

# LAST

Bruno Ghiringhello e Francesca  
Maletta

Original Article

The Lower Anogenital Squamous Terminology  
Standardization Project for HPV-associated Lesions:  
Background and Consensus Recommendations From  
the College of American Pathologists and the American  
Society for Colposcopy and Cervical Pathology

Teresa M. Darragh, M.D., Terence J. Colgan, M.D., J. Thomas Cox, M.D., Debra S. Heller, M.D.,  
Michael R. Henry, M.D., Ronald D. Luff, M.D., Timothy McCalmont, M.D., Ritu Nayar, M.D.,  
Joel M. Palefsky, M.D., Mark H. Stoler, M.D., Edward J. Wilkinson, M.D., Richard J. Zaino, M.D.,  
David C. Wilbur, M.D., and For Members of the LAST Project Work Groups

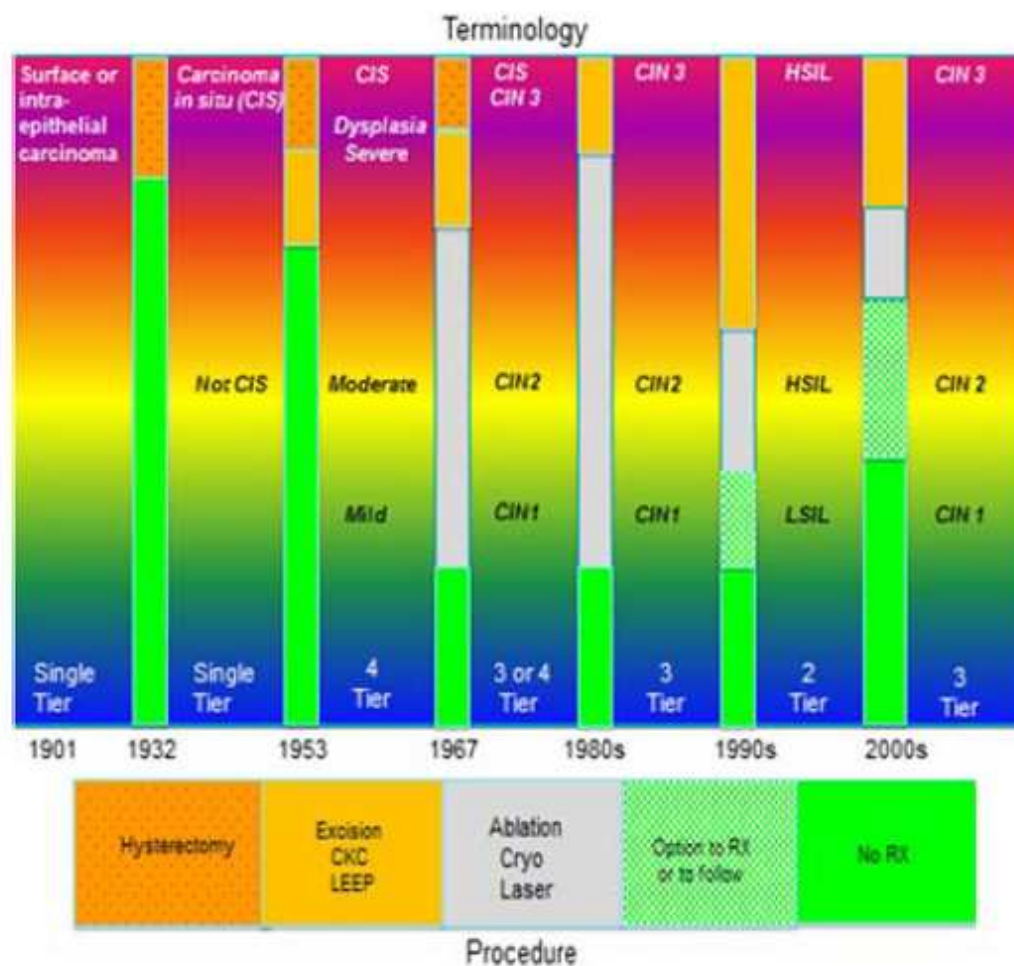
**COLLEGE OF AMERICAN PATHOLOGISTS (CAP)**  
**AMERICAN SOCIETY FOR COLPOSCOPY AND CERVICAL PATHOLOGY**  
**(ASCCP)**

# SCOPO DEL LAVORO

- Ridurre la confusione terminologica riguardo l'insieme delle lesioni squamose del basso tratto ano-genitale associate all'infezione da HPV
- Definizione dei marcatori disponibili
- Proposta di creare una definizione chiara ed univoca, comune a tutte le lesioni HPV-associate, del tratto ano-genitale inferiore

# Terminologia – revisione storica

## LE LESIONI PRE-INVASIVE CERVICALI



## Terminologia – revisione storica

### LE LESIONI INVASIVE PRECOCI CERVICALI

- **Carcinoma microinvasivo** = lesione prevalentemente intraepiteliale con un focus di cellule che invade sotto alla membrana basale nello stroma superficiale
  - Definizione molto controversa:
    - 1947, Mestwerdt: MICROCARCINOMA < 5 mm di profondità di invasione
    - Cambiata la definizione di FIGO IA ben **6 volte in 25 anni**, con terapie consigliate variabili dalla conizzazione all'isterectomia radicale con linfadenectomia
    - Notevole variabilità inter-osservatore nella diagnosi della microinvasione (cut-off diversi, diversi metodi di misurazione, etc...)

# Lesioni squamose intra-epiteliali

## **Raccomandazione #1**

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

# Lesioni squamose intra-epiteliali

## Raccomandazione #2

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

- IN 1 = Lesione di basso grado, auto-limitantesi
- IN 3 = Lesione di alto grado, con il potenziale di progredire verso il carcinoma
- IN 2 = categoria intermedia senza correlato biologico, non distinguibile con certezza sull'H&E, da non usare

(tranne che nelle CIN2 in donne in età riproduttiva, dove si consiglia di usare la terminologia in 2 gradi associata alla categoria CIN in parentesi)

# Lesioni squamose intra-epiteliali

## Raccomandazione #3

La terminologia raccomandata è quindi:

LSIL / HSIL

(che può essere ulteriormente classificata sulla base della categoria -IN più appropriata)

