



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## **Triaging equivocal cytology of the cervix : identifying women at risk for high-grade cervical lesions**

Wensveen, C.W.M.

### **Citation**

Wensveen, C. W. M. (2006, June 13). *Triaging equivocal cytology of the cervix : identifying women at risk for high-grade cervical lesions*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4435>

Version: Corrected Publisher's Version

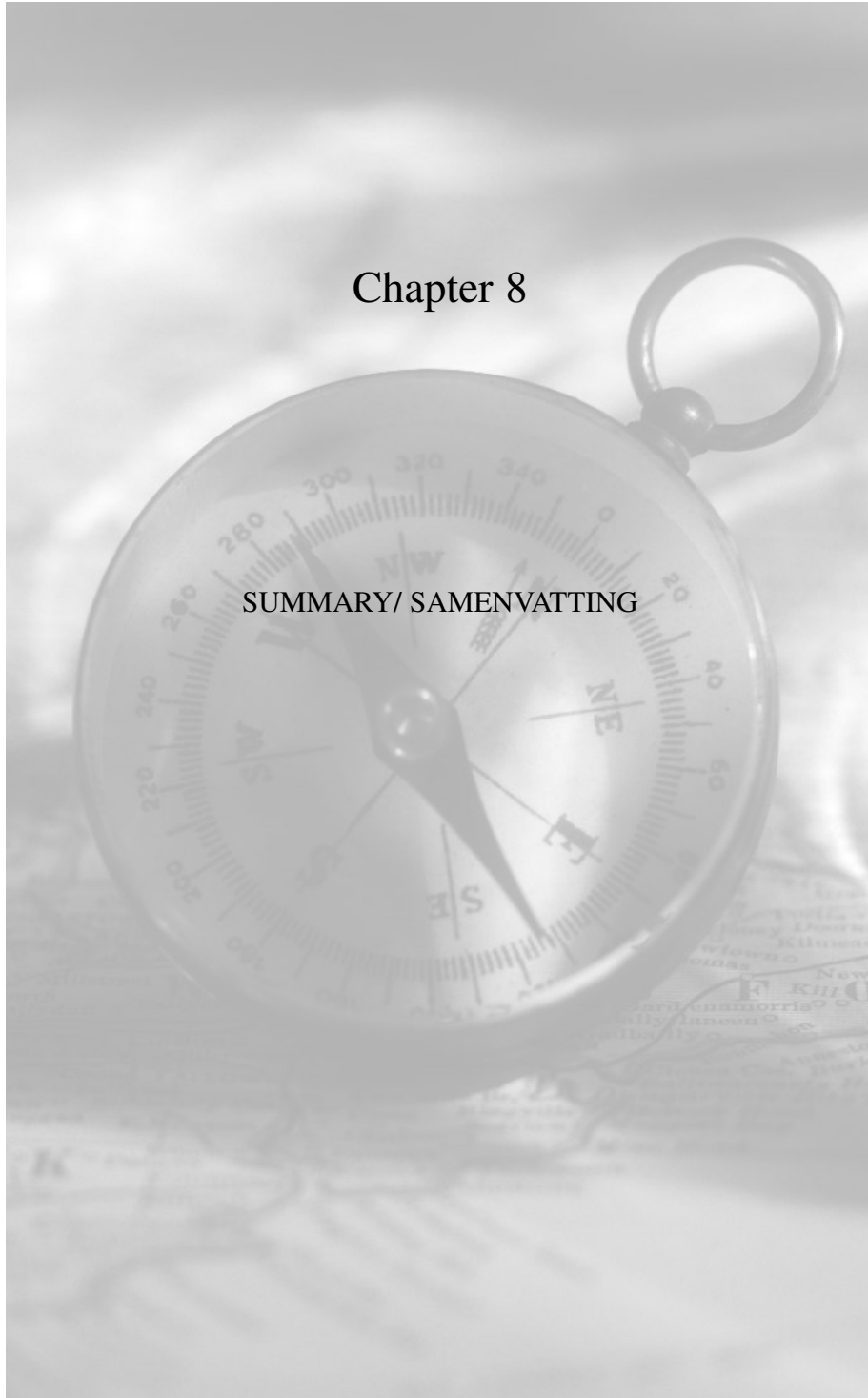
License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/4435>

**Note:** To cite this publication please use the final published version (if applicable).

## Chapter 8

SUMMARY/ SAMENVATTING



## **Chapter 1**

In the group of women with equivocal cytology (Pap II) 15-30% have high-grade CIN or even cervical carcinoma. This high percentage underlines the importance of identifying these women. The sensitivity and specificity of cervical cytology are low. There are other methods besides cytology to identify women at risk for high-grade CIN or cervical cancer. This thesis focuses mainly on the prevalence of high-grade CIN in women with equivocal cytology (chapter 2) and on other methods than cytology alone to identify women at risk for high-grade CIN in this category of abnormal cytology. Methods like colposcopy (chapter 2, 3), detection of high-risk HPV (chapter 2, 5), persistence/ clearance of HPV (chapter 4), HPV viral load (chapter 4 and 5), and biomarker Ki-67 (chapter 6) were studied to this means.

