepej, Snjezana 84  
Zovko, Gojko 41  
Živković, Jelena 85, 87  
Županić Krmek, Dubravka 153, 154, 158

**POKROVITELJI:**

Ministarstvo zdravlja Republike Hrvatske  
Klinički bolnički centar Rijeka  
Akademija medicinskih znanosti Hrvatske

**ZLATNI SPONZORI:**

INEL – medicinska tehnika d.o.o.  
QIAGEN

**SREBRNI SPONZORI:**

MEDIC d.o.o.  
MERCK d.o.o.

**SPONZOR SATELITSKOG SIMPOZIJA:**

Takeda Pharmaceuticals Croatia d.o.o.

**SPONZORI I DONATORI:**

Olympus d.o.o.  
Roche d.o.o.  
A&B d.o.o.  
Tamiko instruments d.o.o.  
BOMI-LAB d.o.o.

Branka Molnar-Stantić, dr.med, privatna specijalistička ordinacija medicinske citologije

Boehringer Ingelheim Zagreb d.o.o.  
AstraZeneca d.o.o.  
Turistička zajednica Grada Opatija  
CERTITUDO d.o.o.  
RIDENT  
ALARM AUTOMATIKA  
ALUK TIM  
VENTEX d.o.o.

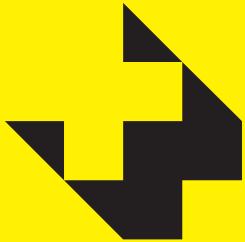
***INEL - medicinska tehnika d.o.o.***

---



---

*Turinina 5, 10010 Zagreb  
Tel: 01 / 6175 150 / 160, e-mail: [info@inel-mt.hr](mailto:info@inel-mt.hr)  
[www.inel-mt.hr](http://www.inel-mt.hr)*



# MEDIC

Vaš partner u medicini  
i dijagnostici

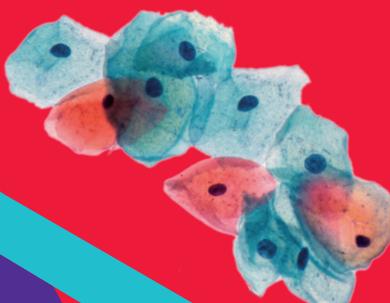
Ovlašteni distributer tvrtke

**MERCK**

MEDIC d.o.o., Trg Dražena Petrovića 3, 10000 Zagreb  
Tel.: +385 1 48 00 111; Fax: +385 1 48 43 626  
E-mail: [kemikalije@medic.hr](mailto:kemikalije@medic.hr), web: [www.medic.hr](http://www.medic.hr)

## CYTODIAGNOSIS staining methods

Differentiating between gynecological and  
non-gynecological material.



**MERCK**



## Vrhunski ergonomski standard

### Klinički mikroskop Olympus BX46

- udobnost i izvedba u učinkovitoj harmoniji rada
- ergonomski dizajn bez konkurencije pri dugom promatranju
- prvi nagibni, teleskopski, podizajući tubus na svijetu
- smanjuje umor i ponavljajuće pokrete
- fiksni ultra niski stolić
- mogućnost brzog slikanja s daljinskim gumbom

**Olympus d.o.o.**

Avenija Većeslava Holjevca 40, 10 000 Zagreb,  
tel: +385 1 4899 000

kresimir.tomicevic@olympus-europa.com  
luka.jugovic@olympus-europa.com  
[www.olympus.hr](http://www.olympus.hr)

# Roche brings clarity to screening, diagnosis and management

## The comprehensive strategy for diagnostic screening

With a portfolio of screening, triage and precancer diagnostic tools, Roche helps enable better patient outcomes by identifying women who can return safely to routine screening, reducing the number of colposcopies per CIN3 cases detected, as well as identifying more disease than current strategies.<sup>6-9</sup>



### REFERENCES:

- 6.** cobas® HPV test [package insert, US]; Branchburg, NJ. Roche Molecular Systems, Inc; 2011;135:468-475. **7.** Petry KU, Schmidt D, Scherbring S, et al. Triaging Pap cytology negative, HPV positive cervical cancer screening results with p16/Ki-67 dual-stained cytology. *Gynecol Oncol*. 2011;121(3):505-509. **8.** Schmidt D, Bergeron C, Denton KJ, et al; European CINtec Cytology Study Group. p16/Ki-67 dual-stain cytology in the triage of ASCUS and LSIL Papanicolaou cytology: results from the European equivocal or mildly abnormal Papanicolaou cytology study. *Cancer Cytopathol*. 2011;119(3):158-166. **9.** Bergeron C, Ordi J, Schmidt D, et al; European CINtec Histology Study Group. Conjunctive p16<sup>Ink4a</sup> testing significantly increases accuracy in diagnosing high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Clin Pathol*. 2010;133(3):395-406.