Dato che la terminologia è la stessa di quella utilizzata in citologia, si

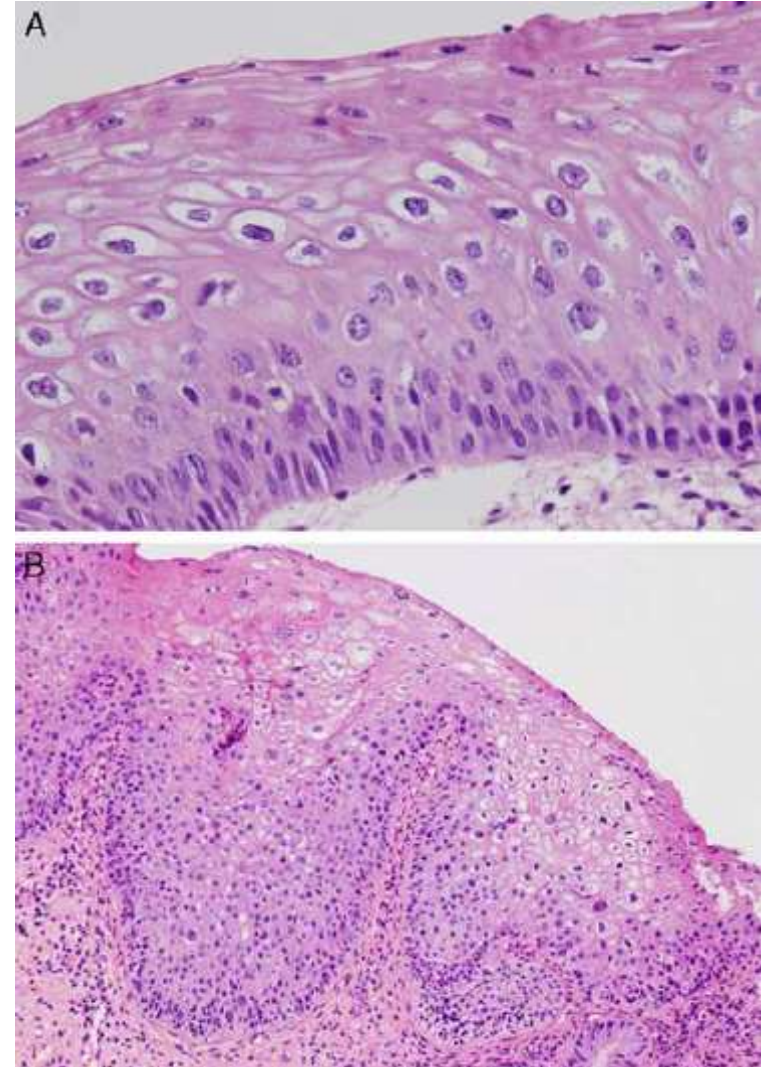
**RACCOMANDA DI SPECIFICARE SEMPRE IL TIPO DI CAMPIONE IN  
ESAME (CITOLOGICO, ISTOLOGICO), SIA IN COMUNICAZIONI SCRITTE,  
SIA VERBALI**



# Lesioni squamose intra-epiteliali

## L-SIL

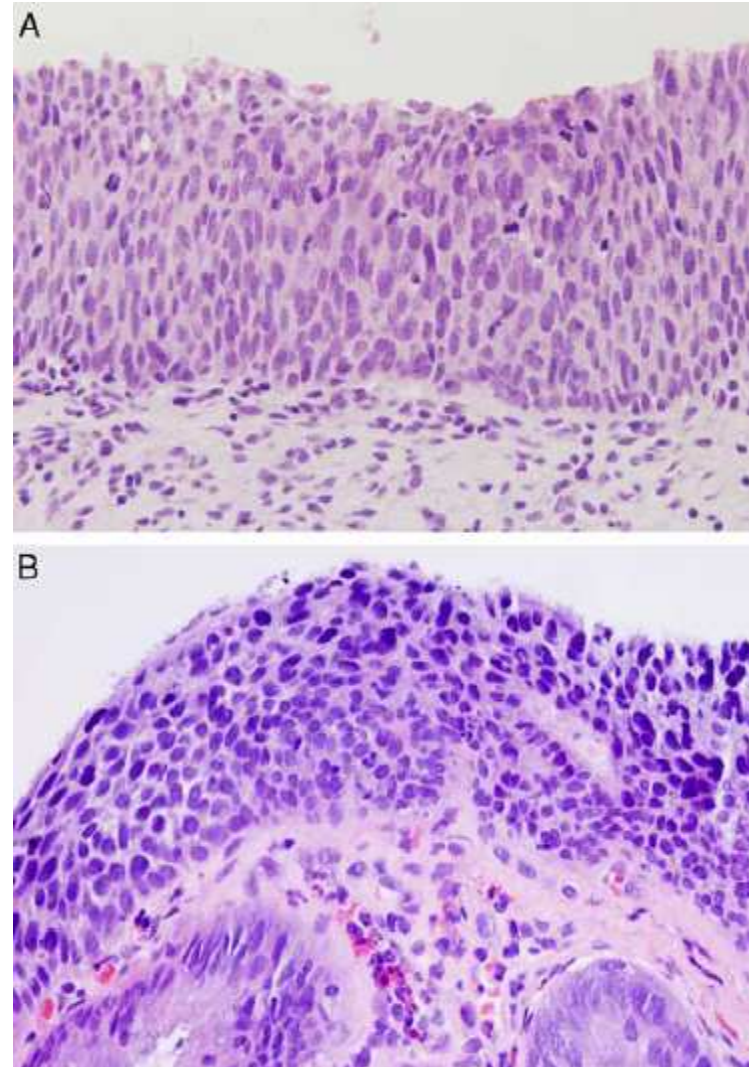
- Proliferazione di cellule anormale
- Atipia nucleare (ingrandimento, aumento del rapporto nucleo/citoplasma, pleomorfismo, cromatina irregolare, bordi nucleari irregolari)
- Scarsa maturazione citoplasmatica nello strato basale dell'epitelio (presente nello strato intermedio e superiore)
- Mitosi solo nel terzo inferiore
- e/o la presenza di COILOCITOSI