## **Chapter 2**

In a prospective study described in chapter 2, all women with equivocal cytology underwent colposcopy, histological sampling and HPV DNA testing to determine the underlying prevalence of high-grade CIN or cervical carcinoma. Risk factors were analysed. Overall, 7% of the women had a histological diagnosis of  $\geq$  CIN II. HPV testing and colposcopy both showed a very high negative predictive value, suggesting a valuable role for both methods in triaging women with equivocal cytology. In our study cigarette smoking, current use of oral contraceptives, and the number of sexual partners were no significant risk factors for detecting  $\geq$  CIN II after adjusting these variables for HPV.

## **Chapter 3**

The study described in chapter 3 was designed to assess the interobserver agreement on interpreting the hand drawings as a subjective method of documentation of colposcopic impression and the correlation between colposcopic impression and histological outcome. We used colposcopic documentation and histology from a cohort study of women with borderline dyskaryosis. There was a good interobserver agreement on classifying colposcopic hand drawings of high-grade lesions (average Kappa 0.58). The interobserver agreement on interpreting colposcopic CIN classification was higher for the more experienced gynaecologists than for the residents. The correlation between colposcopic impression and histological outcome was poor (Kappa 0.17). Hand drawings seem to be a reliable recording technique of interpreting colposcopic impression documented as high-grade lesion.

#### **Chapter 4**

In the study described in chapter 4 we compared women with persistent HPV infection with women who cleared their infection, as a means to predict regression to normal cytology. The association between semi-quantitative Hybrid Capture II HPV viral load and underlying CIN was explored. Absence or clearance of HPV showed significantly more regression to normal cytology than persistent or newly acquired infection (odds ratio 27). Absence or clearance of HPV can predict regression to normal cytology. Because there is large overlapping of viral loads among the grades of CIN, semi-quantitative HC II viral load was found not to be a useful parameter to predict high-grade lesions in women with equivocal cytology.

#### **Chapter 5**

In the study described in chapter 5 the association between viral load and CIN was assessed and alternative HPV test cut-off points for detecting high-grade lesions were explored. The risk of CIN II/ III increased with viral load in women with borderline or mild dyskaryosis. Such a trend could not be found for women with moderate dyskaryosis or more at enrolment. A considerable overlap of viral loads was seen among the grades of CIN in these women with abnormal cytology. So, semi-quantitative HC II viral load was not a useful marker over HPV positivity alone to identify women at risk for high-grade lesions of the cervix.

The highest accuracy of the HPV test to predict high-grade CIN was found in women with low-grade cytology, aged over 30, and a smaller than 6 months interval between the HPV test and histology. The area under the ROC-curve was 0.74. The HPV test at a  $\geq 3.0$  cut-off point showed a sensitivity of 93% and a specificity of 37% compared to 95% and 20% respectively, for the standard HPV test (cut-off point at  $\geq 1.0$  RLU/PC). The possibility of a higher cut-off point of the HC II test was suggested.

#### **Chapter 6**

In this study we analysed the MIB-1 immunostaining pattern as an index of cellular proliferation in order to establish whether the combination of HPV testing and MIB-1 staining could reduce the high number of referrals for colposcopy in HPV positive women with equivocal cytology. Both MIB-1 and HPV test showed a high negative predictive value to detect  $\geq$  CIN II. Of 104 women with histological CIN I or less 64 were HPV negative. However, only one of these 104 women was MIB-1 positive at a  $> 35\%$  proliferation index cut-off point. In conclusion, we suggest for women with

borderline cytology to first perform a Hybrid Capture II HPV test: if the HPV test is negative the cervical smear should be repeated according to the common guidelines. When the HPV test is positive our study showed that staining for MIB-1 with a proliferation index > 35% might reduce the number of referrals for colposcopy. However, the number of patients with MIB-1 positivity (n=5) and  $\geq$  CIN II (n=4) were too small to warrant definite conclusions. Further research in a larger group of patients is necessary to confirm these findings.

