Uso dei biomarker nei programmi di screening della cervice uterina: tra ricerca e pratica

Paolo Giorgi Rossi

Laziosanità – Agenzia di Sanità Pubblica

HPV e screening: la storia

1970

Ipotesi sul nesso causale

1980

Accertamento del legame
Ceppi HR e Ca

Comparsa di test commerciali

Proteine oncogene E6-E7
p16

1990

HART Study
ALTStudy

HCII

Inizio sperimentazione vaccini

2000

Statement IARC HPV
Causa necessaria

Inizio Trial HPV test primario

Risultati trial vaccini
Risultati trial test HPV

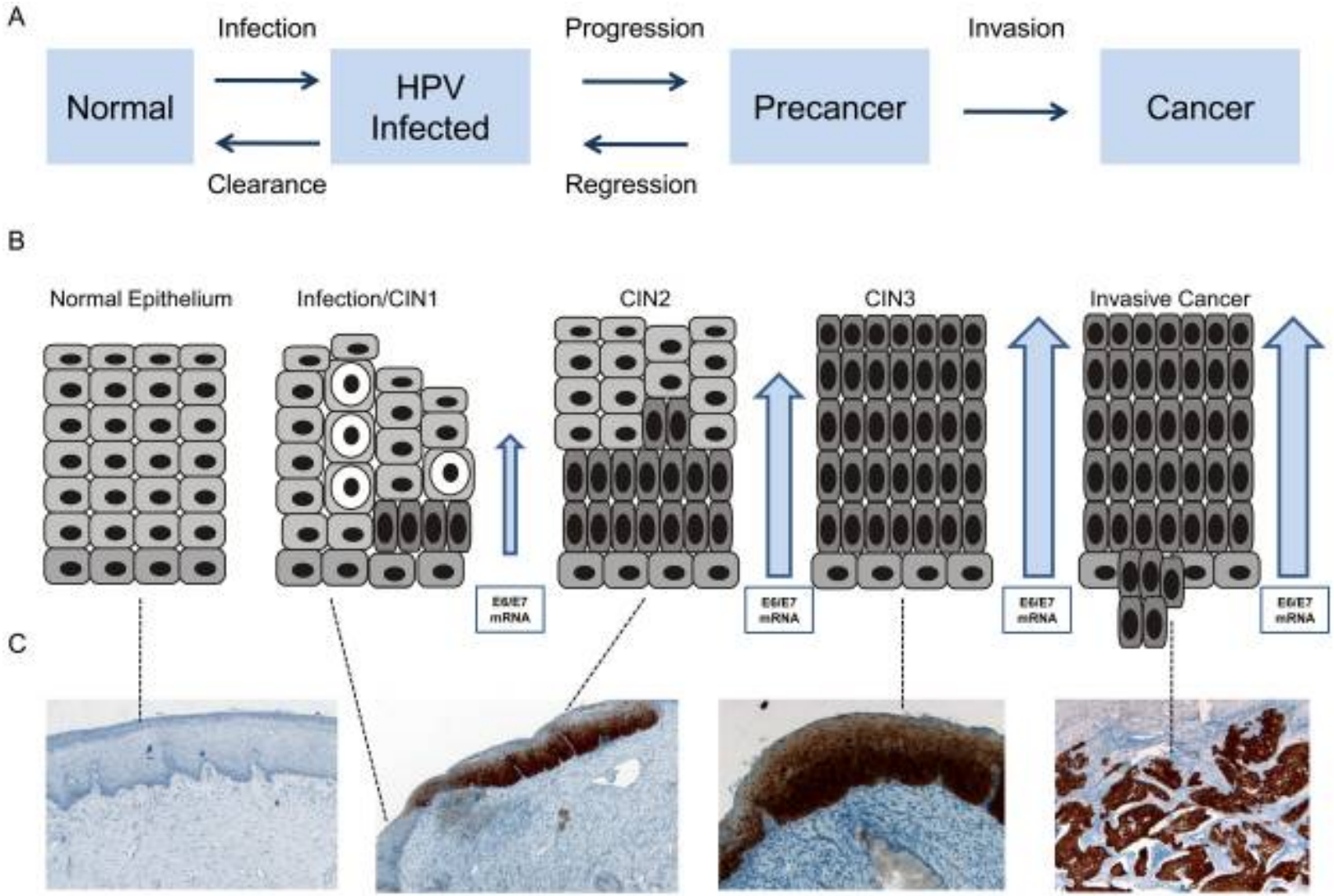
Commercializzazione vaccini

2010

Inizio piloti test HPV

Conoscenze di base → Tecnologia

HPV e cancro della cervice: storia naturale



E6/E7 mRNA

p16

***Cuschieri, Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008**

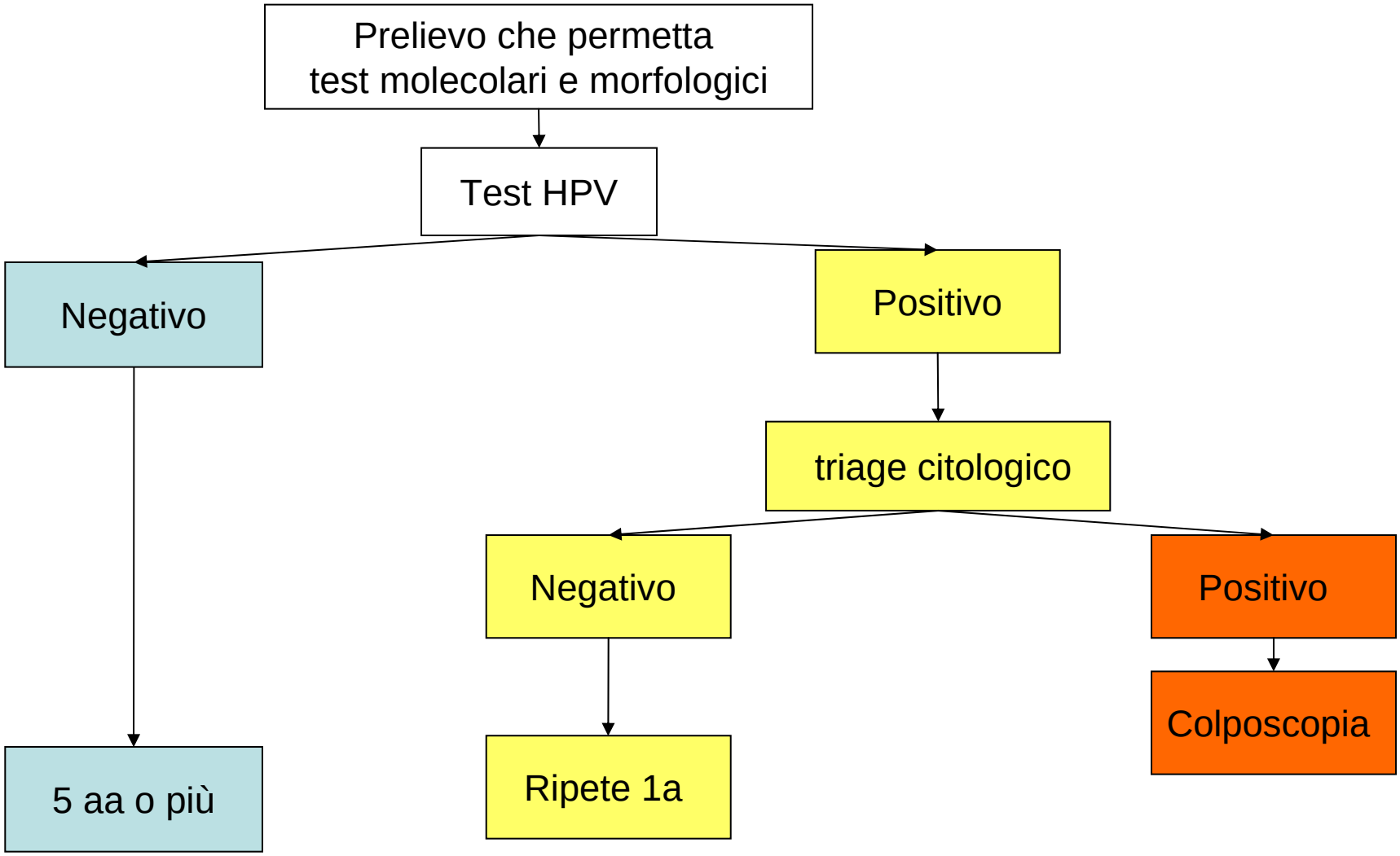
Strategie di utilizzo del test HPV nello screening

