

# Molekularbiologische Prognosemarker zur Ergänzung der gynäkologischen Zytodiagnostik

Management von unklaren oder pathologischen Zytologiebefunden

## ÄRZTLICHE INFORMATION

### 1. Einleitung/Zytologie

### 2. Molekularbiologische Marker: HPV-Teste

#### 1. Einleitung/Zytologie

Durch die gynäkologische Zytologie im Rahmen der Krebsvorsorge wurde die Inzidenz des Zervixkarzinoms drastisch gesenkt. Präkanzerosen werden frühzeitig erkannt und therapiert.

Das Management der Präkanzerosen wird durch den Einsatz molekularbiologischer Untersuchungen verbessert. Wie der ergänzende Einsatz der Molekularbiologie die Beurteilung unklarer zytologischer Befunde (Pap II-p/-g; Pap III-p/-g) oder persistierender Pap IIID1/2-Befunde erleichtert und somit wertvolle Zusatzinformationen für die weitere Abklärung liefert, wird im Folgenden erläutert.

#### 2. Molekularbiologische Marker: HPV-Teste

Der erste diagnostische Schritt zur weiteren klinischen Einschätzung nach auffälligen/atypischen Zellabstrichen ist die Bestimmung des HPV-Status.

Die etablierten HPV-Teste sind entweder Untersuchungen nach dem Hybrid Capture- oder PCR-Verfahren. Bei beiden Methoden wird die DNA relevanter HPV-Subtypen detektiert. Wir setzen allgemein eine real-time PCR-Methode ein. Diese ermöglicht uns, in einem Analyseschritt sowohl die vierzehn wichtigsten high risk-Typen zu bestimmen als auch eine getrennte Gentypisierung für die HPV-Typen 16 und 18 selektiv durchzuführen. Dadurch erhält man eine gewisse Risikoabschätzung.

Der Einsatz des HPV-DNA-Testes ist sinnvoll zur weiteren Diagnostik bei auffälligen zytologischen Befunden (s. Abb. 2a) wie auch im Rahmen der Nachsorge von operierten Dysplasien (CINI-III) bzw. Karzinomen.

Eine weitere Möglichkeit ist der Nachweis von E6/E7 mRNA (APTIMA®). Das Risiko, dass aus einer Dysplasie ein Karzinom entsteht, erhöht sich, wenn die HPV-DNA in das Wirtsgenom integriert wird. Die daraus resultierende Überexpression von E6/E7 mRNA hebt den Kontrollmechanismus der Zelle auf. Den Nachweis der Überexpression von E6/E7 mRNA kann man molekularbiologisch mit dem APTIMA®-Test durchführen. Ist der APTIMA®-Test positiv, ist die Wahrscheinlichkeit einer Progression deutlich erhöht. Bei einem negativen Befund ist das

### 3. immunzytochemische Färbung: CINtec® PLUS, Cytoactiv®

### 4. Einsatz der Dünnschichtzytologie bei auffälligen Vorbefunden

Progressionsrisiko sehr gering, die Remission wahrscheinlicher und eine abwartende Haltung mit entsprechenden zytologischen Kontrollen ausreichend.

Der HPV-mRNA-Test (APTIMA®) wird zur weiteren Diagnostik/Differenzierung eines auffälligen zytologischen Befundes (s. Abb. 2a und 2b) eingesetzt. Im Rahmen der Nachsorge ist der APTIMA®-Test zur Zeit noch nicht zugelassen.

Die HPV-Teste (nur high-risk) und der APTIMA®-Test sind Kassenleistungen, falls vorhergehende Zytologiebefunde in eine der Gruppen IIID1, IIID2, III-g oder III-p (oder höher) eingestuft wurden. Der HPV-DNA-Test ist im Rahmen der Nachsorge (nach zumindest CIN I oder höher) ebenfalls Kassenleistung. In allen anderen Fällen sind die HPV-Bestimmungen Privat- bzw. IGe-Leistungen.

Hatten Sie bei einer Patientin eine Dünnschichtzytologie mit dem entsprechenden Vial zugeschickt, kann der HPV-Test nachträglich aus dieser Flüssigkeit durchgeführt werden, ohne dass die Patientin wieder einbestellt werden muss.

