

## Triaža žensk s pozitivnim izvidom presejalnega testa HPV s citološkim pregledom brisa materničnega vratu

Margareta Strojan Fležar<sup>1</sup>, Ana Pogačnik<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Inštitut za patologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Korytkova 2, Ljubljana

<sup>2</sup>Program in register ZORA, Onkološki inštitut Ljubljana, Zaloška 2, Ljubljana

### Povzetek

S citološkim pregledom brisa materničnega vratu (BMV) so vse od 50-ih let prejšnjega stoletja dalje v razvitem svetu reševali življenja mnogih žensk, ker so lahko v razmazih, obarvanih po Papanicolaou, odkrivali predrakave spremembe in rak materničnega vratu (RMV). Kot noben test v medicini tudi test PAP ali citološki pregled BMV ni idealen in ne odkrije vseh pomembnih sprememb, ki potrebujejo zdravljenje. Odkritje povezave predrakavih sprememb in RMV z okužbo s človeškimi papilomavirusi z visokim tveganjem (angl. *human papillomaviruses*, HPV) je spodbudilo izdelavo novih testov, ki tovrstno okužbo odkrivajo in so lahko uporabni tudi za presejanje predrakavih sprememb in RMV. Da bi preprečili pretirano diagnostiko in zdravljenje sprememb nizke stopnje, ki se vzporedno odkrivajo, bomo potrebovali dodatne teste. V področju triaže HPV-pozitivnih žensk se odpira nova vloga citološkega pregleda BMV kot diagnostičnega testa.

**Ključne besede:** test PAP, bris materničnega vratu, predrakave spremembe, presejalni program

### Ozadje

V slovenskem državnem programu ZORA uporabljamo za presejanje predrakavih sprememb in raka materničnega vratu (RMV) konvencionalne brise materničnega vratu (BMV), ki so odvzeti z loparčkom s transformacijske cone in iz kanala materničnega vratu s krtačko, neposredno razmazani na objektno stekelce in takoj fiksirani (1–5).

Register ZORA je prvo leto izvajanja Državnega programa ZORA (leta 2003) zabeležil 211 novih primerov RMV (groba incidenčna stopnja 20,7/100.000), po zadnjih zbranih podatkih (leta 2015) pa je bilo število novih primerov 119 (11,4/100.000), kar je skoraj polovico manj (43,6 %) in to štejemo za velik uspeh programa. Verjamemo, da del tega uspeha lahko pripišemo tudi citološkemu pregledu BMV kot osnovni metodi presejanja v DP ZORA (4).

Odkritje o povezanosti predrakavih sprememb in RMV z okužbo s človeškimi papilomavirusi z visokim tveganjem (angl. *human papillomaviruses*, HPV) je spodbudilo izdelavo novih testov, ki tovrstno okužbo odkrivajo (6). V želji po izboljšanju presejanja za RMV potekajo v svetu številne študije in razprave o primarnem presejanju za RMV s testiranjem na okužbo s tovrstnimi HPV, ki je bolj občutljivo, vendar manj specifično kot citološki pregled BMV za odkrivanje predrakavih sprememb z visokim tveganjem za napredovanje v RMV (cervikalna intraepiteljska neoplazija stopnje 2 in več (CIN2+) (7).

Zato je smiselno uporabiti dodatno metodo, ki bi bolje opredelila, katere ženske potrebujejo nadaljnjo diagnostiko s kolposkopijo. Okužba s HPV je namreč veliko pogostejša kot predrakave spremembe ali RMV. HPV-pozitivne ženske lahko prebolevajo samo klinično nepomembno, prehodno okužbo ali pa okužbo, ki ne povzroča predrakavih sprememb z visokim tveganjem za RMV (7). Čakanje na morebitno kontrolo čez eno leto je zato za HPV-pozitivne ženske znatno psihološko breme s številnimi vprašanji glede njihove spolnosti in tudi odločitve za potomstvo. Po drugi strani je takojšnja napotitev HPV-pozitivnih žensk na kolposkopijo vprašljiva, saj lahko povzroči pretirano diagnostiko in zdravljenje sprememb nizke stopnje, ki bi s časom lahko same izzvenele, kar je še posebej pomembno za mlade ženske med 20. in 25. letom (7, 8).