## **Chapter 7**

Colposcopy and HPV DNA testing are both important parameters in detecting high-grade CIN or cervical cancer in women with equivocal cytology (Pap II, borderline dyskaryosis, ASCUS). On the basis of the studies described in this thesis and the literature the following triage for women with equivocal cytology is proposed: an immediate HPV test in women, between 30 and 60 years of age, with equivocal cytology. HPV positive women should be referred for colposcopy and HPV negative women can return to the routine cervical screening program. This strategy seems to be cost effective and a HPV test performs better than a repeat Pap smear in women with equivocal cytology. This policy will probably result in an initial increase in colposcopy referrals, but in the long term workload is expected to decrease. Strategies that focus on identifying HPV persistence rather than prevalent infection may provide greater specificity without compromising sensitivity. The accuracy of real-time quantitative PCR viral load of HPV and other biomarkers (Ki-67/P16INK4) as surrogate markers of persistent HPV infection to predict high-grade CIN in women with equivocal cytology needs further investigation.

### **Hoofdstuk 1**

Een aantal vrouwen (15-30%) met een licht afwijkend uitstrijkje (Pap II) heeft een hoog-gradige cervicale intraepitheliale neoplasia of zelfs cervixcarcinoom. Het is dus van belang om die vrouwen te identificeren. De sensitiviteit en de specificiteit van cervix cytologie zijn laag. Er zijn andere methoden dan cytologie van de cervix, die vrouwen met een verhoogd kans op  $\geq$  CIN II kunnen identificeren. Dit proefschrift richt zich voornamelijk op de prevalentie van hoog-gradige CIN of cervixcarcinoom ( $\geq$  CIN II) bij vrouwen met een Pap II, nadat de nieuwe criteria voor diagnose van een Pap II in Nederland zijn geïmplementeerd en op het identificeren van deze vrouwen met een verhoogd risico op  $\geq$  CIN II. Methoden zoals colposcopie (hoofdstuk 2 en 3), detecteren van HPV (hoofdstuk 2 en 5), persisteren of klaren van het HPV (hoofdstuk 4), HPV viral load (hoofdstuk 4 en 5) en detecteren van biomarker Ki-67 (hoofdstuk 6) om vrouwen met een Pap II en verhoogd risico op  $\geq$  CIN II te identificeren zijn bestudeerd.

### **Hoofdstuk 2**

In dit hoofdstuk wordt een prospectief onderzoek beschreven over vrouwen, van wie de uitslag van het uitstrijkje van de cervix een Pap II was. Bij alle vrouwen werd een HPV test gedaan en een colposcopie met biopsie verricht om het aantal vrouwen met een hoog-gradige CIN of cervixcarcinoom te kunnen bepalen. Ook werd op risicofactoren gecheckt. Bij 7% werd een hoog-gradige CIN of cervixcarcinoom aangetoond. Zowel de HPV test als de colposcopie liet een hoge negatief voorspellende waarde zien, waardoor beide tests waardevolle methoden zijn om vrouwen te selecteren met een Pap II, die een verhoogd risico hebben op (pre-)maligne afwijkingen van de cervix. Roken, pilgebruik en aantal wisselende partners waren geen significante risicofactoren voor het krijgen van  $\geq$  CIN II, nadat deze gecorrigeerd werden voor HPV.

### **Hoofdstuk 3**

Het onderzoek, beschreven in hoofdstuk 3, werd opgezet ter evaluatie van de inter-observer agreement van gebruikelijke colposcopie-tekeningen en van de correlatie tussen colposcopische impressie en histologische diagnose. De colposcopische documentatie en de histologische diagnose van een cohort vrouwen met Pap II werden hiervoor gebruikt. De inter-observer agreement van de beoordelingen van colposcopische tekeningen bij hoog-gradige CIN laesies was hoog (Kappa 0.58), en was hoger voor de meer ervaren gynaecologen dan voor de assistenten. De correlatie tussen colposcopische impressie en de histologische diagnose was laag (Kappa 0.17).

Colposcopische tekeningen bleken een betrouwbare vorm van documentatie te zijn van de colposcopische impressie bij hoog-gradige laesies.

