

Rak materničnega vratu odkrit s testom HPV doma pri neodzivnici

Uršula Salobir Gajšek¹, Jakob Koren¹, Marica Miklavc¹, Zlatko Iternička², Simona Šramek Zatler², Alenka Repše Fokter²

¹ SB Celje, Ginekološko porodniški oddelek, Oblakova 5, Celje

² SB Celje, Oddelek za patologijo in citologijo, Oblakova 5, Celje

Povzetek

Biologija predrakavih in začetnih rakavih bolezni materničnega vratu in preprosta metoda odvzema brisa materničnega vratu je omogočila razvoj organiziranih presejalnih programov z namenom zgodnjega odkrivanja in zmanjšanja obolevnosti in umrljivosti za rakom materničnega vratu. Odkritje vloge HPV v nastanku raka materničnega vratu je vodilo do vključitve testov HPV v presejalne programe. Za uspešnost presejalnega programa je potrebno, da se udeleži programa vsaj 70 % ciljne populacije v triletnem obdobju. Analize pojavljanja raka materničnega vratu pri nas in po svetu so pokazale, da velik delež žensk, ki zbolijo za tem rakom pripada tisti skupini žensk, ki niso hodile na ginekološke preglede in sodijo v skupino neodzivnic. Z razvojem brisov na HPV, ki omogočajo samoodvzem brisa doma, se je pojavila nova možnost vključitve te skupine žensk v presejalni program. Prikazujemo primer odkritega raka materničnega vratu zaradi pozitivnega testa HPV na samoodvzetem brisu (test HPV doma) pri neodzivnici v raziskovalnem projektu državnega programa ZORA. Alternativna možnost testa HPV doma s priključeno nadaljnjo obravnavo pri ginekologu lahko zmanjša delež neodzivnic in posledično vodi v večjo uspešnost presejalnega programa.

Ključne besede: samoodvzem brisa, test HPV doma, neodzivnice, rak materničnega vratu

Uvod

V Sloveniji je bil leta 2010 rak materničnega vratu (RMV) po pogostosti enajsto najpogostejše rakavo obolenje pri ženskah (1). RMV je eden redkih rakov, ki ga lahko preprečimo s pravočasnim odkrivanjem in zdravljenjem predrakavih sprememb. Potek bolezni in enostavna dostopnost materničnega vratu sta osnova učinkovitega presejalnega programa odkrivanja patologije materničnega vratu. Od leta 1960 je v Sloveniji teklo priložnostno presejanje v okviru ginekološke dejavnosti, vendar se učinkovitost tako organizirane preventive ni več odražala v incidenci raka materničnega vratu. Zaradi tega je bil leta 2003 vzpostavljen državni program z namenom zgodnjega odkrivanja predrakavih sprememb materničnega vratu (ZORA), ki je organiziran presejalni program. Vodi ga koordinacijski center s centralnim informacijskim sistemom, Register ZORA na Onkološkem inštitutu Ljubljana (2). V letu 2003 je v Sloveniji za RMV zbolelo 211 žensk, incidenca je bila 20,7/100.000 žensk, po desetih letih delovanja presejalnega programa se je incidenca skoraj razpolovila in je bila v letu 2013 11,3/100.000, zbolelo je 117 žensk (1, 3).

Potek bolezni in enostavna dostopnost materničnega vratu sta osnova učinkovitega presejalnega

programa odkrivanja patologije na materničnem vratu. Temeljni kamen predstavlja revolucionarno odkritje Georgea Papanicolaoua, PAP test (4, 5), sledita mu kolposkopija in histološka verifikacija spremembe na materničnem vratu. Od odkritja vloge HPV in uvedbe enostavnih metod določanja prisotnosti HPV v brisu materničnega vratu (BMV), je test HPV postal sestavni del vseh presejalnih programov za zgodnje odkrivanje predrakavih sprememb materničnega vratu (6–9). V Sloveniji so od leta 2011 v uporabi posodobljene Smernice za celostno obravnavo žensk s predrakavimi spremembami materničnega vratu (10, 11).