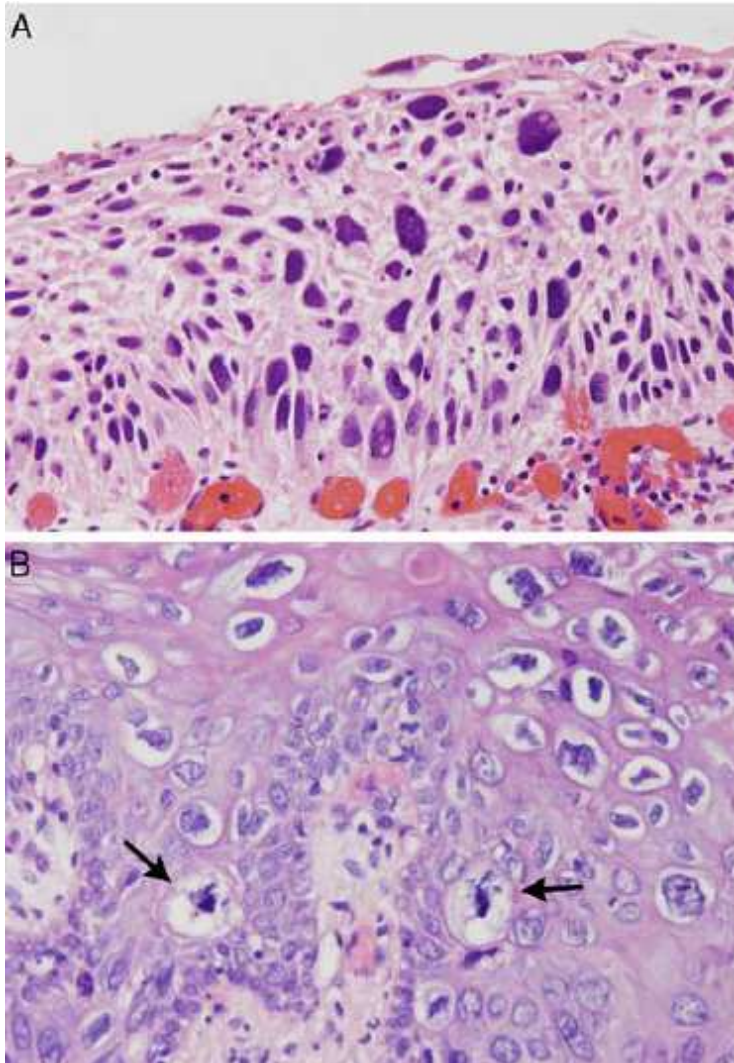
# Lesioni squamose intra-epiteliali

## H-SIL

- Proliferazione di cellule anormale
- Atipia nucleare (ingrandimento, aumento del rapporto nucleo/citoplasma, pleomorfismo, cromatina irregolare, bordi nucleari irregolari)
- Scarsa maturazione citoplasmatica nello strato basale, intermedio e superiore dell'epitelio
- Mitosi a tutto spessore



# Lesioni squamose intra-epiteliali



## Circostanze speciali

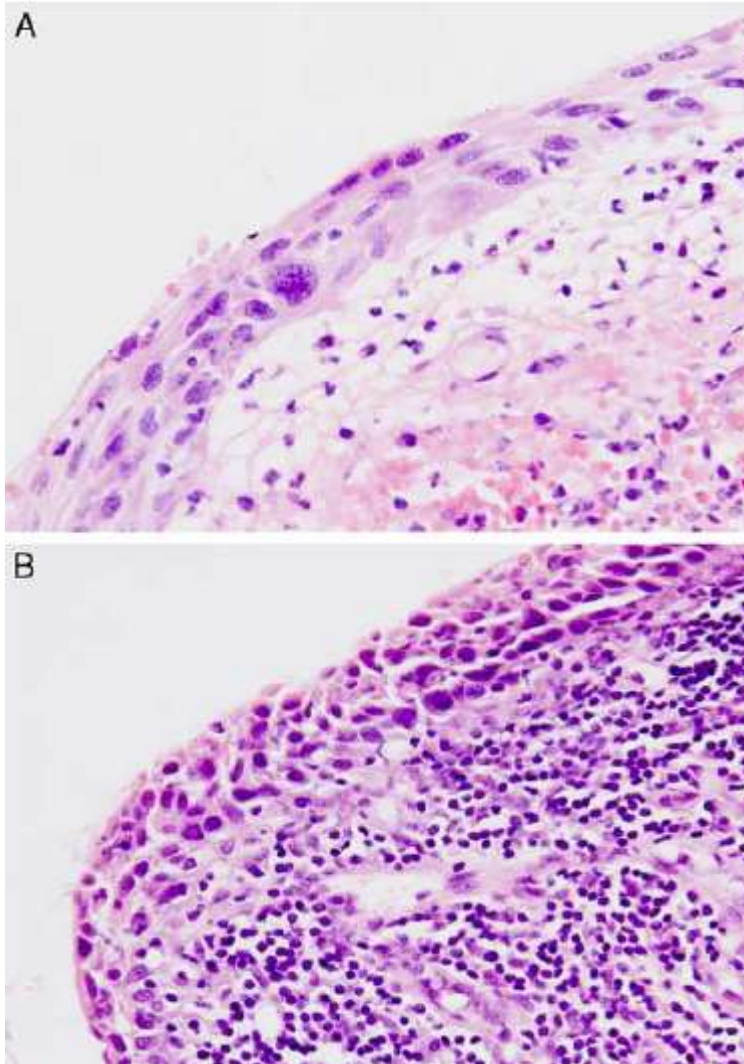
-

### MITOSI ANOMALE O ATIPIA NUCLEARE MARCATA

- Anche se localizzate solo al terzo inferiore, delle mitosi anomale ed un'atipia nucleare di alto grado portano ad una diagnosi di HSIL
- La colorazione con p16 è in grado di sostenere questa diagnosi



# Lesioni squamose intra-epiteliali



## Circostanze speciali

-

### SIL SOTTILE

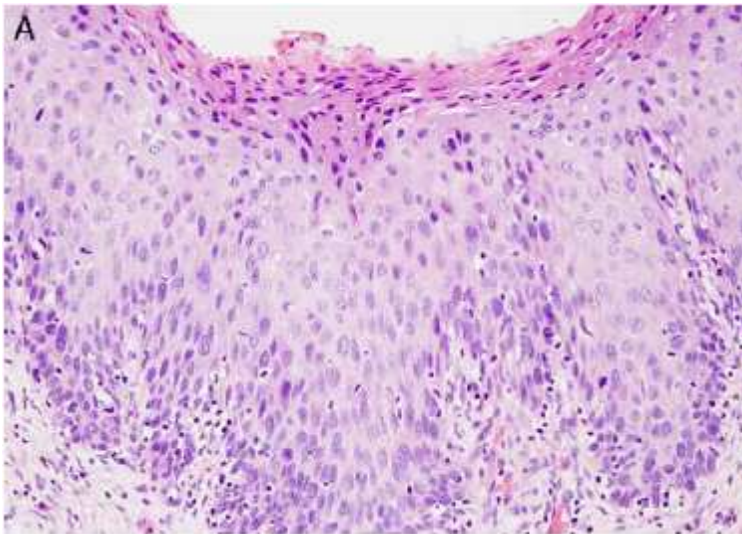
- Lesioni intraepiteliali immature di meno di 10 cellule di spessore
- Il grado di atipia nucleare e la presenza di mitosi decide il grado della displasia
- La colorazione con p16 è in grado di distinguere tra metaplasia immatura e LSIL nei casi dubbi