1. follow up Post-trattamento.
2. Triage dell'ASC-US.
3. Triage dell'LSIL (solo >35aa).
4. Follow up post colpo neg CIN1

According to guidelines

1. HPV come test primario seguito da triage citologico.

Protocollo in uso negli studi pilota con HPV test primario



P16 over-expression: possibili utilizzi

In istologia:

- Ausilio diagnostico nella diagnosi differenziale fra CIN di alto grado e metaplasia squamosa atipica immatura
- Ausilio diagnostico nella definizione distinzione fra CIN2 e CIN3 e fra CIN1 e CIN2.
- Marcatore prognostico del CIN1
- Marcatore prognostico del CIN2

In citologia

- Triage dell’ASC-US e dell’L-SIL
- Triage del test HPV
- Ausilio diagnostico nella definizione dei quadri border-line

Marcatore prognostico del CIN1

P16 positivi **Follow up**

istologia	positivi	remissione	CIN1	CIN2-3
CIN 1	65	36	6	23
CIN 2	**Non permette di mandare a trattamento CIN1**			
benigno	3	1	0	2

P16 negativi **Follow up**

istologia	negativi	remissione	CIN1	CIN2-3
CIN 1	26	25	0	1
CIN 2-	**Permette di ridurre intensità del FU CIN1 p16-**			
benigno	47	47	0	0

Hariri & oster Int J Gynecol Pathol, 2007

Marcatore prognostico del CIN2

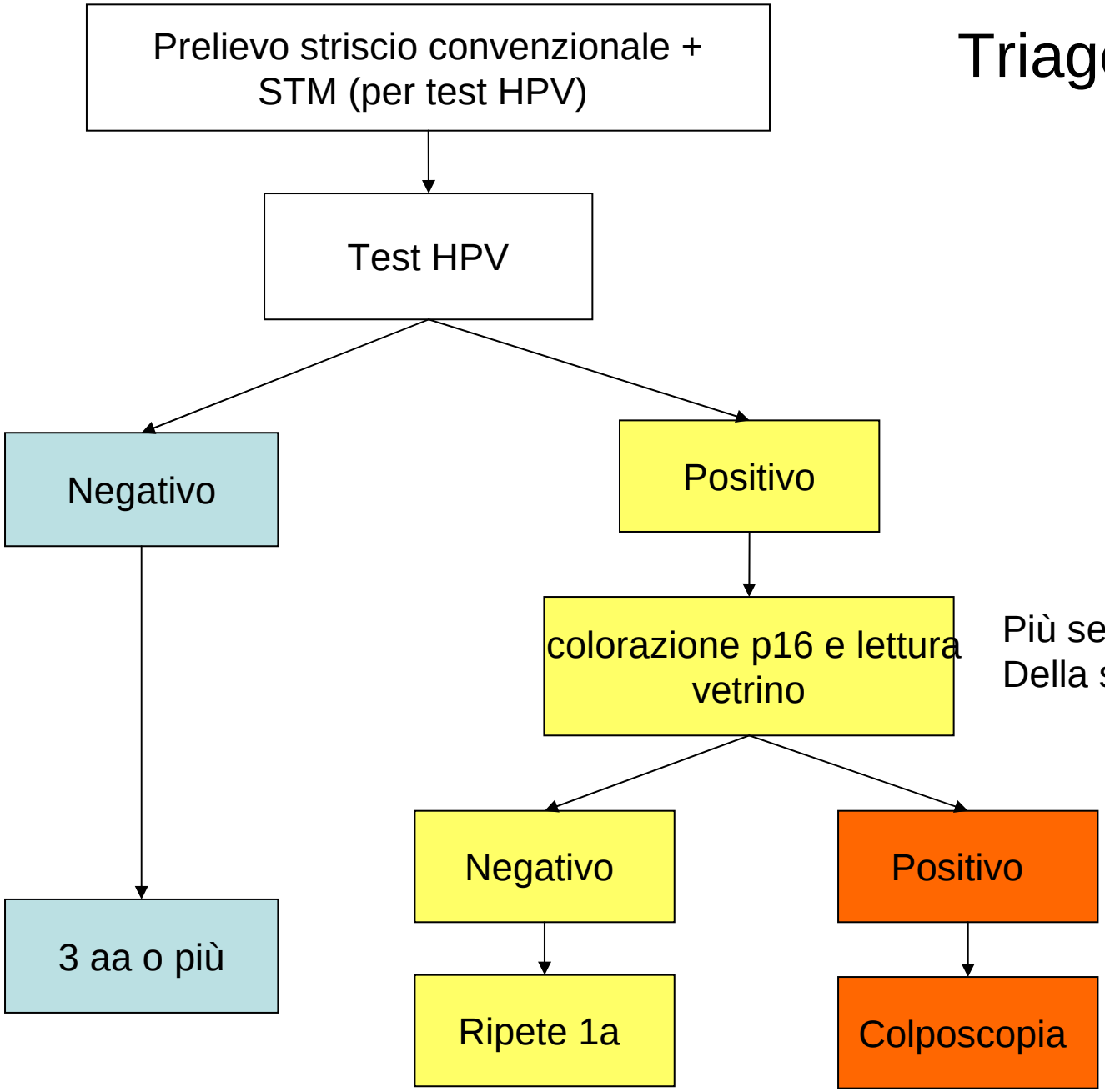
- Background: alta percentuale di regressione CIN2:
  - In donne giovani
  - Se trovate con test HPV come test primario
- Studi ancora da fare, ma eticamente complessi
- Promettente via per ridurre

