

Czy nadchodzi zmierzch skriningu cytologicznego?

Is the PAP smear era coming to an end?

Ewa Nowak-Markwitz¹, Marek Spaczyński^{1,2}

¹ Klinika Onkologii Ginekologicznej, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, Polska

² Wydział Lekarski i Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Zielonogórski, Zielona Góra, Polska

Streszczenie

Po odkryciu roli wirusa brodawczaka ludzkiego (HPV) w rozwoju raka szyjki macicy jesteśmy świadkami dużych zmian dokonujących się w koncepcji i interpretacji procesu profilaktyki raka szyjki macicy. Profilaktyka pierwotna zyskała nowe narzędzie prewencji jakim są szczepionki przeciwwirusowe. W profilaktyce wtórnej, czyli wykrywaniu śródnamionkowej neoplazji (CIN) pojawiła się nowa metoda diagnostyczna – test HPV. W krótkim czasie zainicjowano badania, które miały określić przydatność testowania HPV w profilaktyce i w skriningu raka szyjki macicy. Wykazano, że test DNA HPV użyty w skriningu ma większą czułość w wykrywaniu CIN w porównaniu do testu cytologicznego (PAP) a kobiety HPV ujemne są lepiej i dłużej chronione przed zachorowaniem na raka szyjki macicy w porównaniu do kobiet z prawidłowym wynikiem PAP. Testy HPV mają także wartość predykcyjną, czyli wskazują, które kobiety są w grupie wysokiego ryzyka rozwoju raka szyjki macicy w przyszłości. Test cytologiczny nie ma wartości predykcyjnej, wskazuje tylko stan faktyczny w momencie jego wykonania. Wyniki te jednoznacznie wskazują, że era klasycznej cytologii raczej dobiega końca i będzie ona pełnić rolę drugorzędną w stosunku do testów HPV. Cały system badań przesiewowych w kierunku raka szyjki macicy musi zostać na nowo zdefiniowany i zorganizowany.

Słowa kluczowe: **cytologia / wirus brodawczaka ludzkiego / rak szyjki macicy / profilaktyka /**

Adres do korespondencji:

Ewa Nowak-Markwitz
Klinika Onkologii Ginekologicznej UM
60-535 Poznań, ul. Polna 33, Polska
tel./fax: +48 61 8419330
e-mail: ewamarkwitz@poczta.fm

Otrzymano: 30.08.2014
Zaakceptowano do druku: 30.10.2014

Ewa Nowak-Markwitz, Marek Spaczyński. Czy nadchodzi zmierzch skriningu cytologicznego?

Abstract

After the discovery of the role human papilloma virus (HPV) plays in the development of cervical cancer, we are witnesses to a change in the conception and interpretation of cervical cancer prevention processes. Primary prevention gained a new tool in the form of HPV vaccines. Secondary prevention, i.e. detection of cervical intraepithelial neoplasia (CIN), acquired a new diagnostic method – the HPV test. Studies were initiated in order to determine the usefulness of HPV tests in cervical cancer prevention and screening. They revealed that the DNA HPV test used in screening has higher sensitivity in CIN detection than PAP smear and that HPV-negative patients are better and longer protected against developing cervical cancer in comparison to women with normal PAP smear results. HPV tests also possess a predictive value, which detects women more susceptible to developing cervical cancer in the future. PAP smear does not have a predictive value. Instead, it only detects a presence or an absence of neoplasia at that particular time. These results clearly indicate that the era of classic PAP smear is indeed coming to an end, replaced by a new primary CIN screening tool – HPV test. The entire cervical cancer screening system must therefore be redefined and reorganized.