# Lesioni squamose intra-epiteliali

## Circostanze speciali

-

## SIL CHERATINIZZANTE



- Presenza di uno strato cheratinizzante anomalo sulla superficie con cellule discheratotiche con nuclei marcatamente atipici e pleomorfi

- è considerata come displasia di ALTO GRADO

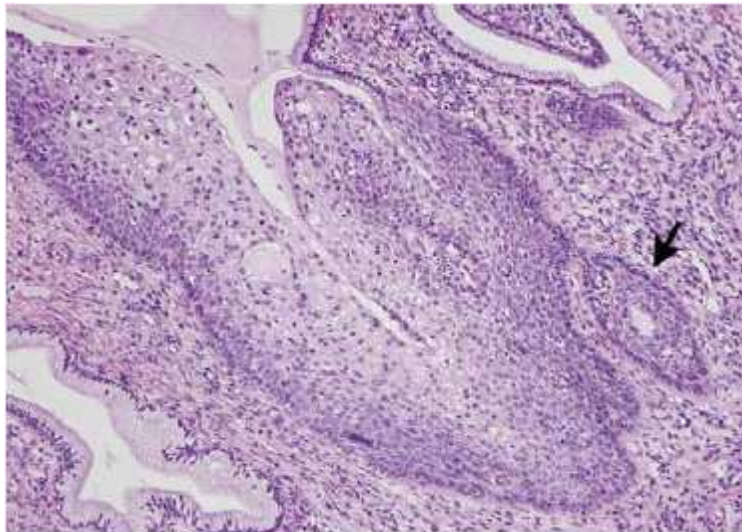
- di solito è presente nelle zone cutanee, ma occasionalmente anche in vagina e cervice

# Lesioni squamose intra-epiteliali

## Circostanze speciali

-

### **DISPLASIA CHE SI ESTENDE NELLE GHIANDOLE ENDOCERVICALI**



Se le cellule displastiche non mostrano maturazione anche a livello delle ghiandole endocervicali, la lesione dovrebbe essere classificata come di alto grado

# Lesioni squamose intra-epiteliali

## Circostanze speciali

-

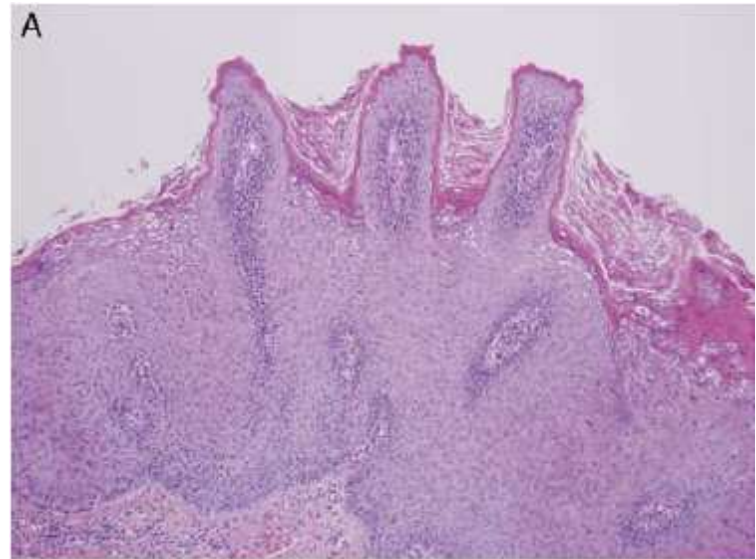
### CONDILOMA ACUMINATO

- PROLIFERAZIONE PAPILLARE CON CARATTERISTICHE CITOPATICHE DI INFEZIONE DA HPV

- HPV A BASSO RISCHIO (6 e 11)

- TALI LESIONI SONO DESIGNATE COME: “**LSIL (condiloma)**”

- meno frequenti in cervice e vagina, comuni nelle aree ano-genitali esterne



# Carcinoma di cellule squamose superficialmente invasivo

**= SISCCA**

*(superficially invasive squamous cell carcinoma)*

- la definizione si basa principalmente sulla profondità e sull'ampiezza dell'infiltrazione
- è un CARCINOMA DI CELLULE SQUAMOSE  
MINIMAMENTE INVASIVO, COMPLETAMENTE  
ESCISSO E CURABILE CON LA TERAPIA CHIRURGIA  
CONSERVATIVA
- NB: l'invasione linfovaskolare ed il pattern di infiltrazione non fanno parte della definizione di SISCCA (ad eccezione del carcinoma del pene)



# Carcinoma di cellule squamose superficialmente invasivo

## **Raccomandazione #1: STATUS DEI MARGINI**

- Definibile su cono o leap
- Non definibili interamente solo sulla base della punch biopsy (la diagnosi di SISCCA non può essere effettuata su punch biopsy)

## **Raccomandazione #2: STATUS DEI MARGINI**

Anche in presenza di margini positivi, il referto dovrebbe stabilire se:

- a) Il tumore invasivo supera i limiti della diagnosi di SISCCA
- b) Il tumore è compreso nei limiti della diagnosi di SISCCA

# Carcinoma di cellule squamose superficialmente invasivo

## **Raccomandazione #3: REFERTO**

In caso di SISCCA, il referto dovrebbe indicare:

- Presenza o assenza di invasione linfovascolare
- Presenza, numero e dimensione di focolai multipli ed indipendenti di carcinoma

# Carcinoma di cellule squamose superficialmente invasivo

## CERVICE

Attualmente, vengono impiegati due principali sistemi classificativi per il **carcinoma della cervice microinvasivo**:

- 1) **SGO (USA)**: invasione dello stroma **< 3 mm** (dalla base dell'epitelio) in assenza di invasione linfo-vascolare; margini liberi; non considera l'ampiezza della lesione (CAP Protocol – 2009: ampiezza massima di 7 mm)
- 2) **FIGO (EU) (simile a AJCC)**: estensione alla cervice, non visibile macroscopicamente o clinicamente (ma può essere visibile alla colposcopia). **STADIO IA**: la componente invasiva è riconoscibile solo microscopicamente, invasione stromale **< o = 5 mm** (dalla base dell'epitelio) ed ampiezza **< o = 7 mm**; nessun ruolo dell'invasione linfo-vascolare (**STADIO IA1**: < o = 3 mm di invasione, **STADIO IA2** > 3 mm)