(di poco) il sovra-trattamento.

Istologia	% positivi
Normale	2%
CIN 1	38%
CIN 2	68%
CIN 3	82%

Tsoumpou I et al. Cancer Treat Rev. 2009

Triage del test HPV



Più sensibile e Più specifico
Della semplice citologia

Carozzi et al, Lancet Oncology, 2008

Relative sensitivity and relative referral rate of p16 vs. conventional cytology

Age 35-60	Relative sensitivity for CIN2+	Relative sensitivity for CIN3+	Relative Referral Rate
HPV testing ≥ 1pg/ml with no triage	**1.63** (1.25-2.12)	**1.52** (1.06-2.19)	**2.38** (2.21-2.57)
HPV testing ≥ 1pg/ml and p16 1+ cells staining	**1.53** (1.15-2.02)	**1.32** (0.88-1.95)	**1.08** (0.96-1.21)

Carozzi et al. *Lancet Oncol* 2008

Relative sensitivity and relative referral rate of p16 vs. conventional cytology

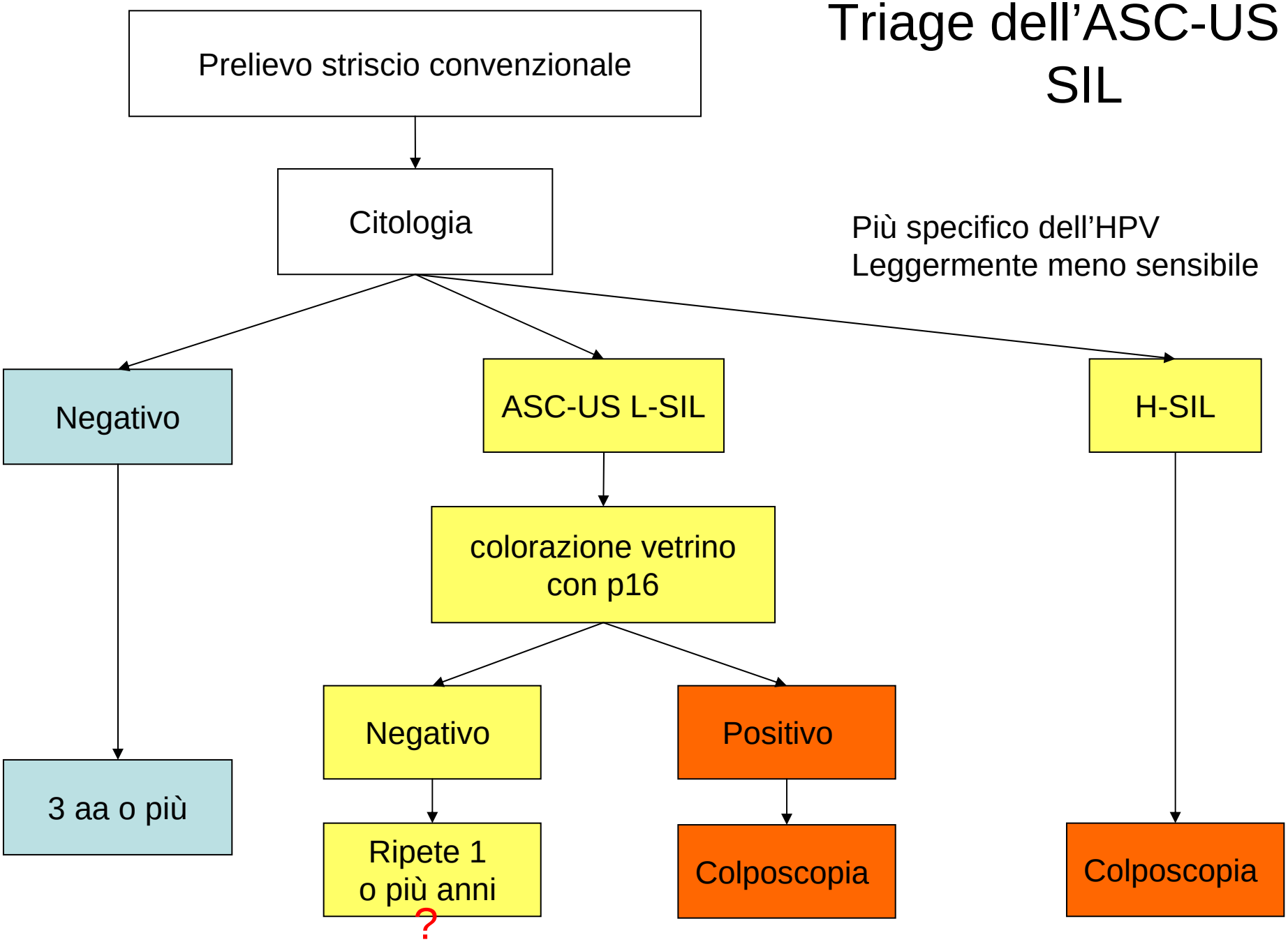
Age 25-34	Relative sensitivity for CIN2+	Relative sensitivity for CIN3+	Relative Referral Rate
HPV testing ≥ 1pg/ml with no triage	**3.50** (3.11-5.82)	**2.61** (1.21-5.61)	**3.64** (3.17-4.19)
HPV testing ≥ 1pg/ml and p16 1+ cells staining	**3.01** (1.82-5.17)	**2.52** (1.18-5.78)	**1.15** (0.96-1.37)