### Triaža s citološkim pregledom brisa materničnega vratu

#### Definicija

Osnovna naloga triažnih metod je ločevanje HPV-pozitivnih žensk na tiste z visokim in tiste z nizkim tveganjem za razvoj RMV. Cilj je, da HPV-pozitivne ženske z visokim tveganjem za RMV napotimo na nadaljnjo diagnostiko, manj ogrožene pa po izzveneli okužbi varno vrnemo v presejanje. Triaža s citološkim pregledom brisa materničnega vratu (sekundarno testiranje) je ena od metod, ki jih priporočajo v suplementu Evropskih smernic za

zagotavljanje kakovosti v presejanju za RMV (v nadaljevanju Evropske smernice) za testiranje žensk, ki so v primarnem testiranju HPV-pozitivne. Smernice priporočajo, da se citološka triaža izvede takoj, najbolj primerna je uporaba tistega vzorca, ki je bil odvzet za presejanje s testom HPV (8).

### **Evropske smernice**

Napotitev HPV-pozitivnih žensk v primarnem presejanju na diagnostične preiskave, najprej na kolposkopijo, je odvisna od citološke ocene (8).

- Pri spremembah visoke stopnje s citološko oceno atipične ploščate celice, ni mogoče izključiti ploščatocelične intraepitelijske lezije visoke stopnje (APC-VS), ploščatocelična intraepitelijska lezija visoke stopnje (PIL-VS), endocervikalni adenokarcinom in situ (AIS) ali več moramo ženske brez odlašanja ali nadaljnega testiranja napotiti na kolposkopijo.
- Ženske, pri katerih ugotovimo blage citološke spremembe atipične ploščate celice, neopredeljene (APC-N) ali ploščatocelično intraepitelijsko lezijo nizke stopnje (PIL-NS) in tudi atipične žlezne celice, neopredeljene (AŽC-N), glede na Evropske smernice lahko spremljamo s ponovnim testiranjem na HPV čez 6 do 12 mesecev ali pa jih napotimo na kolposkopijo.
- HPV-pozitivne ženske z negativno citologijo prav tako potrebujejo spremljanje, ki so ga v študijah izvajali s ponovnim testiranjem na HPV čez 6 do 12 mesecev in jih napotili na kolposkopijo, če je bil test HPV ponovno pozitiven. Direktna napotitev HPV-pozitivnih žensk z negativno citologijo na kolposkopijo ni priporočena.

Ponovno testiranje HPV-pozitivnih žensk, ki so imele negativni triažni citološki test, lahko glede na Evropske smernice izvedemo čez 6 do 12 mesecev s citološkim pregledom vzorca materničnega vratu, ki je enako sprejemljiv postopek kot ponovno testiranje na HPV (8). Druga možnost pa je, da lahko ženske ponovno testiramo na HPV (s ponovno citološko triažo ali brez nje) čez najmanj 12 mesecev. Podobno kot pri prvi triaži tudi pri ponovnem testiranju priporočajo takojšnjo napotitev na kolposkopijo, če najdemo v vzorcu materničnega vratu APC-N ali hujše citološke spremembe. Če je ponovna citologija negativna, so sprejemljivi različni pristopi (ponovno testiranje čez 12 mesecev, kolposkopija, vrnitev v presejanje). Če je test HPV pri ponovnem testiranju negativen, se ženske vrne v presejanje brez citološkega pregleda vzorca (8).

### **Metode**

#### **• Tekočinska citologija**

Glede na priporočilo v Evropskih smernicah, ki povzemajo rezultate številnih študij, naj bi za citološko

triažo uporabili isti vzorec BMV, ki je bil odvzet in uporabljen za primarno testiranje na HPV (8). Transportni medij za testiranje celic BMV na HPV je tekočina, zato je smiselno del iste celične suspenzije uporabiti za citološki pregled.

V 90-ih letih prejšnjega stoletja so poskušali izboljšati testa PAP z uvedbo t. i. tekočinske citologije (TC), s katero bi dosegli standardizacijo postopka priprave vzorca za citološko preiskavo, boljšo kakovost vzorca, hitrejše pregledovanje in omogočili kontrolo kakovosti (9, 10). Celice, odvzete iz transformacijske cone materničnega vratu z ustreznim pripomočkom (loparček s podaljšanim koncem za kanal materničnega vratu, krtačka, metlica, ipd.) zberemo v posebni transportni tekočini; dobimo torej celično suspenzijo. V citološkem laboratoriju obdelajo vzorce BMV v posebni napravi, ki avtomatsko naključno izbere celice v vzorcu (celični suspenziji) in jih nanese na objektno stekelce. Trenutno si največji delež na tržišču delita sistema Thin-Prep® in BD SurePath™ (11, 12). Študije so pokazale, da je najpomembnejša prednost TC manjši delež neuporabnih vzorcev, krajši čas svetlobno-mikroskopskega pregledovanja, celični vzorec, ki ostane v mediju, pa lahko uporabimo za dodatne metode (npr. imunocitokemično barvanje p16/Ki67) (9, 10, 13).