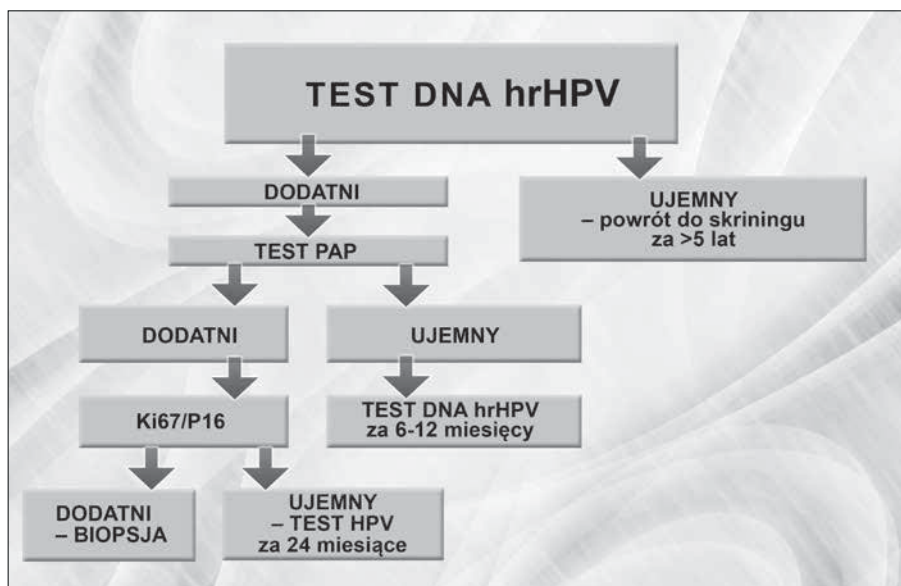
Key words: **human papilloma virus HPV / cervical cancer / prevention /**

W 1928 roku Georgios Papanikolaou po raz pierwszy wskazał, że ‘raka macicy’ można wykryć poprzez komórki obecne w rozmazie pobranym z szyjki. W latach 60-tych XX wieku, kraje skandynawskie jako pierwsze wprowadziły populacyjne programy profilaktyki tego nowotworu oparte na teście cytologicznym (PAP). W ciągu następnych 50 lat wiele krajów na świecie podążyło tą drogą budując programy populacyjne lub rozwijając skrining oportunistyczny. Efektem tych działań była znaczna redukcja zachorowań na raka szyjki macicy w krajach rozwiniętych, tam, gdzie badania były prowadzone [1, 2, 3]. Jednak nigdzie nie udało się całkowicie zlikwidować nowych zachorowań. Przyczyn tego stanu jest wiele. Przede wszystkim należy zaznaczyć, że w każdym kraju jest grupa kobiet, które nigdy nie poddają się badaniom. Brak skriningu jest największym czynnikiem ryzyka zachorowania na raka szyjki macicy. W Polsce na zaproszenia odpowiadało nieco ponad 20% kobiet [4]. Po drugie – test cytologiczny stosowany w skriningu jest badaniem subiektywnym i wykazuje średnią czułość i swoistość w wykrywaniu CIN2+, raka gruczołowego *in situ* (AIS) i raka. Mała czułość testu jest przyczyną niewykrycia wielu zmian CIN. Niewystarczająca swoistość testu PAP powoduje, że większość nieprawidłowych wyników, szczególnie ASCUS, LSIL nie znajduje potwierdzenia w toku dalszej diagnostyki, czyli nie znajduje się śródnamłonkowej neoplazji ani raka w badaniu histologicznym. U znacznej liczby kobiet należy wykonać dalsze procedury weryfikujące wynik cytologii. Takie działania generują określone, znaczne koszty ekonomiczne ale także społeczne. Każdą kobietę z nieprawidłowym wynikiem należy wezwać kolejny raz do przychodni, aby zgodnie z rekomendacjami wykonać diagnostykę pogłębioną. Mała czułość testu PAP odpowiada także za konieczność powtarzania badania w krótkich odstępach czasu – co 2-5 lat. Niebagatelną rolę odgrywają też koszty. W USA roczny koszt badań cytologicznych jest szacowany na 6 miliardów dolarów. W naszym kraju roczny budżet Programu Przesiewowego w latach 2007-2009 wynosił średnio 7 milionów PLN, a koszt jednego wykonanego badania wynosił średnio 65 PLN [5].

Odkrycie roli HPV w patogenezie raka szyjki macicy a następnie określenie typów onkogennych wirusa i skonstruowanie testów wykrywających zakażenie było początkiem ery badań