### Problemi irrisolti:

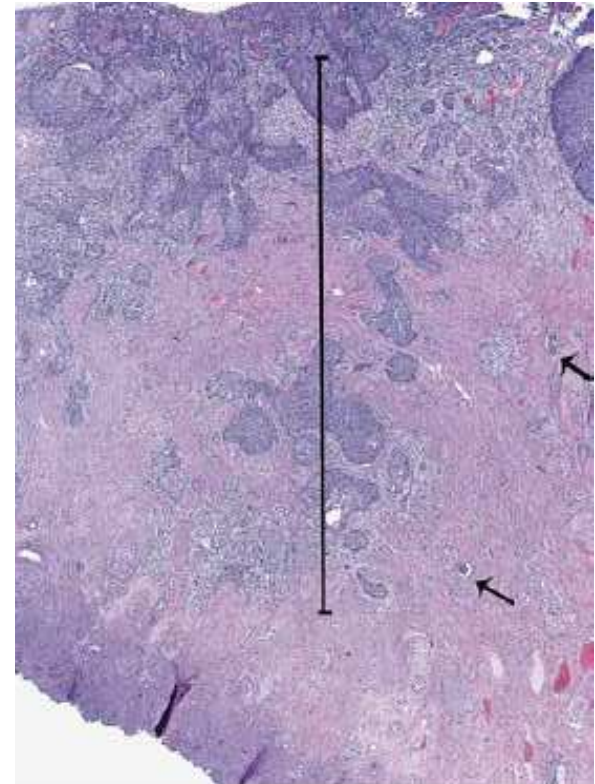
- **Ruolo della invasione linfo-vascolare?**
- **I margini devono essere liberi anche dalla displasia?**
  - **Terapia migliore?**

# Carcinoma di cellule squamose superficialmente invasivo

## Raccomandazione #4: SISCCA CERVIC

### DEFINIZIONE:

- CARCINOMA SQUAMOSO INVASIVO
  - LESIONE NON VISIBILE MACRO
- PROFONDITA' DI INFILTRAZIONE  $< 0 = 3$  MM  
DALLA MEMBRANA BASALE DEL PUNTO DI  
ORIGINE +
- DIFFUSIONE ORIZZONTALE  $< 0 = 7$  MM +
  - MARGINI LIBERI



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

# BIOMARCATORI

**P16,**

**KI67, ProEx C, L1, HPV 16/18 mRNA,  
telomerasi/TERC, genotipizzazione dell'HPV**

# BIOMARCATORI

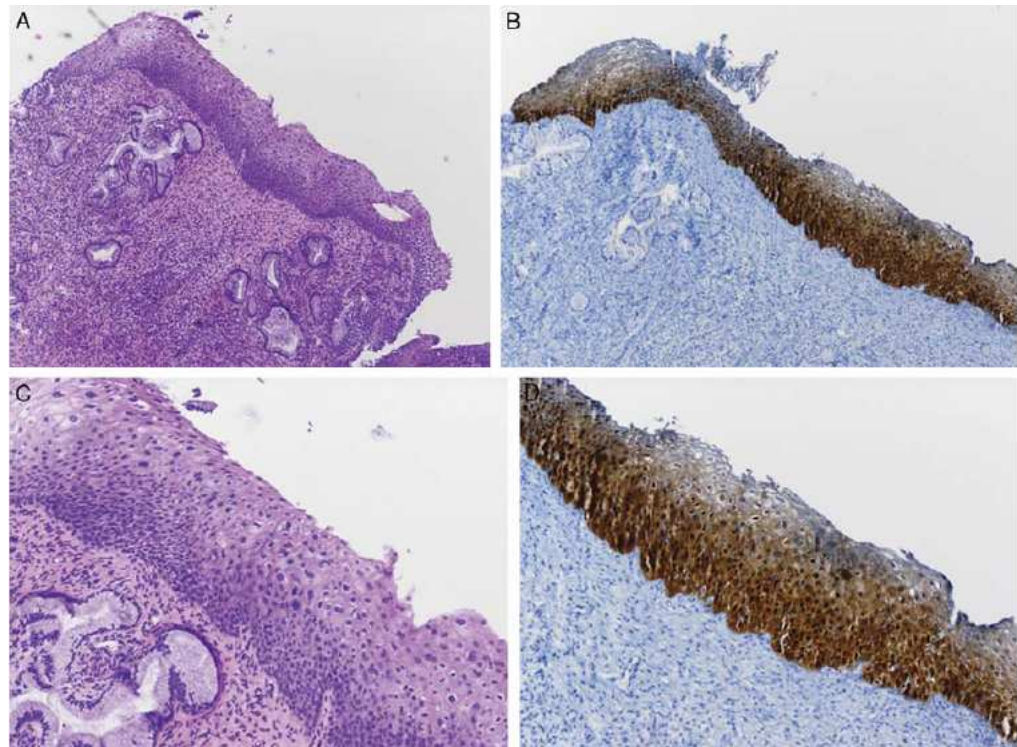
## Raccomandazione #1

### Utilizzo della p16

- Discriminare tra -IN (2 o 3) e lesione simil-neoplastica (metaplasia squamosa immatura, atrofia, riparazione, taglio tangenziale)