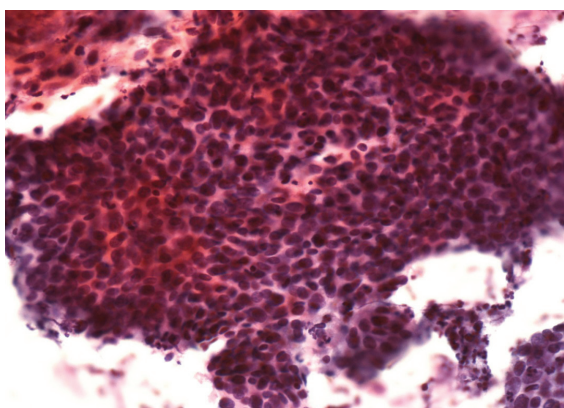
Dobro organiziran presejalni program je temelj, ki pripelje v znižanje pojavljanja RMV (12). Zahteva zadostno udeležbo žensk v program, kar pomeni, da se programa udeleži vsaj 70 % ciljne populacije v triletnem programu (13). Analize pojavljanja RMV pri nas in po svetu so pokazale, da velik delež žensk, ki zbolijo za RMV pripada tisti skupini žensk, ki niso hodile na ginekološke preglede in sodijo v skupino neodzivnic. Tako v tujini kot v Sloveniji pri neodzivnicah odkrijemo okoli 50–60 % novih primerov RMV (2, 14–18). Neodzivnice zbolevalo za razširjenimi oblikami RMV, zato je cilj novih usmeritev presejalnih programov, tako v svetu kot pri nas, da bi se zmanjšal delež neodzivnic. Z razvojem te-

stov HPV, ki omogočajo samoodvzem brisa doma, se je pojavila nova možnost vključitve te skupine žensk v presejalni program. V Sloveniji v okviru Onkološkega inštituta Ljubljana teče od avgusta 2013 do julija 2016 triletna raziskava: Pilotna raziskava sprejemljivosti in kakovosti samoodvzema vaginalnega vzorca za test HPV pri neodzivnicah v Državnem presejalnem programu za raka materničnega vratu DP ZORA (št. projekta L3-5512), ki sta jo omogočila Ministrstvo za zdravje RS in Javna agencija za raziskovalno dejavnost RS. Sodelujoči raziskovalni ustanovi sta Splošna bolnišnica Celje in Univerzitetni klinični center Maribor.

Prikaz primera

Štiriinšestdesetletna pacientka je bila pri nas 16. 7. 2015 na pregledu zaradi pozitivnega izvida testa HPV doma. Bris si je odvzela sama doma, v okviru študije samoodvzema brisa za test HPV doma pri neodzivnicah. V Registru ZORA ima zadnji BMV registriran leta 2004, ko je bil normalen. Na vabilo centralnega Registra 2007 se ni odzvala. Je astmatik, v terapiji prejema Seratide. Zadnje mesečno perilo je imela v starosti 50 let, rodila je dvakrat, enkrat splavila, do sedaj ni imela ginekoloških težav. Pri pregledu je bil narejen PAP test, odvzem HPV brisa in kolposkopija, kot predvideva protokol študije. Kolposkopija je pokazala spremembo na materničnem vratu sumljivo za rak materničnega vratu (dvignjena, nad nivojem, slatinasta sprememba z žilami na 3. uri tik ob cervikalnem kanalu, izrazita krvavitev s površine, večji del ektocerviksa gost bel epitelij). Zaradi sumljive kolposkopske slike je bila poleg odvzema BMV narejena biopsija, na mestu kolposkopsko vidne največje spremembe, se je tkivo drobilo. Vstavljen je bila tamponada, ki si jo je sama odstranila.