klinicznych, w których dążono do potwierdzenia lub zdyskredytowania zastosowania testów HPV w profilaktyce raka szyjki macicy. Pierwszym badaniem, które zwróciło uwagę na możliwość testowania kobiet za pomocą oznaczania DNA HPV było badanie The ASCUC LSIL Triage Study (ALTS) [6]. Uzyskane wyniki wywołały sporo kontrowersji, ponieważ mimo że wykazano przydatność testu HPV do wykrywania zmian CIN, to jednocześnie stwierdzono, że u młodych kobiet swoistość testu jest bardzo niska. Nic nie wskazywało wtedy, że za kilka lat koncepcja skriningu raka szyjki macicy może się zupełnie zmienić. Do tego jednak potrzeba było dalszych kilku lat badań zarówno nad biologią zakażenia wirusowego oraz nad rozwojem i walidacją kolejnych testów HPV. Testowano także nową koncepcję skriningu za pomocą testów DNA HPV. Opublikowano kilkadziesiąt publikacji, w których wykazano przydatność testów DNA hrHPV (*high risk* HPV – typy wysokoonkogenne) w różnych aspektach zastosowania do działań populacyjnych. W 2009 roku Sankaranarayanan wykazał, że jednokrotne wykonanie testu DNA HPV u kobiet, które nigdy nie były poddane badaniu cytologicznemu zmniejsza liczbę zgonów z powodu raka szyjki macicy o ponad 30% [7]. Ronco i wsp. wykazali, że skrining oparty na teście DNA HPV jest bardziej efektywny niż konwencjonalna cytologia w wykrywaniu CIN 2+ oraz raka szyjki macicy [8]. Ponadto stwierdzili, że jednokrotne testowanie DNA hrHPV redukuje zachorowalność na raka 6,5 razy oraz zmniejsza śmiertelność z powodu nowotworu w ciągu kolejnych 8 lat. W ten sposób wykazano, że najważniejszy element definiujący skrining wg WHO, czyli zmniejszenie śmiertelności w populacji został spełniony. Wreszcie populacyjne badanie fińskie przeprowadzone u 200 tysięcy kobiet potwierdziło, że populacyjny skrining wykonywany za pomocą testu DNA HPV jest bardziej efektywny w wykrywaniu zmian CIN3+ w porównaniu do konwencjonalnej cytologii [9]. Ponadto wskazano, że jednorazowy dodatni wynik testu DNA HPV jest czynnikiem predykcyjnym rozwinięcia się CIN3. W 2012 roku opublikowano badanie, które podczas 18-letniej obserwacji potwierdziło, że czułość testu DNA HPV w skriningu w zakresie wykrywania zmian CIN3+ jest wyższa w porównaniu do cytologii już po dwóch latach obserwacji. Wykazano również, że ryzyko jest szczególnie wysokie u kobiet HPV 16 i HPV 18 dodatnich

Ewa Nowak-Markwitz, Marek Spaczyński. Czy nadchodzi zmierzch skринingu cytologicznego?



Rycina 1. Proponowany algorytm skринingu raka szyjki macicy oparty o test HPV.

w porównaniu do kobiet zakażonych innymi wysokoonkogennymi typami HPV [10]. Jednym słowem uzyskano dowód, że dodatni test DNA HPV lepiej niż klasyczna cytologia wykrywa CIN2+ oraz posiada dużą wartość predykcyjną w prognozowaniu rozwinięcia się CIN w przyszłości.

Kobiety z ujemnym wynikiem testu HPV, a w badaniach przesiewowych jest ich zdecydowana większość, nie wymagają żadnych dalszych działań. Sprawą otwartą pozostaje nadal interwał tak prowadzonego skринingu. Wykazano, że większość zmian CIN u kobiet w wieku 20-49 lat jest wynikiem zakażenia nabytego w młodości. Badania wskazują, że jednokrotne testowanie w wieku pomiędzy 30 a 35 lat będzie wystarczające do stratyfikacji ryzyka CIN oraz ryzyka zachorowania na raka szyjki macicy. Powtarzanie testu DNA hrHPV co 5 lat lub więcej lat wydaje się być adekwatne do identyfikacji niewielkiej populacji kobiet, które nabyły zakażenie w późniejszym wieku [11].

Niewielka grupa kobiet z dodatnim wynikiem testu DNA hrHPV wymaga wdrożenia innego algorytmu postępowania w porównaniu do dodatniego wyniku testu PAP. Pierwszym etapem jest zróżnicowanie grupy chorych na te z zakażeniem przygodnym oraz zakażeniem przetrwałym. Wykonuje się badanie PAP (tzw. reflex cytology), którego czułość u kobiet DNA hrHPV dodatnich jest znacznie wyższa niż w ogólnie badanej populacji [12]. Prawidłowy wynik badania PAP pozwala na wykonanie testu HPV za 6-12 miesięcy, co z kolei ma wpływ na dalsze zmniejszenie populacji najwyższego ryzyka poprzez wyeliminowanie kobiet z zakażeniem przygodnym. Jednak, jeśli wykonano genotypowanie i wykazano w próbce skринingowej obecność HPV 16 i/lub HPV18 lub wynik PAP jest dodatni należy skierować chorą do badania kolposkopowego i biopsji lub wykonać badanie immunocytochemiczne na obecność białek Ki76 i P16 [13]. Nadekspresja tych białek wskazuje na toczący się proces CIN i chora wymaga wykonania biopsji lub konizacji diagnostyczno-terapeutycznej. Pacjentki P16 ujemne powinny mieć wykonany test HPV za 24 miesiące [14]. Badanie Ki67/P16 cechuje bardzo wysoka czułość i powtarzalność w diagnostyce CIN [15].