### 3. immunzytochemische Färbung: CINtec® PLUS, Cytoactiv®

In den vergangenen Jahren wurden verschiedene molekularbiologische Marker für die Zytologie entwickelt. Diese Marker verbessern die Risikoeinschätzung der auffälligen Abstriche. Hierbei handelt es sich um immunzytochemische Färbungen. Sie sind an den uns vorliegenden, auffälligen Abstrichen durchzuführen.

#### p16/Ki-67-Bestimmung (CINtec® PLUS)

Dieser Test weist in einem Färbeschritt sowohl die Überexpression des Antiproliferationsmarkers p16 als auch den Proliferationsmarker Ki-67 nach. Bei gesunden Zellen ist der gleichzeitige Nachweis von p16 und Ki-67 in ein und derselben Zelle ausgeschlossen!

Kommt es bei einer Zelle des Zervixepithels durch eine persistierende high risk HPV-Infektion zu einer onkogenen Transformation, finden wir eine Überexpression von p16. Somit ist der gleichzeitige Nachweis dieser Gene in ein und derselben Zellen der Beweis für das Vorliegen eines pathologischen Zustandes (Abb. 1).

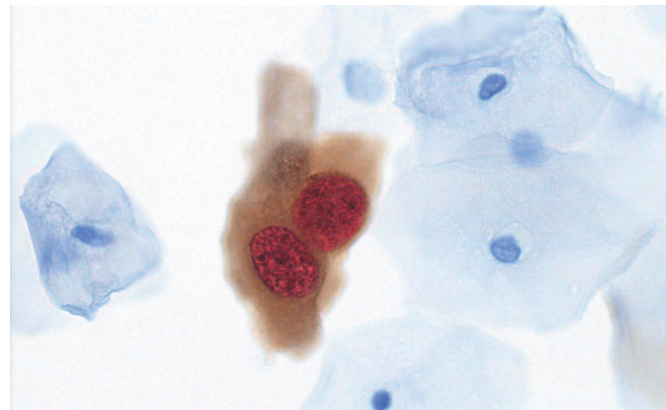


Abb. 1: Immunzytochemische Simultanfärbung (»dual stain«) von p16 und Ki-67

Ein positives Testresultat geht mit einem Progressionsrisiko von > 80 % einher (Abb. 1). Bei einem negativem Testergebnis ist eine maligne Transformation/Progression eher unwahrscheinlich (< 30 %).

Der CINtec® PLUS-Test ist eine sinnvolle diagnostische Ergänzung bei Befunden der zytologischen Gruppe IIp/g, III-p/g und III, sowie ggf. auch bei Gruppe IIID1.

**L1-Kapsid-Bestimmung (Cytoactiv®)**

Das L1-Kapsid repräsentiert als Virus-Hüllprotein das immunogene Korrelat des HPV-Virus. Solange das Virus nicht in das Zellgenom integriert ist, wird L1-exprimiert.

Der Nachweis des L1-Kapsids im pathologischen Abstrich mittels immunzytochemischer Anfärbung (= positives Testergebnis) spricht für eine hohe lokale Immunogenität und damit für eine hohe Regressionswahrscheinlichkeit der Zellläsion (Abb. 3). Im Umkehrschluss geht der fehlende Nachweis des L1-Kapsids (= negatives Testergebnis) mit einer hohen Progressionswahrscheinlichkeit einher.

Die Indikation für den Cytoactiv®-Test ist die persistierende Gruppe IIID1/2. Voraussetzung für die Durchführung des Tests ist die Kenntnis des HPV-Status. Liegt kein HPV-Infekt vor, fällt das Testergebnis falsch-negativ aus.

Der in Abb. 2a und b aufgezeigte Algorithmus soll das sinnvolle Procedere nach auffälligen Abstrichen aufzeigen.