Carozzi et al. *Lancet Oncol* 2008

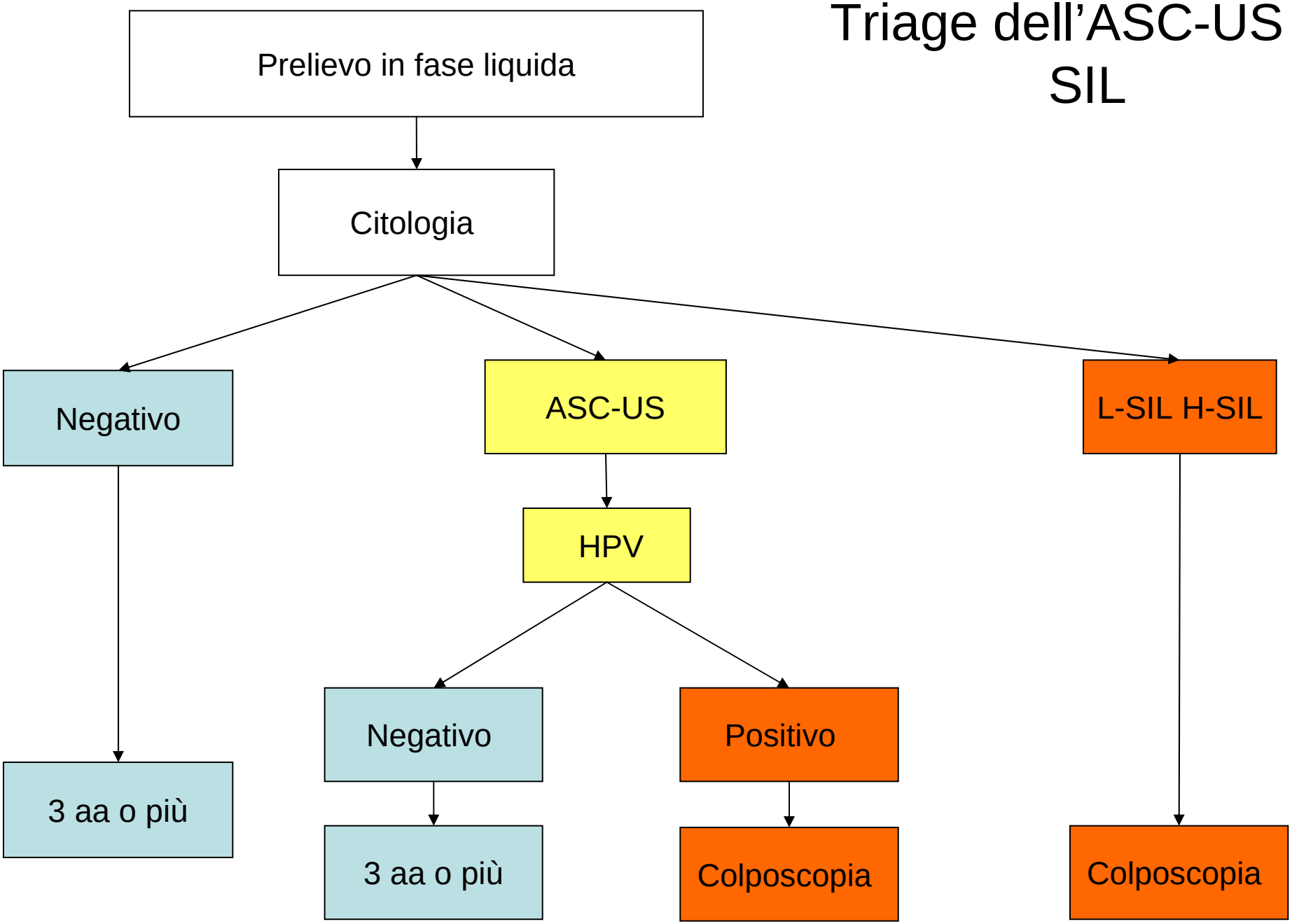
Triage del test HPV

- Più sensibile e più specifico della citologia,
- Riduce leggermente invio in colposcopia
- Trova alcune lesioni in più
- Nelle donne >35 anni non induce sovratrattamento
- Nelle donne <35 induce sovratrattamento (rispetto a citologia e a HPV con triage solo citologico) se non si applicano protocolli più conservativi