Oprócz kolposkopii i biopsji wszystkie przedstawione w powyższym algorytmie badania mogą być obecnie wykonywane automatycznie. Procedurę tę cechuje wysoka czułość oraz powtarzalność wyników. Warunkiem niezbędnym jest pobranie materiału od kobiety na podłoże płynne. W przypadku uzyskania dodatniego wyniku HPV z tej samej próbki komórek jest wykonywane badanie cytologiczne i test Ki67/P16. Automatyzacja zmniejsza koszty oraz wyklucza subiektywizm i błędy związane z pracą ludzką. Nie bez znaczenia jest także wyeliminowanie stresu kobiety związanego z kolejnymi wizytami i oczekiwaniem na wyniki badań.

Możliwe jest także pobieranie materiału do badania przez same pacjentki. Na rynku są już dostępne zestawy do samodzielnego pobierania komórek z pochwy. Zestawy te mogą być zintegrowane z automatyczną linią do testów skринingowych. Interesujący wydają się też fakt, że wykorzystanie możliwości samodzielnego pobierania materiału do testów HPV spowodowało, że w skринingu wzięły udział kobiety, które nigdy dotąd nie uczestniczyły w skринingu cytologicznym [16, 17, 18]. Samodzielne pobieranie związane jest z nieco mniejszą czułością testu HPV, w związku z powyższym sugeruje się aby do tego typu prób wykorzystywać tylko bardzo czułe testy.

Prowadzony przez wiele lat na świecie skринing cytologiczny ma wiele zalet i wad. Z pewnością w ciągu lat uratował wiele kobiet przez rakiem lub wykrył go we wczesnym stopniu zaawansowania co pozwoliło wyleczyć chore i uratować im życie. Jednak jego czułość i także swoistość jest znacznie mniejsza od oczekiwanej. Badanie cytologiczne jest w całości badaniem zależnym od człowieka, czyli bardzo subiektywnym. Jest to również badanie drogie. Proponowane obecnie algorytmy i urządzenia w dużej mierze eliminują udział człowieka w ocenie testu.

Zarówno testy HPV jak i badanie immunocytochemiczne ze względu na swój zero-jedynkowy wynik na pewno przyczynią się do lepszego wykrywania oraz predykcji zmian w nabłonku szyjki macicy. Jednak nie można także zapomnieć o jednocześnie prowadzonej od kilku lat profilaktyce pierwotnej w postaci

Ewa Nowak-Markwitz, Marek Spaczyński. Czy nadchodzi zmierzch skriningu cytologicznego?

szczepień przeciwko zakażeniu HPV. W ciągu kilku najbliższych lat pojawią się z pewnością wyniki badań zawierające propozycje nowe algorytmu skriningu raka szyjki macicy z uwzględnieniem populacji kobiet zaszczepionych, u których ryzyko zachorowania jest bardzo małe, ale jednak istnieje.

W świetle powyższych danych polski Program badań przesiewowych w kierunku raka szyjki macicy wydaje się być przestarzały i niewydolny. Niezbędne są nowe rekomendacje Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego w tym zakresie oraz zmiany w funkcjonowaniu Programu, ponieważ Polska nadal jest krajem o wysokiej zachorowalności na raka szyjki macicy.