V BMV so bile skupine celic s hiperkromnimi, gosto zbitimi jedri, ki bi morfološko ustrezale PIL-VS oziroma hudo diskariotičnim celicam (Slika 1), v



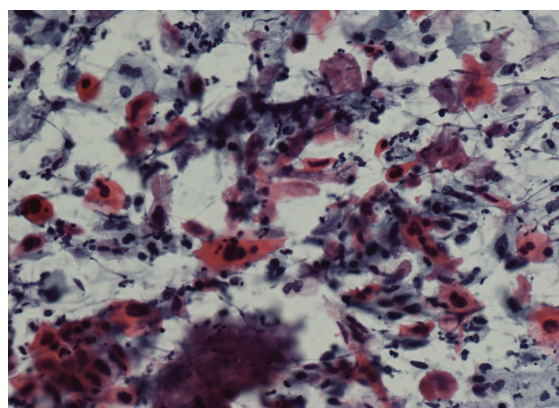
Slika 1. Področje s skupino hudo diskariotičnih celic (PIL-VS). Papanicolaou, x400.

večjem delu brisa pa je bila citološka slika dovolj tipična, da je bila citološka diagnoza ploščatocelični karcinom (Slika 2), ginekološko odvzet bris za test HPV je bil pozitiven, histološki izvid biopsije pa je bil CIN 3 (Slika 3). Zaradi neujemanja citologije in histologije je bila 7. 8. 2015 narejena klasična konizacija. Histološki izvid je pokazal obsežne displastične spremembe visoke stopnje, PIL visoke stopnje v tranzicijski coni, ektocervikalno, globoko endocervikalno in v številnih endocervikalnih žlezah. V eni rezini je bil ob karcinomu in situ tudi invazivni ploščatocelični karcinom, velikocelični tip, s fokalnim poroženevanjem, z največjo globino invazije 0,3 mm, največji površinski premer tumorja je 1 mm, po točkovanju ocenjen z 9 točk (Slika 4). Ektocervikalni in endocervikalni resekcijski rob ni v zdravo, globok lateralni resekcijski rob poteka v zdravo. Pacientka čaka na nadaljnjo operativno terapijo.

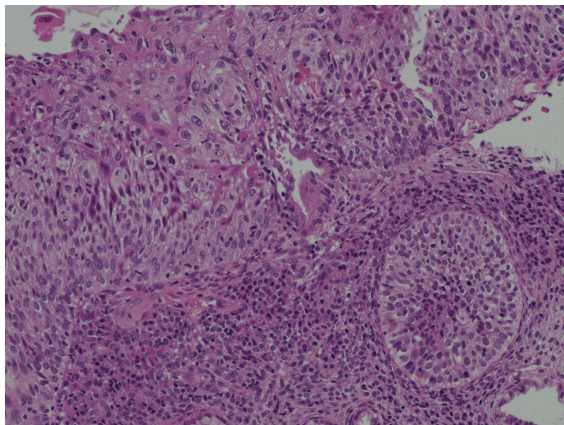
Razprava

Samoodvzem brisa doma predstavlja alternativo metodo za vključitev tistih žensk v presejalni program odkrivanja RMV, ki ne hodijo na redne ginekološke preglede in se ne javijo na večkratno vabljenje na pregled. Razlogi za neodzivnost so različni.

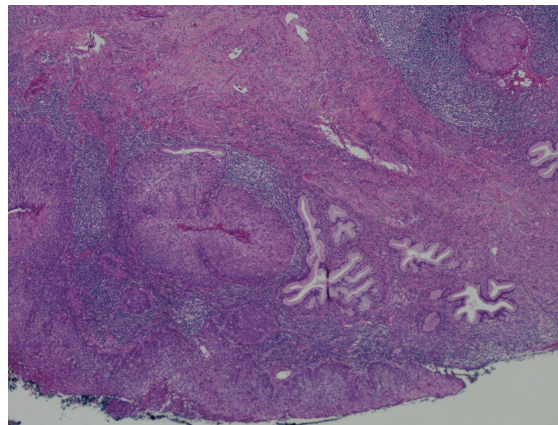
Upoštevanje raziskav, narejenih tako v svetu kot tudi v slovenskem prostoru, ki so pokazale prisotnost visoko rizičnih tipov HPV pri RMV in CIN 3 (19, 20), so temelj samoodvzema brisov. Predvideva se, da se bodo neodzivnice pogosteje vključile v program in da se bo s tem dodatno zmanjšalo obolenje za RMV in CIN 2+. Za samoodvzem brisa so razvili različne testerje, ki so različno uporabljeni v objavljenih študijah, najpogosteje uporabljena metoda za analizo samoodvzetih brisov na prisotnost okužbe z visoko rizičnimi HPV je Hybrid Capture 2® (HC2) (18, 21, 22). Študije so pokazale, da je kakovost in izvid samoodvzetega brisa primerljiv z