Slaba stran tekočinske citologije so višji stroški (osnovna investicija v napravo za pripravo vzorcev in sproti stroški) v primerjavi z običajnim razmazom in odvisnost od proizvajalčevih materialov za enkratno uporabo (9, 10). Presejalci in citopatologi se morajo dodatno usposobiti za pregledovanje vzorcev TC, ker je citomorfološka slika spremenjena.

Raziskave so pokazale, da so v presejalnih programih s citološkim pregledom v vzorcih TC odkrili več citoloških sprememb nizke stopnje, niso pa ugotovili znatnih razlik za odkrivanje sprememb visoke stopnje, ki je glavni cilj presejanja za raka materničnega vratu (9, 10).

Prednost obeh komercialno najbolj razširjenih sistemov je, da tekočinski medij dovoljuje kakovostno izvedbo testa HPV in dobro ohranjene celice za citološko oceno (14, 15).

#### **• Konvencionalni razmaz**

V triaži HPV-pozitivnih žensk lahko za citološki pregled uporabimo tudi običajen razmaz BMV, ki je veliko cenejši, vendar pri tem naletimo na več problemov. Če pri ženskah ob odvzemu presejalnega testa HPV istočasno ne odzamemo BMV za citološki pregled, bomo morali HPV-pozitivne ženske ponovno klicati na odvzem BMV. Lahko pa istočasno z odvzemom vzorca za HPV-testiranje odzamemo tudi konvencionalni BMV, za katerega pa ne vemo,

ali ga bomo potrebovali (ne vemo, ali bo ženska HPV-pozitivna). Pri tovrstnem pristopu tudi ne moremo zanesljivo vedeti, ali bodo diagnostične celice dovolj enakomerno razdeljene med tekočinski vzorec za testiranje na HPV in razmazom za citološki pregled. Če celice BMV, ki smo jih iz pripomočka za odvzem BMV sprali v transportno tekočino in dobili celično suspenzijo, razdelimo v dva enaka dela, je verjetnost enakomerne porazdelitve diagnostičnih celic večja.

### **Potencialne dodatne metode**

V 90-ih letih prejšnjega stoletja se je začel tudi razvoj slikovnih citometrov za avtomatsko presejanje brisov materničnega vratu. Osnovni namen je bil povečati zanesljivost presejanja (zvišati občutljivost in specifičnost), zmanjšati delovno breme z BMV v citoloških laboratorijih in znižati stroške presejanja. Princip delovanja slikovnih citometrov je zajeti svetlobno-mikroskopsko sliko celic z ustreznim računalniškim programom, izbrati spremenjene celice in jih na ekranu predstaviti ocenjevalcu (presejalcu, citopatologu) (1). Agencija za hrano in zdravila v ZDA je v tedanjem času odobrila dve napravi, eno za kontrolo kakovosti presejanja negativnih brisov in drugo za primarno presejanje in kontrolo kakovosti. Sodobni komercialno dostopni napravi, ki imata odobritev ameriške Agencije za hrano in zdravila za uporabo v presejanju za RMV sta BD FocalPoint™ GS Imaging System (BD Diagnostics, Franklin Lakes, NJ, ZDA) in ThinPrep Imaging System (Hologic™, Bedford, MA, ZDA) (16).

### **Izzivi**

V suplementu Evropskih smernic za presejanje za raka materničnega vratu iz leta 2015 navajajo, da se obravnava žensk po pozitivnem presejalnem testu HPV razlikuje med državami in ni zadostnih dokazov za eno samo priporočilo za vse primere. Pri odločitvi za določeno triažno metodo je treba upoštevati ne le prevalence okužbe s HPV z visokim tveganjem za RMV, ampak tudi kakovost in organizacijo obstoječega presejanja s citološkim pregledom brisa materničnega vratu (8).

Če bi sprejeli odločitev, da uveljavljeno presejanje s citologijo BMV nadomesti primarno presejanje s testom na HPV, bi triaža HPV-pozitivnih žensk s citološki pregledom BMV spremenila vlogo citološkega pregleda BMV, ki bi postal del diagnostične obravnave žensk. S tem se spremeni vrsta in breme dela v citoloških laboratorijih; čeprav bo število citoloških vzorcev BMV nižje, se bo povečal delež vzorcev, v katerih bomo odkrili spremenjene celice. Citologi bodo tudi obremenjeni z vedenjem, da je ženska HPV-pozitivna, vendar v praksi to ne bi

smelo znižati specifičnosti citologije (8). Ob morebitni spremembi presejalne politike bo potrebno dodatno izobraževanje, ustrezen nadzor kakovosti dela in skrbno spremljanje pozitivne napovedne vrednosti triaže s citologijo (8).