#### **Hoofdstuk 4**

In hoofdstuk 4 werden vrouwen met een persisterende HPV infectie vergeleken met vrouwen waarbij de infectie verdween, om te onderzoeken of virusklaring een indicator is voor regressie naar normale cytologie. Tevens werd het verband tussen de semi-kwantitatieve Hybrid Capture II HPV viral load en de onderliggende CIN bestudeerd. Afwezige of geklaarde HPV infectie toonde significant meer regressie naar normale cytologie dan persisterende of nieuw opgedane infectie (odds ratio 27). Afwezigheid of klaring van HPV kan dus regressie naar normale cytologie voorspellen. Gezien de grote overlap van viral load tussen de diverse graden van CIN, bleek de semi-kwantitatieve HC II viral load geen bruikbare voorspeller van hoog-gradige CIN bij vrouwen met een Pap II.

#### **Hoofdstuk 5**

In dit hoofdstuk wordt ingegaan op de correlatie tussen viral load en CIN en op het belang van het hanteren van verschillende grenswaarden voor de nauwkeurigheid van de HPV test in het opsporen van hoog-gradige CIN. De kans op CIN II/ III nam toe met de viral load bij vrouwen met een Pap II of Pap IIIA-lichte dysplasie. Dit gold niet voor vrouwen met een Pap IIIA-matige dysplasie of meer. Er werd een aanmerkelijke overlap gezien in viral load tussen de diverse graden van CIN bij deze vrouwen. De semi-kwantitatieve HC II viral load was dus geen betere indicator voor hoog-gradige CIN dan een positieve standaard (grenswaarde  $\geq 1$  RLU/PC) HPV test. De HPV test was het meest nauwkeurig in het voorspellen van hoog-gradige CIN bij vrouwen met geringe cytologische afwijkingen, ouder dan 30 jaar en een interval van minder dan 6 maanden tussen de HPV test en histologie. De oppervlakte onder de ROC-curve was 0.74. Bij een grenswaarde van  $\geq 3.0$  toonde de HPV test een sensitiviteit van 93% en een specificiteit van 37%. Voor de standaard HPV test met een grenswaarde  $\geq 1.0$  was dit respectievelijk 95% en 20%. Voorgesteld werd, een hogere grenswaarde van de HC II test te gebruiken bij vrouwen met een gering afwijkende cervix cytologie.

## Hoofdstuk 6

In dit onderzoek werd de MIB-1 immunohistochemische kleuring gebruikt als celproliferatie-index, om vast te stellen of een combinatie van HPV test en MIB-1 kleuring het aantal colposcopieën bij vrouwen met een Pap II kon terugdringen. Zowel de MIB-1 kleuring als de HPV test toonde een hoge negatief voorspellende waarde voor  $\geq$  CIN II. Van de 104 onderzochte vrouwen met normale histologie of CIN I waren 64 HPV negatief. Slechts één van de 104 vrouwen had een positieve MIB-1 kleuring, bij een grenswaarde van  $\geq 35\%$  celproliferatie. Geconcludeerd werd, dat bij vrouwen met een Pap II eerst een Hybrid Capture II HPV test kan worden gedaan. Als deze test negatief is dient het uitstrijkje volgens de richtlijn te worden herhaald. Als de HPV test positief is, kan de MIB-1 kleuring, met een grenswaarde van  $\geq 35\%$  celproliferatie, het aantal colposcopieën reduceren. Echter, het aantal patiënten met een positieve MIB-1 immunohistochemische kleuringen was te klein om definitieve conclusies te trekken. Nader onderzoek in een grotere populatie is nodig om deze bevindingen te bevestigen.

## Hoofdstuk 7

Colposcopisch onderzoek en testen op HPV DNA zijn beide belangrijke methoden om hoog-gradige CIN of cervixcarcinoom op te sporen. Op grond van de in dit proefschrift beschreven onderzoeken en de literatuur wordt een directe HPV test voorgesteld bij vrouwen tussen de 30 en 60 jaar met Pap II cytologie. HPV positieve vrouwen dienen te worden verwezen voor colposcopie. HPV negatieve vrouwen kunnen terug naar het bevolkingsonderzoek voor baarmoederhalskanker. Deze aanpak lijkt kosteneffectief en een HPV test is significant gevoeliger dan een herhaalde cytologische uitstrijk van de cervix bij vrouwen met een Pap II. Aanvankelijk kan een stijging optreden van het aantal colposcopieën, maar op de lange termijn zal de werklast afnemen. Strategieën gericht op HPV persistentie in plaats van HPV aanwezigheid kunnen tot een hogere specificiteit leiden, zonder de sensitiviteit te schaden. De nauwkeurigheid van real-time kwantitatieve PCR HPV viral load en van andere biomarkers zoals Ki-67 en P16INK4 als surrogaatmarker voor HPV persistentie om hoog-gradige CIN te voorspellen bij vrouwen met een Pap II moet nader worden onderzocht.