Slika 2. Ploščatocelični karcinom pri isti bolnici. Papanicolaou, x400.



Slika 3. Biopsija, PIL-VS (CIN 3). HE, x400.



Slika 4. Konus, področje invazivnega ploščatočeličnega karcinoma. HE, x400.

izvidom brisa odvzetega pri zdravstvenem osebju (18, 21, 22). Pomembno je, da se ženske, ki so opravile samoodvzem brisa in so imele pozitiven izvid, vključijo v nadaljne postopke. Raziskave kažejo, da pozitiven izvid ženske skrbi in se zato odzovejo na nadaljnja vabila.

V švicarski študiji, kjer so vključili 120 žensk, ki so bile napotene v kolposkopsko ambulanto, so analizirali dve vrsti brisov za samoodvzem, suhega z vatirano palčko in ESwab, kjer vatirano palčko po odvzemu shranimo v 1 ml gojišča. Samoodvzemu je sledil pregled z odvzemom brisa za tekočinsko citologijo in Hybrid Capture HPV test (HC2), kolposkopija in biopsija, če je bila potrebna. Odkritih je bilo 23 CIN 2+ lezij, ESwab je bil v 91,3 % pozitiven, suhi bris v 73,9 % in HC2 v 69,6 %. Široko gledano je bil suhi bris nekoliko manj specifičen vendar mnogo bolj sprejemljiv in enostavnejši za transport, za natančnejše zaključke, pa je potreben večji vzorec (23).

V ameriški raziskavi so testirali DelphiScreener® pri 198 ženskah, izmed 5509 žensk, ki so vstopale v redni presejalni program. Ob prvem obisku sta bila odvzeta citološki bris in bris na HPV, nato pa so si čez en mesec, a znotraj treh mesecev, odvzele samobris. Študijsko skupino 198 žensk sta predstavljali 2 skupini, ene so imele normalne izvide presejalnega testa, v drugi skupini pa so bile tiste, ki so imele patološki bris ASC-US ali več. 197 žensk si je lahko odvzelo bris. Test DelphiScreener® omogoča citologijo in genotipizacijo HPV. Primerljivost citologije je bila slaba, ujemanje HPV testiranja srednje dobra, medtem, ko sta bili obe metodi primerljivi pri odkrivanju CIN 2+ lezij, ki jih je bilo sedem (24). V Čilu, kjer imajo triletni presejalni program in je pregledanost slaba, v letu 2009 le 64 %, so naredili študijo, v kateri so izmed 5900 hišnih obiskov z namenom vključitve žensk, ki 3 leta nimajo PAP brisa, identificirali 1345 žensk starih 30–64 let. V

študijo so vključili 1332 žensk, izmed njih so izključili 66 zaradi opravljene histerektomije in 12 zaradi nosečnosti. Od 1254 vključenih se 102 ženske ni odločilo za samoodvzem brisa (8,1 %) in za nobeno sodelovanje. Bris si je odvzelo 1085 žensk, od tega je bilo 1076 uporabnih brisov. 124 (11,4 %) žensk je bilo pozitivnih na HPV, 18 žensk na predlagano kolposkopijo ni prišlo. Pri 35 je bil nenormalen kolposkopski izvid: 12-krat CIN 2+, 7-krat CIN 3+, vključujoč en RMV. Odkriti delež vstopne skupine za CIN 2+ je bil 1,1 %, za CIN 3+ pa 0,7 % (25).

