

# VU Research Portal

## **Novel biomarkers for cervical screening and surveillance of women treated for cervical precancer**

Uijterwaal, M.H.

2017

### **document version**

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

### **citation for published version (APA)**

Uijterwaal, M. H. (2017). *Novel biomarkers for cervical screening and surveillance of women treated for cervical precancer*.

### **General rights**

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

### **Take down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

### **E-mail address:**

[vuresearchportal.ub@vu.nl](mailto:vuresearchportal.ub@vu.nl)

## Samenvatting

Baarmoederhalskanker is de vierde meest voorkomende kanker bij vrouwen wereldwijd. Een persistente infectie met een oncogeen HPV type ligt hieraan ten grondslag. Aan baarmoederhalskanker gaan een aantal premaligne stadia vooraf. Dit biedt mogelijkheden voor screening en behandeling voorafgaand aan de ontwikkeling naar baarmoederhalskanker. Verbeteringen in de preventie van deze vorm van kanker is dan ook een continu proces. In landen die bevolkingsonderzoek ter preventie van baarmoederhalskanker hebben ingevoerd, is de incidentie en mortaliteit significant afgenomen. Dit proefschrift behandelt diverse aspecten van preventie van baarmoederhalskanker, en gaat in op zowel de screening van baarmoederhalskanker als de monitoring op (voorstadia van) kanker na behandeling.

**Hoofdstuk 1** bevat een algemene introductie over de baarmoederhals, het humaan papillomavirus (HPV) en de rol ervan in de ontstaanswijze van baarmoederhalskanker. Hierbij komen zowel de huidige preventieve strategieën, als follow-up na behandeling van premaligne laesies aan bod.

## Deel een: screening

In het Nederlandse bevolkingsonderzoek op baarmoederhalskanker (BVO) heeft ongeveer 2,5% van de deelnemende vrouwen een Pap2/3a1 testresultaat (borderline of mild dyskaryosis (BMD)). Aangezien cytologie een subjectieve methode is wordt het resultaat aanzienlijk beïnvloedt door de kwaliteit van de cytologie. Slechts 10-20% van deze vrouwen heeft een onderliggende CIN2+, en lopen daarmee risico op het ontwikkelen van kanker. Een aanvullende triagemethode is daarom gewenst om die vrouwen te selecteren die echt een voorstadium van baarmoederhalskanker hebben en om de vrouwen die BMD hebben maar geen voorstadium van kanker te beschermen tegen verder follow-up onderzoek.

In **hoofdstuk 2** hebben we de cross-sectionele en lange-termijn resultaten van de p16/Ki-67 immunohistochemische dubbelkleuring voor de detectie van CIN2+/3+ bij vrouwen met licht cytologische afwijkingen (pap2/3a1), gevonden bij het primair cytologisch bevolkingsonderzoek, geanalyseerd en vergeleken met directe HPV triage. De sensitiviteit en de negatief voorspellende waarde waren vergelijkbaar tussen beide methoden. De specificiteit van p16/Ki-67 dubbelkleuring was echter significant hoger dan van directe HPV triage, waarmee p16/Ki-67 dubbelkleuring een waardevolle aanvulling bij het triëren van vrouwen met licht cytologische afwijkingen is.

Diverse studies tonen aan dat de screening door middel van de HPV test een betere bescherming biedt tegen baarmoederhalskanker en de premaligne stadia dan screening

door middel van cytologie. Verschillende landen hebben reeds programma's ingevoerd met HPV als primair screeningsinstrument, of zijn bezig met de planning van de invoer (bijvoorbeeld Australië, Nederland, Italië, Zweden, Nieuw-Zeeland en Argentinië). Andere landen onderzoeken de mogelijkheden momenteel (bijvoorbeeld Engeland, Noorwegen en China).

In **hoofdstuk 3** hebben we de effectiviteit van HPV screening op CIN3+ geanalyseerd. Hiertoe hebben we het vijfjaarsrisico op (pre)maligniteit bij verschillende combinaties van HPV en cytologie testresultaten vergeleken. In het bijzonder is er gekeken naar het risico op een CIN2+/3+ bij HPV positieve vrouwen met een normaal cytologie testresultaat, aangezien dit risico bepalend is voor de duur van het screeningsinterval. In deze substudie van de VUSA-Screen (HPV DNA testen in het bevolkingsonderzoek naar baarmoederhalskanker) werden vrouwen onderzocht met zowel een HPV test als met een cytologie test resultaat.

De resultaten tonen aan dat HPV-positieve vrouwen met normale cytologie en een negatieve triagetest (cytologie na 6 maanden of directe HPV 16/18 genotypering) een CIN3+ risico hebben van ongeveer 4%. Aangezien de geaccepteerde CIN3+ risico drempel < 2% is moeten deze vrouwen binnen vijf jaar opnieuw getest worden.