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

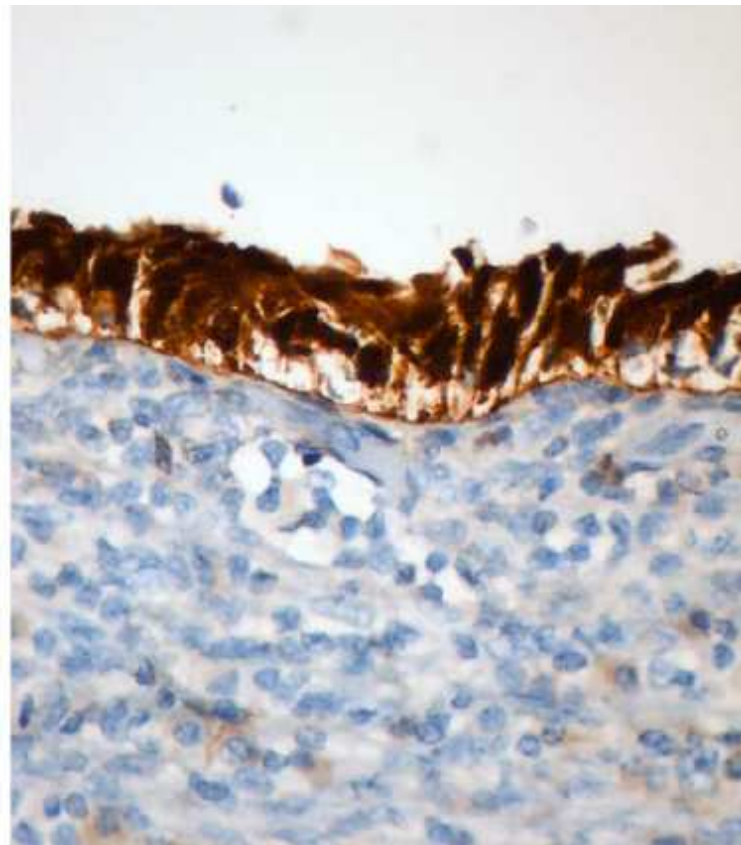
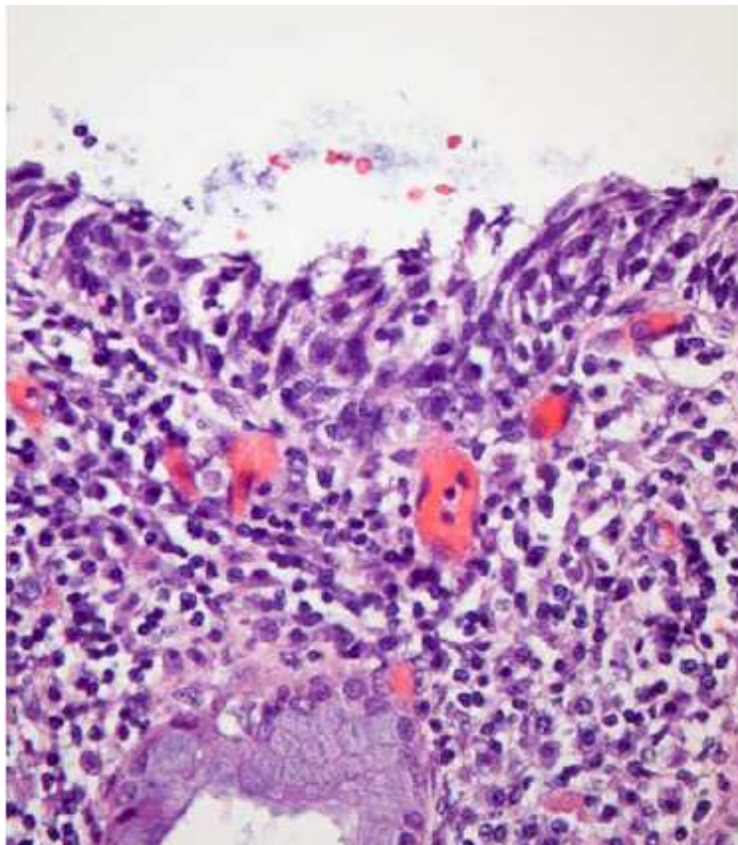
*HSIL (terzo medio)*





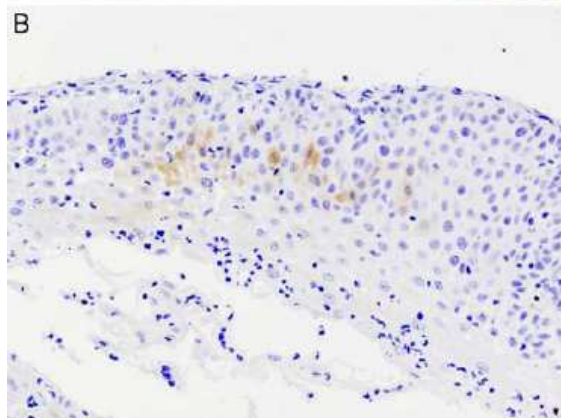
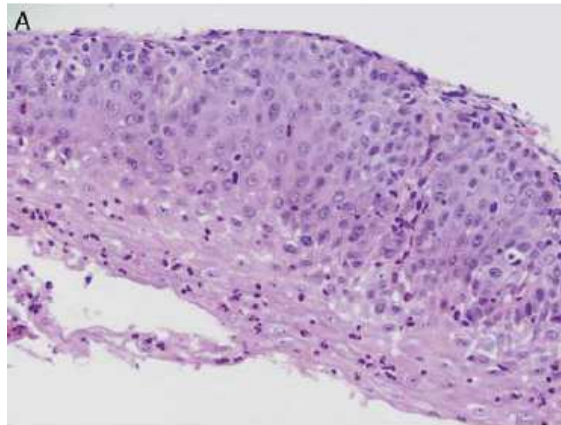
# BIOMARCATORI

***Diagnosi differenziale HSIL (displasia sottile)  
vs metaplasia immatura***

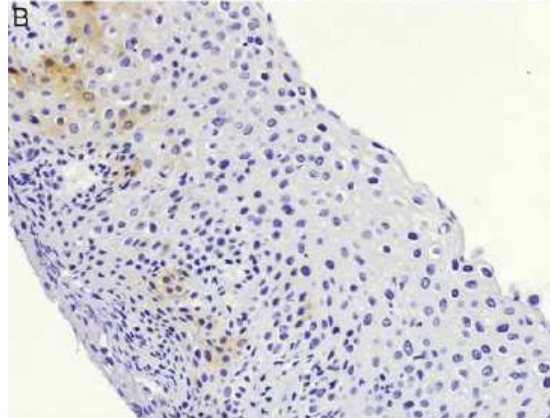
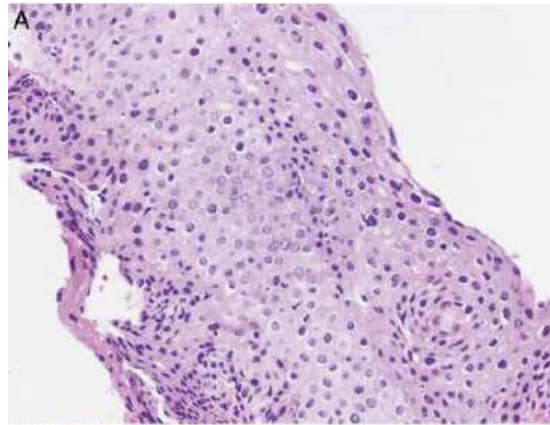