Meta-analiza Snijdersa in sod. je zajela vse članke objavljene na PubMed med januarjem 1992 in januarjem 2012, ki so obravnavale primerjavo samoodvzetih brisov z odvzetim brisom za citologijo in HPV, ki ga odvzame zdravstveno osebje. Celotna analiza je pokazala, da je samoodvzeti bris za CIN 2+ enako občutljiv kot citološki test PAP, vendar manj specifičen. Manjša specifičnost je med drugim posledica detekcije prehodnih HPV okužb, ki ne vodijo v razvoj CIN 2+. Del zmanjšane specifičnosti pa gre na račun vaginalnih okužb, posebno nizkorizični sevi HPV. Povečana občutljivost za dokaz CIN 2+ se nakazuje pri samoodvzetih brisih, pri katerih se nožnica spira in je v dobljenem vzorcu večje število celic (21).

Arbyn s sodelavci je v letu 2014 objavil analizo 36 študij, v katere je bilo vključenih 154.556 žensk, vključitveno merilo je bilo, da je samoodvzemu sledil odvzem brisa pri zdravstvenem osebju. Analizirali so tri skupine žensk: neodzivnice v rednem presejanju (16 študij), skupino žensk z visokim tveganjem (3 študije) in skupino, ki je bila poslana na kolposkopijo zaradi predhodnega pozitivnega presejalnega testa (17 študij). Analiza med neodzivnicami je pokazala, da lahko presejanje s testom HPV doma odkrije okoli 76 % CIN 2+ in 84 % CIN 3+, presejanje s testom PAP okoli 71–83 % CIN 2+ in 78–91 % CIN 3+ (pri mejni vrednosti izvida APC-N

ali PIL-NS), presejanje z ginekološko odvzetim testom HPV pa 91 % CIN 2+ in 95 % CIN 3+. Specifičnost testa HPV doma za CIN 2+ je 86 %, testa PAP 91–97 % in ginekološko odvzetega testa HPV 88 %. Skupna občutljivost HPV testiranja je bila značilno manjša pri samoodvzetem brisu glede na ginekološko odvzet bris za test HPV in za 4 % manj specifična pri izključitvi CIN 2+. Občutljivost HPV testa doma je primerljiva testu PAP v odkrivanju CIN 3+, vendar manj senzitivna za odkrivanje CIN 2+ pri mejni vrednosti izvida APC-N. Pri mejni vrednosti PAP PIL-NS je bil HPV tesat doma bolj občutljiv v odkrivanju CIN 2+ in CIN 3+. Vsi testi so pokazali izjemno majhno (< 1 %) tveganje že prisotnega CIN 3+ ob negativnem rezultatu testa, vendar je tveganje v skupini žensk z velikim tveganjem po petih letih po izvidu testa HPV doma ali testa PAP presešlo 1 %. V študijah so bile uporabljene različne metode določanja HPV. Izkazalo se je, da je test HPV doma za dokaz CIN 2+ manj občutljiv nasproti ginekološko odvzetemu brisu za test HPV, kadar je uporabljena metoda HC2, Cervista ali APTIMA, prav tako je manjša specifičnost pri HC2 in Cervisti, ne pa pri APTIMI. Občutljivost in specifičnost obeh načinov odvzema brisa je bila primerljiva, če so se uporabili testi GP5+/6+ PCR, SPF10 PCR, Abbott Real Time hrHPV, DNACHIP, modificiran GP5+/6+PCR z Lumines branjem ali MALDI-TOF. Kovariantna analiza je pokazala skupno manjšo občutljivost testa HPV doma, kar pa je posledica tega, da je bil v večini študij uporabljen test HC2. Analiza ni uspela ugotoviti ali je način samoodvzema povezan z občutljivostjo in specifičnostjo. Kadar je bil uporabljen test HC2, je bil samoodvzeti brisa pri vseh načinih samoodvzema manj občutljiv kot ginekološko odvzeti bris, razlika je bila statistično značilna pri krtački, suhem brisu ali tamponu. Pri testu GP5+/6+ PCR na HPV je bila občutljivost samoodvzetega brisa s krtačko ali izpirkom primerljiva z ginekološko odvzetim brisom in ravno tako, kadar so bili uporabljeni testi na osnovi PCR. Večina študij je bila narejena s testom HC2 (skupaj 18 študij), za druge teste so na voljo praviloma podatki iz ene same študije (izjema je GP5+/6+ PCR za katerega je bilo na voljo 5 študij). Študija zaključuje, da je boljše izbira ginekološko odvzet bris za test HPV kot samoodvzeti, ker je pri ginekološko odvzetemu brisu za test HPV večja tako občutljivost kot specifičnost. Samoodvzem brisa predlaga kot dopolnilno strategijo, poseben pomen ima tam, kjer je nemogoče vzpostaviti rednega presejalnega programa in kjer bi ženske samoodvzem brisa boljše sprejele kot ginekološki odvzem (22).