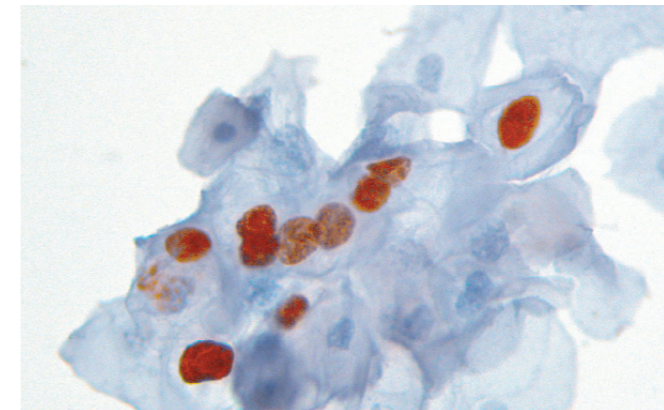


Abb. 3: Immunzytochemischer Nachweis von L1-Kapsid

**4. Einsatz der Dünnschichtzytologie bei auffälligen Vorbefunden**

Alle Frauen ab 20 haben ein Anrecht auf einen jährlichen zytologischen Vorsorgeabstrich. Im Rahmen der präventiven Krebsvorsorge darf jedoch nur ein konventioneller zytologischer Abstrich angefertigt werden.

Über 97 % dieser Abstriche sind unauffällig, ca. 1,5 – 3 % sind pathologisch bzw. auffällig.

Zytologiebefunde der Gruppe IVa/IVb/V, im Einzelfall auch der Gruppe III-p/g/e/x, müssen kurzfristig histologisch abgeklärt bzw. behandelt werden.

Abstriche der Gruppe II-p/g /III-p/g/IIID1/2 werden in der Regel zytologisch kontrolliert.

Für diese Kontrollen bieten wir Ihnen im Rahmen der kurativen Zytologie die Möglichkeit an, uns anstatt eines konventionellen einen Dünnschichtabstrich (ThinPrep™, SurePath™) zu schicken.

**Die Vorteile der Dünnschichtzytologie sind:**

- weniger inadäquate Abstriche,
- weniger Blutüberlagerungen,
- weniger Leukozytenüberlagerungen,
- weniger Epithelüberlagerungen.

Somit erhalten Sie mit einer Dünnschichtzytologie eine präzisere morphologische Aussage, da die diagnostische Sicherheit nicht durch negative Begleitumstände (z. B. Überlagerungen) behindert wird.

Zudem besteht die Möglichkeit, weitere Untersuchungen durchzuführen wie z. B. einen HPV-Test oder immunzytochemische Färbungen.

Bei der Dünnschichtzytologie im Rahmen des kurativen Kontrollabstriches entstehen bei Kassenpatienten weder den Patienten noch Ihnen zusätzliche Kosten. Gegenüber den Kassen wird diese Zytologie wie beim konventionellen Abstrich abgerechnet.