### **Zaključek**

Z novimi možnostmi za presejanje za RMV s testi HPV in v populacijah, ki so bile deležne cepljenja proti HPV z visokim tveganjem za RMV, bo potrebno na novo opredeliti vlogo testa PAP. Predpostavljajo, da bi z novimi presejalnimi metodami, ki uporabljajo test HPV, odkrili več predrakavih sprememb visoke stopnje, vendar bo potrebno paziti, da nove metode ne bodo povzročile pretirane diagnostike in preveč zdravljenja sprememb, ki nimajo potenciala za napredovanje v RMV. Ne smemo pozabiti, da novi in potencialno boljši testi ne pomagajo ženskam, ki zaradi različnih vzrokov niso testirane. Zato je ob uvajanju novih metod še vedno pomembno nadaljnje izobraževanje žensk, da bodo sprejele povabilo presejalnega programa, kar je osnovni pogoj, da se RMV lahko prepreči.

### **Literatura**

1. Koss GK, Melamed MR. Koss's diagnostic cytology and its histopathologic bases. 5th edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.
2. DeMay RM. The Pap Test. American Society of Clinical Pathology, Chicago, 2005.
3. Arbyn M, Anttila A, Jordan J, Ronco G, Schenck U, Segnan N, Wiener HG, Herbert A, Daniel J, von Karsa L, eds. European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening. 2<sup>nd</sup> ed. International Agency for research on Cancer; 2008.
4. ZORA. Državni program zgodnjega odkrivanja predrakavih sprememb materničnega vratu [internet]. Onkološki inštitut Ljubljana [cited 2017 April 8]. Dostopno na: <http://zora.onko-i.si/>.
5. Primic – Žakelj M, Uršič – Vrščaj M, Pogačnik A, Ivanuš U. Navodila ginekologom za delo v programu ZORA. Ljubljana: Onkološki inštitut; 2011.
6. Zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. Nat Rev Cancer. 2002; 2 (5); 342-50.
7. Arbyn M, Ronco G, Antila A, Meijer CJ, Poljak M, Ogilvie G, et al. Evidence regarding human papillomavirus testing in secondary prevention of cervical cancer. Vaccine. 2012; 30 (Suppl 5): F88-99.
8. Ronco G, Arbyn M, Meijer CJLM, Sniders PJF, Cuzick J. Screening for cervical Human papillomavirus in cervical cancer screening. In: Anttila A, Arbyn M, de Vuyst H, Dillner J, Dillner L, Francheschi S, et al. European guidelines for quality assurance, 2nd ed. Suppl. Luxembourg: Publication Office of the European Union 2015:1-36.
9. Zeppa P. Liquid-Based Cytology: A 25-Year Bridge between the Pap Smear and Molecular Cytopathology. Acta Cytologica 2014;58:519-521.

10. Siebers AG1, Klinkhamer PJ, Grefte JM, Massuger LF, Vedder JE, Beijers-Broos A, Bulten J, Arbyn M. Comparison of liquid-based cytology with conventional cytology for detection of cervical cancer precursors: a randomized controlled trial JAMA 2009;302(16):1757-1764. [published correction JAMA 2009;302(21):2322].
11. The ThinPrep Pap Test. [cited 2017 April 8]. Dostopno na: <http://www.thinprep.com/hcp/index.html>.
12. BD Surepath™ Pap Test. [cited 2017 April 8]. Dostopno na: <https://www.bd.com/tripath/physicians/surepath.asp>.
13. Schmidt D, Bergeron C, Denton KJ, Ridder R; European CINtec Cytology Study Group. p16/ki-67 dual-stain cytology in the triage of ASC-US and LSIL Papanicolaou cytology: results from the European equivocal or mildly abnormal Papanicolaou cytology. *Cancer Cytopathol* 2011;119:158-66.
14. Gilbert L, Oates E, Ratnam S. Stability of Cervical Specimens in SurePath Medium for Human Papillomavirus Testing with the Roche cobas 4800 Assay. *Journal of Clinical Microbiology*. 2013;51(10):3412-3414.
15. Roche Diagnostics USA. Roche Receives FDA Approval for Use of SurePath Preservative Fluid with cobas HPV Test for Cervical Cancer Screening. [cited 2017 April 8]. Dostopno na: <https://usdiagnostics.roche.com/en/surepath-FDA-approval.html>.
16. Kitchener HC, Blanks R, Cubie H, Desai M, Dunn G, Legood R, et al. MAVARIC – a comparison of automation-assisted and manual cervical screening: a randomised controlled trial. *Health Technol Assess* 2011;15(3).
17. Učakar V, Poljak M, Klavs I. Pre-vaccination prevalence and distribution of high-risk human papillomavirus (HPV) types in Slovenian women: a cervical cancer screening based study. *Vaccine*. 2012; 30 (2): 116-20.