Zaključek

Ali bo postal test HPV doma osnovni test v presejanju za odkrivanje predrakave in rakave bolezni

materničnega vratu, bo pokazal čas. Zagotovo ta trenutek postaja pomemben način in dopolnilo, da se doseže večja pregledanost ciljne populacije. Zaenkrat test PAP ostaja tisti triažni test, ki skupaj s kolposkopijo in biopsijo omogoča dokončno postavitev diagnoze.

Najverjetneje bo razvoj presejanja šel tudi v smeri samoodvzetega brisa, ki bo omogočil testiranje na HPV in določitev dodatnih parametrov na genetsko molekularnem nivoju – biomarkerjev. Veliko se obeta od molekularnih triažnih testov na samoodvzetem vzorcu – hiper-metilacija promotorskih genov DNA sodelujočih v kancerogenezi.

Ali bo samoodvzem brisa ostal rezerviran le za neodzivnice ali pa kot nov način presejanja v celoti, bo potrebno dobro opredeliti vse vključene dejavnike, direktne in indirektno (26).

Kaj smo se naučili:

1. Glede na dosedanje izsledke je postal HPV test zaradi velike občutljivosti in negativne napovedne vrednosti pomemben v presejanju za predrakave in rakave bolezni materničnega vratu.
2. Z razvojem samoodvzema brisa doma in kasnejše testiranje samoodvzetega brisa na okužbo s HPV v laboratoriju, se je pojavila nova možnost vključitve te skupine žensk v presejalni program.
3. Pri ženskah, ki opravijo test HPV doma, zaenkrat test PAP ostaja tisti triažni test, ki, skupaj s kolposkopijo in biopsijo, omogoča dokončno postavitev diagnoze.

Literatura

1. Spletna stran SLORA- Dostopno na: <http://www.slo-ra.si/stevilo-novih-bolnikov>
2. Primic Žakelj M, Ivanuš U. Deset let delovanja programa ZORA. Zbornik predavanj, 4. izobraževalni dan programa ZORA – ZORA 2013. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana: 2013: 7–11.
3. ZORA, državni program zgodnjega odkrivanja predrakavih sprememb. Dostopno na: <http://zora.onko-i.si/>
4. Papanicolaou GN, Traut HF. The diagnostic value of vaginal smears in carcinoma of the uterus, 1941. Arch Pathol Lab Med 1997; 121:211–24.
5. Repše Fokter A. Vrednotenje citološkega izvida in nova klasifikacija. Onkologija 2007, 9/1: 56-9.
6. Robert D. Burk, Zigu Chen, Koenraad Van Doorslaer. Human Papillomaviruses: Genetic Basis of Carcinogenicity Public Health Genomics. 2009 August; 12(5–6): 281–290. Published online 2009 August 11.
7. http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2008/press.html