13. Wentzensen N, Schwartz L, Zuna RE, [et al.]. Performance of p16/Ki-67 immunostaining to detect cervical cancer precursors in a colposcopy referral population. *Clin Cancer Res.* 2012, 18, 4154-4162.
14. 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, 505-509.
15. Wentzensen N, Fetterman B, Tokugawa D, [et al.]. Interobserver reproducibility and accuracy of p16/Ki-67 dual-stain cytology in cervical cancer screening. *Cancer Cytopathol.* 2014, 122, 914-920.
16. Gravitt PE, Belinson JL, Salmeron J, Shah KV. Looking ahead: a case for human papillomavirus testing of self-sampled vaginal specimens as a cervical cancer screening strategy. *Int J Cancer.* 2011, 129, 517-527.
17. Levinson KL, Abuelo C, Salmeron J, [et al.]. The Peru Cervical Cancer Prevention Study (PERCAPS): the technology to make screening accessible. *Gynecol Oncol.* 2013, 129, 318-323.
18. Lazzano-Ponce E, Lorincz AT, Cruz-Valdez A, [et al.]. Self-collection of vaginal specimens for human papillomavirus testing in cervical cancer prevention (MARCH): a community-based randomised controlled trial. *Lancet.* 2011, 378, 1868-1873.

Oświadczenie autorów:

1. Ewa Nowak-Markwitz – autor koncepcji i założeń pracy, przygotowanie manuskryptu i piśmiennictwa, korekta i akceptacja manuskryptu – autor zgłaszający i odpowiedzialny za manuskrypt.
2. Marek Spaczyński - autor koncepcji i założeń pracy, przygotowanie manuskryptu i piśmiennictwa, korekta i akceptacja manuskryptu.

Źródło finansowania:

Praca nie była finansowana przez żadną instytucję naukowo-badawczą, stowarzyszenie ani inny podmiot, autorzy nie otrzymali żadnego grantu.

Konflikt interesów:

Autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów oraz nie otrzymali żadnego wynagrodzenia związanego z powstawaniem pracy.

Piśmiennictwo

1. Wang SS, Carreon JD, Gomez SL, Devesa SS. Cervical cancer incidence among 6 asian ethnic groups in the United States, 1996 through 2004. *Cancer.* 2010, 116, 949-956.
2. Simonella L, Canfell K. The impact of a two- versus three-yearly cervical screening interval recommendation on cervical cancer incidence and mortality: an analysis of trends in Australia, New Zealand, and England. *Cancer Causes Control.* 2013, 24, 1727-1736.
3. Vaccarella S, Franceschi S, Engholm G, [et al.]. 50 years of screening in the Nordic countries: quantifying the effects on cervical cancer incidence. *Br J Cancer.* 2014, 111, 965-969.
4. Spaczyński M, Karowicz-Bilinska A, Rokita W, [et al.]. Attendance rate in the Polish Cervical Cancer Screening Program in the years 2007-2009. *Ginekol Pol.* 2010, 81, 655-663.
5. Spaczyński M1, Karowicz-Bilinska A, Kedzia W, [et al.]. Costs of population cervical cancer screening program in Poland between 2007-2009. *Ginekol Pol.* 2010, 81, 750-756.
6. A randomized trial on the management of low-grade squamous intraepithelial lesion cytology interpretations. ASCUS-LSIL Traige Study (ALTS) Group. *Am J Obstet Gynecol.* 2003, 188 (6), 1393-1400.
7. Sankaranarayanan R, Nene BM, Shastri SS, [et al.]. HPV screening for cervical cancer in rural India. *N Engl J Med.* 2009, 360, 1385-1394.
8. Ronco G, Giorgi-Rossi P, Carozzi F, [et al.]. New Technologies for Cervical Cancer screening (NTCC) Working Group .Efficacy of human papillomavirus testing for the detection of invasive cervical cancers and cervical intraepithelial neoplasia: a randomised controlled trial. *Lancet Oncol.* 2010, 11, 249-257.
9. Anttila A, Kotaniemi-Talonen L, Leinonen M, Hakama M, [et al.]. Rate of cervical cancer, severe intraepithelial neoplasia, and adenocarcinoma in situ in primary HPV DNA screening with cytology triage: randomised study within organised screening programme. *BMJ.* 2010, 340, c1804.
10. Castle P, Rydzak G, Rush B, [et al.]. Clinical Human Papilloma Virus detection forecasts cervical cancer risk over 18-years of follow-up. *J Clin Oncol.* 2012, 30, 3044.
11. Perty U. Real-world primary screening strategies & long-term safety: Perspective from Germany. Abstract from HPV Conference 2015, Lisabon.
12. Moriarty AT, Nayar R, Arnold T, [et al.]. The Tahoe Study: bias in the interpretation of Papanicolaou test results when human papillomavirus status is known. *Arch Pathol Lab Med.* 2014, 138, 1182-1185.