VEĆ DESETLJEĆIMA VAŠ POUZDAN PARTNER U CITOLOGIJI

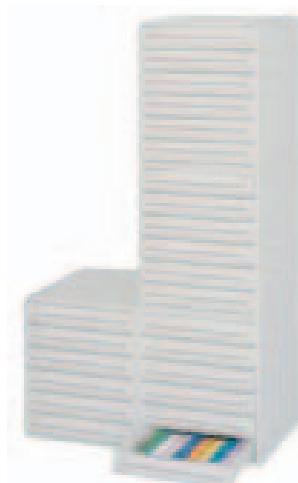


Heinzelova 15a, 10000 Zagreb; tel. 01/2396-880; info@aandb.hr



An Agilent Technologies Company

protutijela i vizualizacijski kitovi,  
oprema i potrošni materijal za  
imunocitokemijska bojanja



oprema i potrošni materijal  
za citologiju





Introducing the  
**ThinPrep®**  
**Pap Test™**



[www.thinprep.com](http://www.thinprep.com)  
email: uk@cytac.com



# CITOLOŠKI LABORATORIJ



**dr. med. Branka Molnar Stantić**  
spec. kliničke citologije

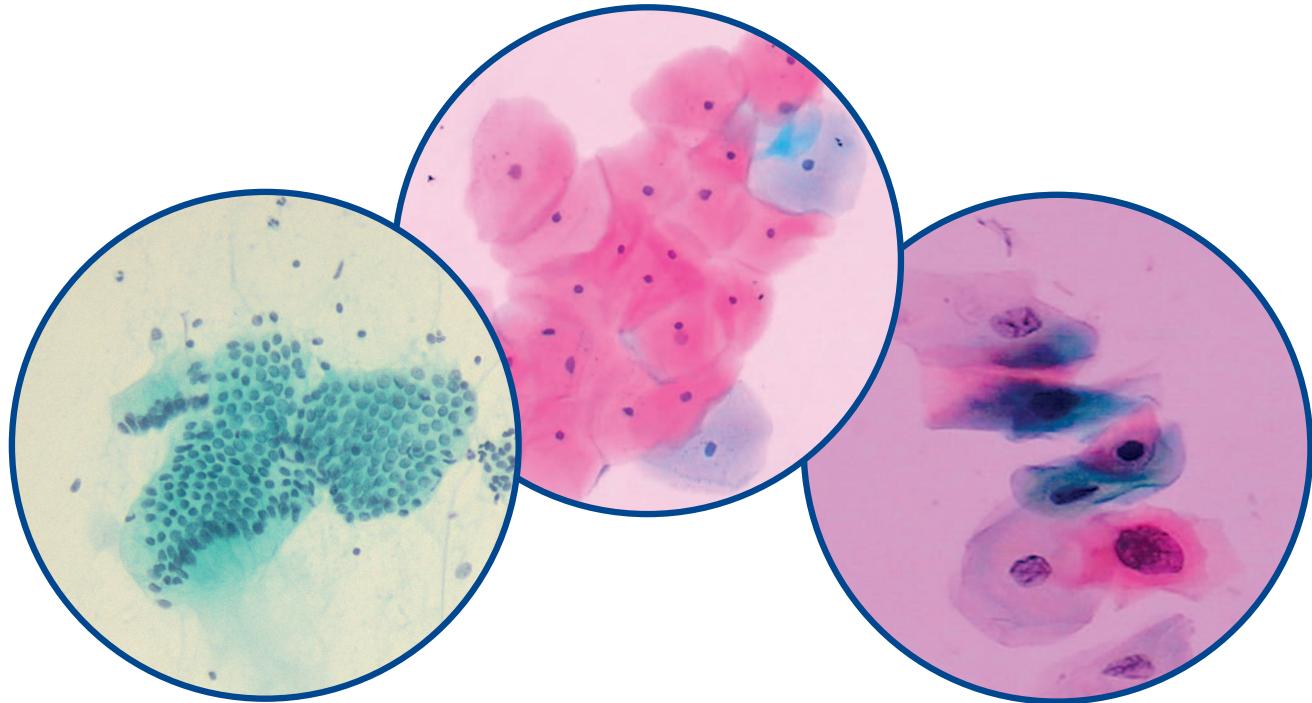
- **10431 Sv. Nedelja •**
- **Stilinovićeva 33 •**

**tel.:01/3880 957**

**fax: 01/3879 528**

**GSM: 091/20 188 25**

**e-mail: laboratorij.info@citologijamolnar.hr**





## AstraZeneca je posvećena napretku u istraživanju karcinoma pluća

- 7-14% uznapredovalih karcinoma pluća nemalih stanica u zapadnjačkoj populaciji ima aktivirajuće mutacije receptora epidermalnog faktora rasta (EGFR)<sup>1-3</sup>
- EGFR tirozin kinazni inhibitori su terapijska opcija za EGFRm+ karcinom pluća nemalih stanica\*<sup>4</sup>
- Većina bolesnika liječenih EGFR tirozin kinaznim inhibitorima će tijekom vremena razviti rezistenciju zbog pojave novih mutacija, od kojih je najčešća T790M<sup>5</sup>
- Kod progresije bolesti, preporuča se učiniti biopsiju i DNA mutacijsku analizu<sup>4,6</sup>

### Reference:

1. Shigematsu H et al. J Natl Cancer Inst 2005; 97:339-346
2. Sekine I et al. Br J Cancer 2008;99:1757-1762
3. Hirsch FR et al. Lancet Oncol 2009;10:432-433
4. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology for NSCLC Version 2.2016
5. Cortot AB et al. Eur Respi Rev 2014; 23:356-366
6. Pao W et al. PLoS Med 2005; 2:225-235

\* EGFRm+ - s pozitivnom mutacijom EGFR

SAMO ZA ZDRAVSTVENE RADNIKE

AstraZeneca

[www.visitopatija.com](http://www.visitopatija.com)