8. Poljak M., Kocjan B.J., Seme K., Fujs K., Potočnik M., Luzar B., Gale N. Humani virusi papiloma (HPV). *Onkologija* 2005, 9: 60–72.
9. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology* 2004; 324: 17–27.
10. Uršič Vrščaj M RS, Možina A, Kobal B, Takač I, Deisinger D, Zore A. Smernice za celostno obravnavo žensk s predrakavimi spremembami materničnega vratu. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana; 2011.
11. Ivanuš U, Primic Žakelj M. Uporaba triažnega testa HPV v programu ZORA v letu 2012. Zbornik predavanj, 4. izobraževalni dan programa ZORA – ZORA 2013. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana; 2013: 27–34.
12. Arbyn M, Anttila A, Jordan J, Ronco G, Schenck U, Segnan N, et al., editors. European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening. 2 ed. Luxembourg: Office of Official Publications of the European Union, European Communities; 2008.
13. Priporočila Sveta EU z dne 2. decembra 2003 o presejalnih pregledih za odkrivanje raka (2003/878/EC), 327 (2003).
14. Karsa L, Anttila A, Ronco G, Ponti A, Malila N, Arbyn M, et al. Cancer screening in the European Union. Report on the implementation of the Council Recommendation on cancer screening, 1st report. Luxembourg: Services of the European Commission; 2008.
15. Weller DP, Patnick J, McIntosh HM, Dietrich AJ. Uptake in cancer screening programmes. *The Lancet Oncology*. 2009; 10(7): 693–9.
16. Primic-Žakelj M, Ivanuš U, Pogačnik A, Uršič-Vrščaj M. Poročilo o rezultatih državnega programa ZORA v letih 2007 in 2008. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana; 2009.
17. Državni program za obvladovanje raka, letno poročilo 2013. Republika Slovenija, Ministrstvo za zdravje, 2014 (dosegljivo na spletu).
18. Ivanuš U, Primc Žakelj M. Samoodvzem vaginalnega vzorca za test HPV pri neodzivnicah presejalnih programov raka materničnega vratu. *Onkologija* 2012; 14: 78–86.
19. de Sanjose S, Quint WG, Alemani L, et al. Human papillomavirus attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol* 2010; 11: 1048–56.
20. Jančar N., Vrtačnik Bokal E., Poljak M. Razporeditev genotipov človeških virusov papiloma pri bolnicah z rakom materničnega vratu in cervikalno intraepitelijsko neoplazijo tretje stopnje (CIN 3) v Sloveniji. *Onkologija* 2011, 15/2: 93–7.
21. Snijders PJF, Verhoef VMJ, Arbyn M, Ogilvie G, Minozzi S, Banzi R, vanKemenade FJ, Heideman DAM, Meijer CJLM. High-risk HPV testing on self-sampled versus clinician-collected specimens: A review on the clinical accuracy and impact on population attendance in cervical cancer screening. *Int. J. Cancer*, 2013: 132, 2223–36.
22. Arbyn M, Verdoodt F, Snijders PJF, Verhoef VMJ, Suonio E, Dillner L, Minozzi S, Bellisario C, Banzi R, Zhao FH, Hillemanns P, Anttila A. Accuracy of human papillomavirus testing on self-collected versus clinician-collected samples: a meta-analysis. www.thelancet.com/oncology, 2014/15; 172–83.
23. Eperon I, Vassilakos P, Navarria I, Menoud PA, Gauthier A, Pache JC, Boulvain M, Untie S, Petignat P. Randomized comparison of vaginal self-sampling by standard vs. dry swabs for Human papillomavirus testing. *BMC Cancer* 2013, 13: 353. <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/13/353>
24. Jones HE, Mansukhani MM, Tong GX, Westhoff CL. Validity and Reliability of Using a Self-Lavaging Device for Cytology and HPV Testing for Cervical Cancer Screening: Findings from a Pilot Study. *PLOS ONE* 2013; 8/12: 1–7.
25. Léniz J, Barriga MI, Lagos M, Mol B, Ibáñez C, Pusche KI, Ferreccio C. HPV vaginal self-sampling among women non-adherent to Papanicolaou screening in Chile. *Salud pública de México* 2013; 55/ 2, 162–9.
26. Rozemeijer K et al. Offering Self-Sampling to Non-Attendees of Organized Primary HPV Screening: When Do Harms Outweigh the Benefits? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; 24(5) May 2015; 773–82.