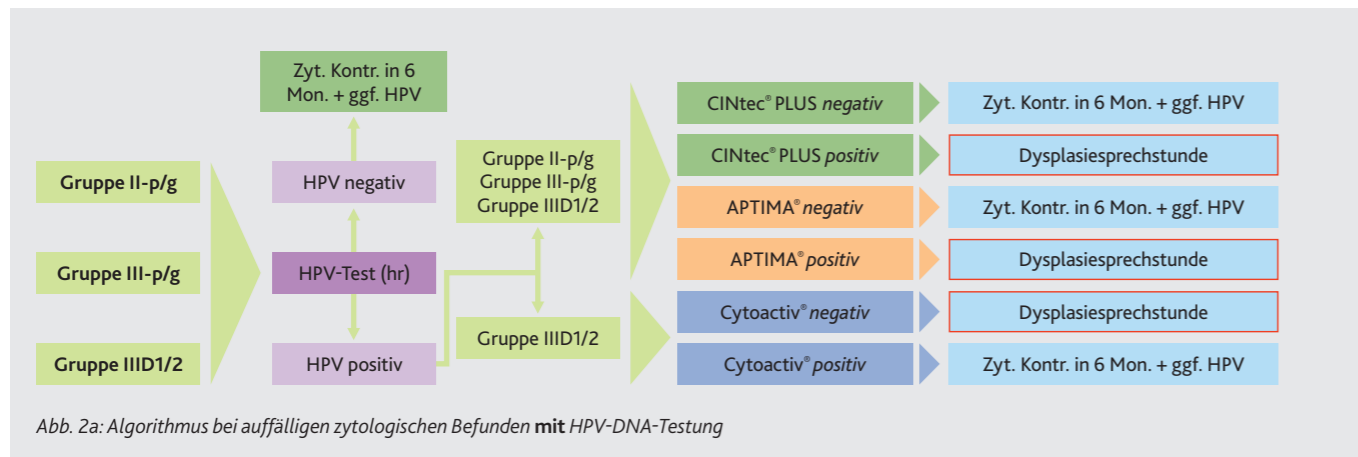


Abb. 2a: Algorithmus bei auffälligen zytologischen Befunden mit HPV-DNA-Testung

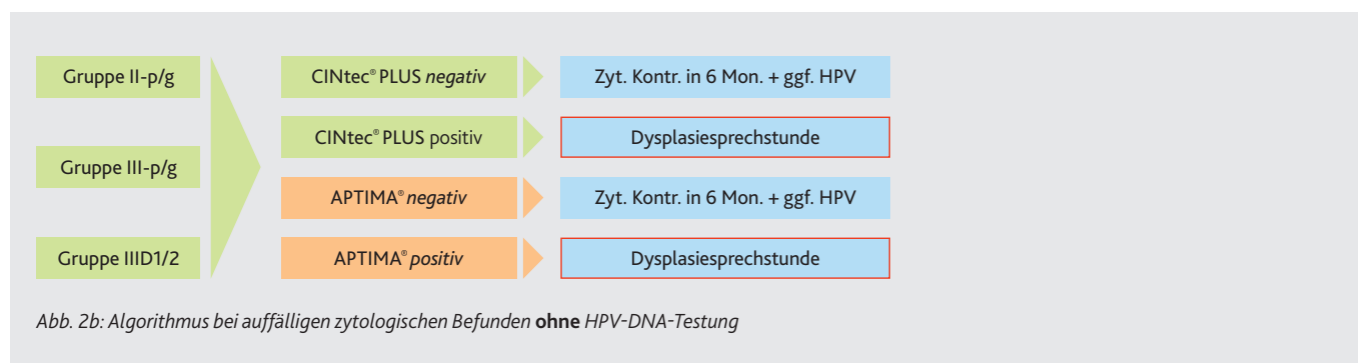


Abb. 2b: Algorithmus bei auffälligen zytologischen Befunden ohne HPV-DNA-Testung

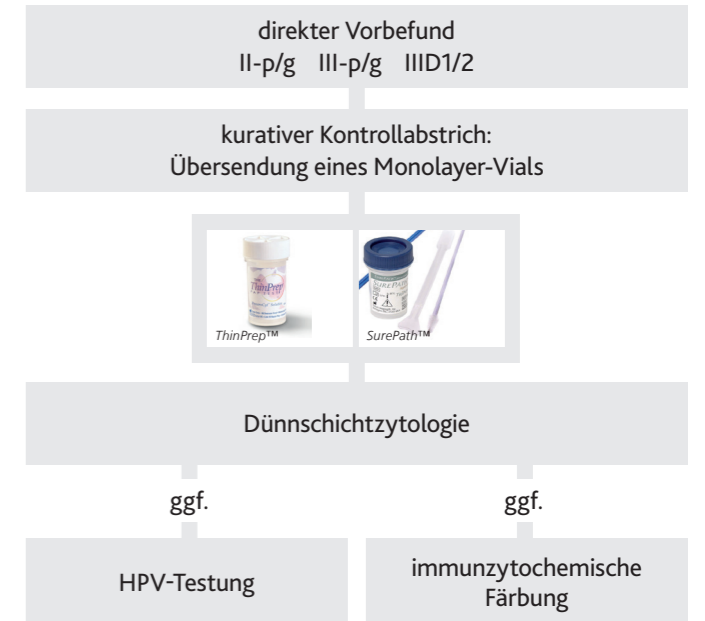


Abb. 4: Abklärung nach auffälligen Vorbefunden