Eerder is reeds besproken dat de meeste HPV infecties vanzelf in regressie gaan. Een belangrijk aandachtspunt bij de triage van HPV positieve vrouwen is daarom het voorkomen van onnodige verwijzingen en overbehandeling. Herhaal cytologie als triage test heeft als nadeel dat het resultaat sterk beïnvloed wordt door voorkennis over de HPV status van de vrouw, waardoor de specificiteit voor CIN2+ laag is. Een meer objectieve morfologische biomarker (p16/Ki-67 dubbelkleuring) is daarom als alternatief geanalyseerd in **hoofdstuk 4**. We hebben een retrospectieve evaluatie uitgevoerd op de cross-sectionele en lange-termijn voorspellende waarde van p16/Ki-67 dubbelkleuring bij HPV-positieve vrouwen met een normale cytologie uitslag, en de resultaten vergeleken met HPV16/18 genotypering. p16/Ki-67 dubbelkleuring had een hogere driejaars sensitiviteit voor CIN3+, maar een lagere specificiteit over drie jaar. Het vijfjaarsrisico op CIN3+ bij HPV-positieve vrouwen met normale cytologie is 6,9%. Wanneer deze vrouwen ook getest worden met p16/Ki-67 dubbelkleuring neemt het vijfjaarsrisico af tot 3,3% bij een negatief resultaat. Er is geen significant verschil in het vijfjaarsrisico op CIN3+ bij vrouwen met een negatief resultaat van p16/Ki-67 dubbelkleuring enerzijds of HPV16/18 genotypering anderzijds. Daarom blijft voor beide methoden een herhaalde screening binnen drie tot vijf jaar nodig, aangezien het vijfjaarsrisico op CIN3+ hoger dan het geaccepteerde risico van 2% na 5 jaar voor doorverwijzing naar de volgende screeningsronde.

## Deel twee: monitoring na behandeling

Deel twee focust op vrouwen die behandeld zijn voor CIN2/3. Deze vrouwen houden jarenlang een verhoogd risico op terugkeer van de infectie en dus op baarmoederhalskanker. In de meeste Europese landen worden deze vrouwen gecontroleerd met cytologie op zes, twaalf en 24 maanden na behandeling. Bij drie opeenvolgende negatieve uitslagen keren de vrouwen terug naar het normale screeningsprogramma. Onlangs is aangetoond dat het CIN2+ risico bij deze vrouwen met drie opeenvolgende niet-afwijkende cytologische uitstrijken gelijkwaardig is aan het risico bij gecombineerde HPV test en cytologie (co-test), zes en 24 maanden na behandeling. Om de test-eigenschappen van HPV, cytologie en de combinatie hiervan te evalueren hebben we een systematische review verricht, welke beschreven is in **hoofdstuk 5**.

De sensitiviteit van het testen met HPV om de aanwezigheid van CIN2+ te voorspellen was significant hoger dan de sensitiviteit van cytologie (92% tegen 79%), terwijl de specificiteit van beide testen gelijk was (76% en 81%). De sensitiviteit van co-testen (HPV en cytologie samen) was met 95% het hoogst, terwijl de specificiteit met 67% het laagst was. Dit review ondersteunt het includeren van het testen op de aanwezigheid van HPV in de follow-up van vrouwen behandeld voor CIN2/3.

Op basis van de resultaten beschreven in hoofdstuk 5 en verschillende andere gepubliceerde studies worden er in **hoofdstuk 6** aanbevelingen gedaan voor een nieuw protocol voor vrouwen behandeld voor een CIN2/3. Dit protocol behelst het gecombineerd testen van cytologie met HPV op zes en 24 maanden na behandeling. Als beide testen negatief zijn op beide test-momenten, worden vrouwen terug verwezen naar het huidige screeningsprogramma. Recent zijn deze voorstellen door de Nederlandse Vereniging van Obstetrie en Gynaecologie opgenomen in het protocol voor vrouwen behandeld voor een CIN2/3.

De groep vrouwen bij wie na behandeling opnieuw CIN2/3 wordt vastgesteld is heterogeen: de ziekte na behandeling kan zowel een recidief als een incidente laesie betreffen. Om het beleid bij vrouwen die gediagnosticeerd zijn met teruggekeerde CIN2/3 te optimaliseren met een meer objectieve moleculaire marker, hebben we de prestaties van de bi-marker CADM1/MAL methyleringstest in een prospectieve studie geëvalueerd bij de monitoring van vrouwen met ziekte na behandeling. Recent is namelijk geclaimd dat deze methylatie test CIN2/3 detecteert met een op kanker-gelijklend methylatie profiel (geavanceerde CIN laesies). In contrast tot incidente laesies wordt dit profiel gevonden in CIN laesies met een langer bestaande HPV infectie (>5 jaar) die tevens veel chromosomale afwijkingen hebben. Daarom is geargumenteed dat deze geavanceerde laesies een hoog korte termijn risico op kanker hebben. De resultaten zijn beschreven in **hoofdstuk 7**, waarbij onderscheid is gemaakt tussen residuele in incidente laesies. Hierin is aangetoond dat bij alle vrouwen met CIN3+ na behandeling de oorzaak lag

in een persistente (en dus langer bestaande) HPV infectie. Tweederde van deze laesies hadden een positief methyleringsresultaat, waaronder de drie casus waarbij reeds sprake was van kanker. Verder hadden alle vrouwen met een incidente CIN2 laesie na behandeling, een negatief methyleringsresultaat. Wanneer we de resultaten op baseline en lange termijn combineren, versterkt dit het beeld dat een positieve methyleringsuitslag bij follow-up na behandeling sterk voorspellend is voor onderliggende CIN3+. Samenvattend geldt dat het toepassen van de bi-marker CADM1/MAL methylerings test bij de monitoring van behandelde vrouwen een sterke voorspeller is op het ontdekken van kanker en gevorderde CIN.

In de algemene discussie in **hoofdstuk 8.1** zijn argumenten beschreven voor de implementatie van de HPV test als primair screenings instrument in het bevolkingsonderzoek of als secundair triage instrument bij cytologie gebaseerd screening onderzoek in te voeren, om de efficiëntie van cervicale screening te verbeteren. Aanvullend wordt aandacht besteed aan recent aanbevolen triage strategieën alsmede objectieve, niet-morfologische triage strategieën voor HPV positieve vrouwen. In **hoofdstuk 8.2** zijn de belangrijkste boodschappen van dit proefschrift vermeld, en wordt een perspectief geboden op de toekomst van dit onderzoeksveld.