# BIOMARCATORI

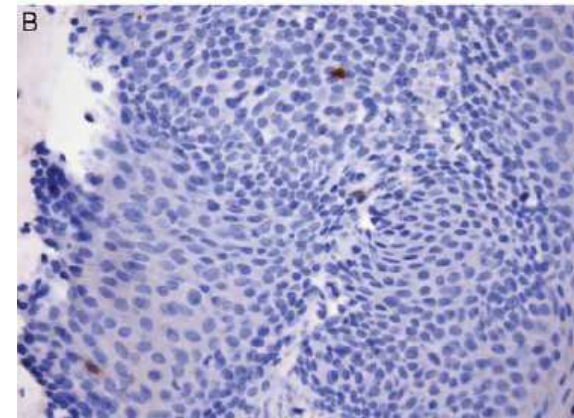
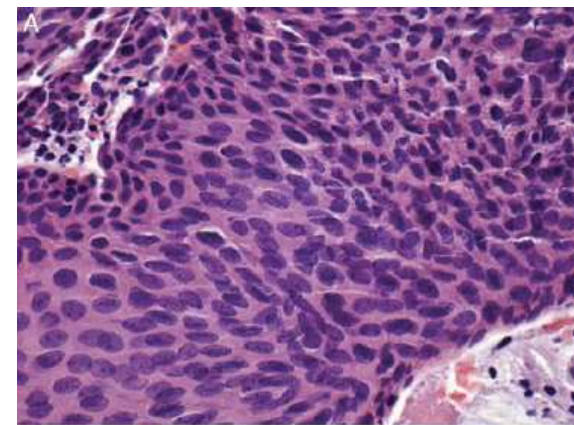
***Diagnosi differenziale  
HSIL (CIN2) vs atipia  
riparativa***



***Diagnosi differenziale  
LSIL vs HSIL (taglio  
tangenziale)***



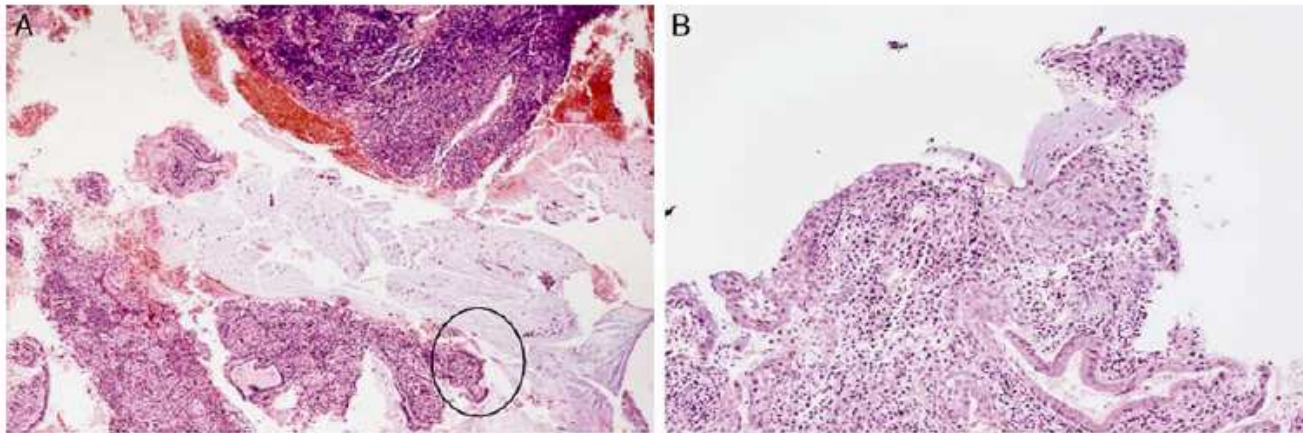
***Diagnosi differenziale  
HSIL vs metaplasia  
squamosa immatura***



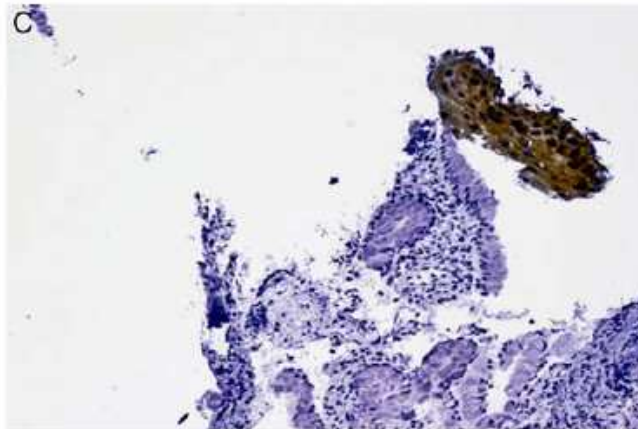


# BIOMARCATORI

***Donna con HSIL su PAP test; biopsia apparentemente negativa su H&E (frammentata, difficilmente interpretabile, mal orientata)***



***Eseguita p16 per mancata correlazione cito-istologica***



***Diagnosi di HSIL sulla base della p16***

# BIOMARCATORI

## Raccomandazione #2

### Utilizzo della p16

Discriminare, nei casi di –  
**IN2**, tra una lesione di  
basso e di alto grado  
(LSIL = p16 negativa o  
focale, HSIL = p16  
positiva e continua)

Non ci sono prove che una –**IN1** p16  
positiva richieda un trattamento diverso  
da una –IN1 p16 negativa: **NON FARE**  
**P16 NELLE -IN1**

## Raccomandazione #3

### Utilizzo della p16

Utilizzo nei casi di **discordanza** tra  
patologi nell'interpretazione  
del grado di displasia (- IN2 o -  
IN3)

## Raccomandazione #4

### Utilizzo della p16

Non usare p16 come strumento  
routinario nella valutazione di  
biopsie con diagnosi  
morfologica (sicura) negativa,  
di –IN1 o di – IN3

# BIOMARCATORI

## Raccomandazione #4a

### Utilizzo della p16

Lesioni morfologicamente e apparentemente benigne (-IN1 o meno) ma in cui vi è un **citologico positivo** (con rischio di tralasciare una lesione di alto grado); aree p16 positive devono comunque avere una morfologia da alto grado

SERVE QUINDI A  
**MASSIMIZZARE LA  
SENSIBILITA'  
NELL'INDIVIDUARE LESIONI  
DI ALTO GRADO**

La p16 non va usata di routine (senza un sospetto morfologico) se non nei casi ad **alto rischio** di avere una lesione di alto grado (esempio: casi con citologico positivo; HPV16 positivo?)

La p16 non va usata per discriminare tra **-IN1 e negativo**

L'utilizzo combinato di **p16 e Ki67** non è consigliato

L'utilizzo di **Ki67** e/o **ProEx C** è consigliato solo nel caso in cui la p16 dia un risultato non conclusivo

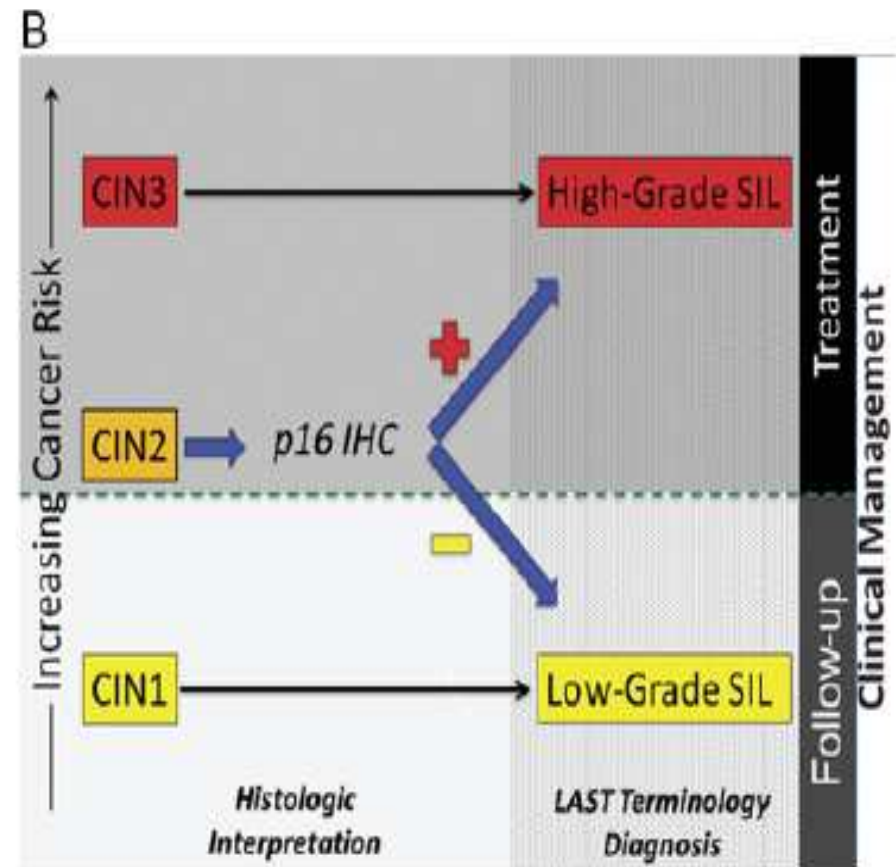
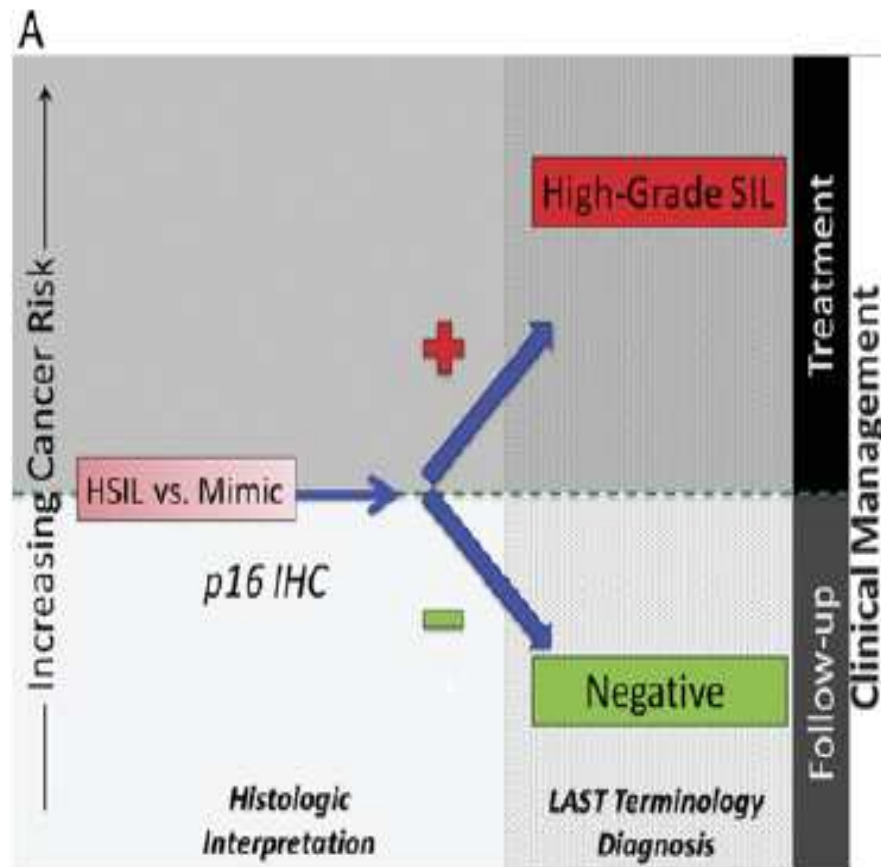
# BIOMARCATORI

Scoraggiato il sovra-utilizzo  
o l'utilizzo inappropriato  
(**utilizzo appropriato della  
p16: circa il 25% delle  
biopsie cervicali**)

**TABLE 4.** *Estimated percentage (%) of total cervical biopsies for which IHC is recommended (6,10,163,178–180)*

LAST WG4 Recommendation	Comment	Estimated % of biopsies for IHC
#1 HSIL vs. mimics	CIN3 accounts for less than 10% of biopsies and we estimate that approximately 10% of these may be problematic or have mimics	1%
#2 Possible CIN2	CIN2 currently accounts for no more than 10% of biopsies	10%
#3 Professional disagreement	An uncommon situation	1%
#4 Cautions against use in LSIL (CIN 1)	LSIL (CIN1) account for up to 40% of diagnoses for cervical biopsies. If an estimated 10% of those are problematic, (i.e. the pathologist is considering LSIL vs. HSIL(CIN2)), the impact is low	4%
#4a High-risk colposcopic referral situations with H&E biopsies initially ≤LSIL	The majority of referrals for colposcopy are for Pap tests interpreted as LSIL or ASC-US and high-risk HPV positive (non-genotyped). Reported rates for these results are HSIL: 1%, ASC-H: 0.5%, AGC: 0.5% and ASC-US, HPV 16 positive at 1%	3%
Total	Conservative estimate of overall utilization of IHC is less than 20% of all cervical biopsies	19%

# BIOMARCATORS



# Conclusioni

- 1) Sistema in 2 gradi (LSIL – HSIL) (riflette meglio la biologia dell'infezione da HPV)
- 2) Definizione univoca di carcinoma squamoso superficialmente invasivo
- 3) Corretto impiego dei biomarcatori

Scopo successivo di questo lavoro sarà

- la diffusione delle raccomandazioni qui formulate
- l'utilizzo di metodi per valutare il loro impiego appropriato nella pratica clinica