Triage dell'ASC-US L-SIL

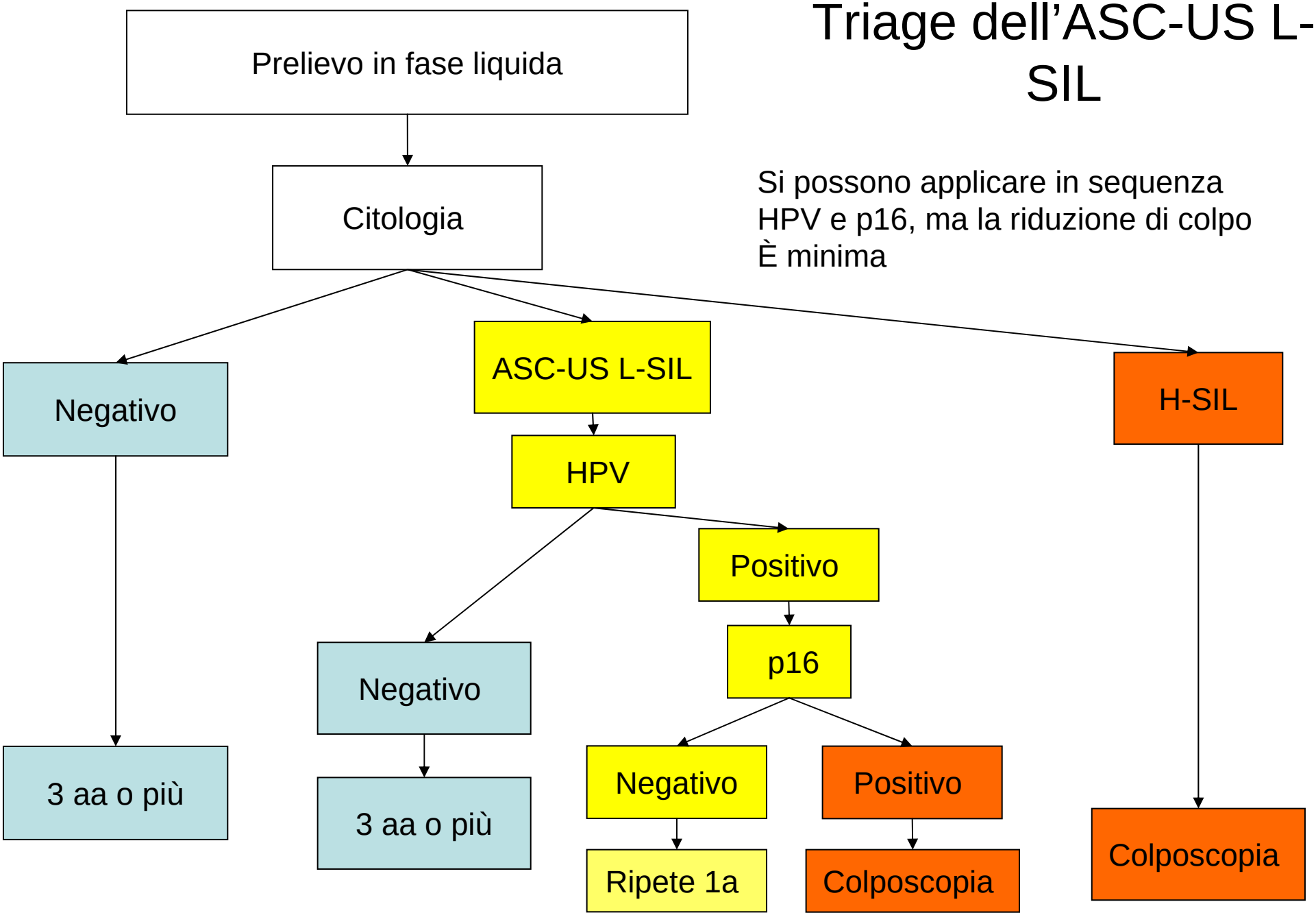


Triage dell'ASC-US L-SIL



Triage dell'ASC-US L-SIL

Si possono applicare in sequenza HPV e p16, ma la riduzione di colpo È minima

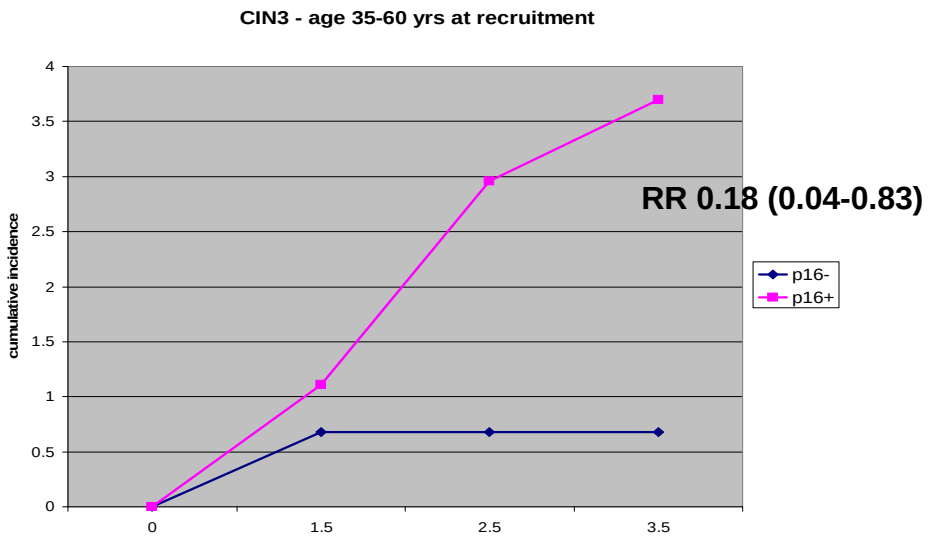


Ronco et al, Lancet Oncology, 2008

Triage dell’ASC-US e dell’L-SIL

- Se applicato senza HPV difficilmente permette di dare indicazione a 3aa per i cito+ p16-. Il guadagno in termini di specificità (meno colpo) si perde per la minore anticipazione diagnostica (raccomandazione a 1 anno?)
- Se applicato in sequenza dopo HPV il problema si risolve, ma il guadagno in termini di colposcopie evitate è minimo.

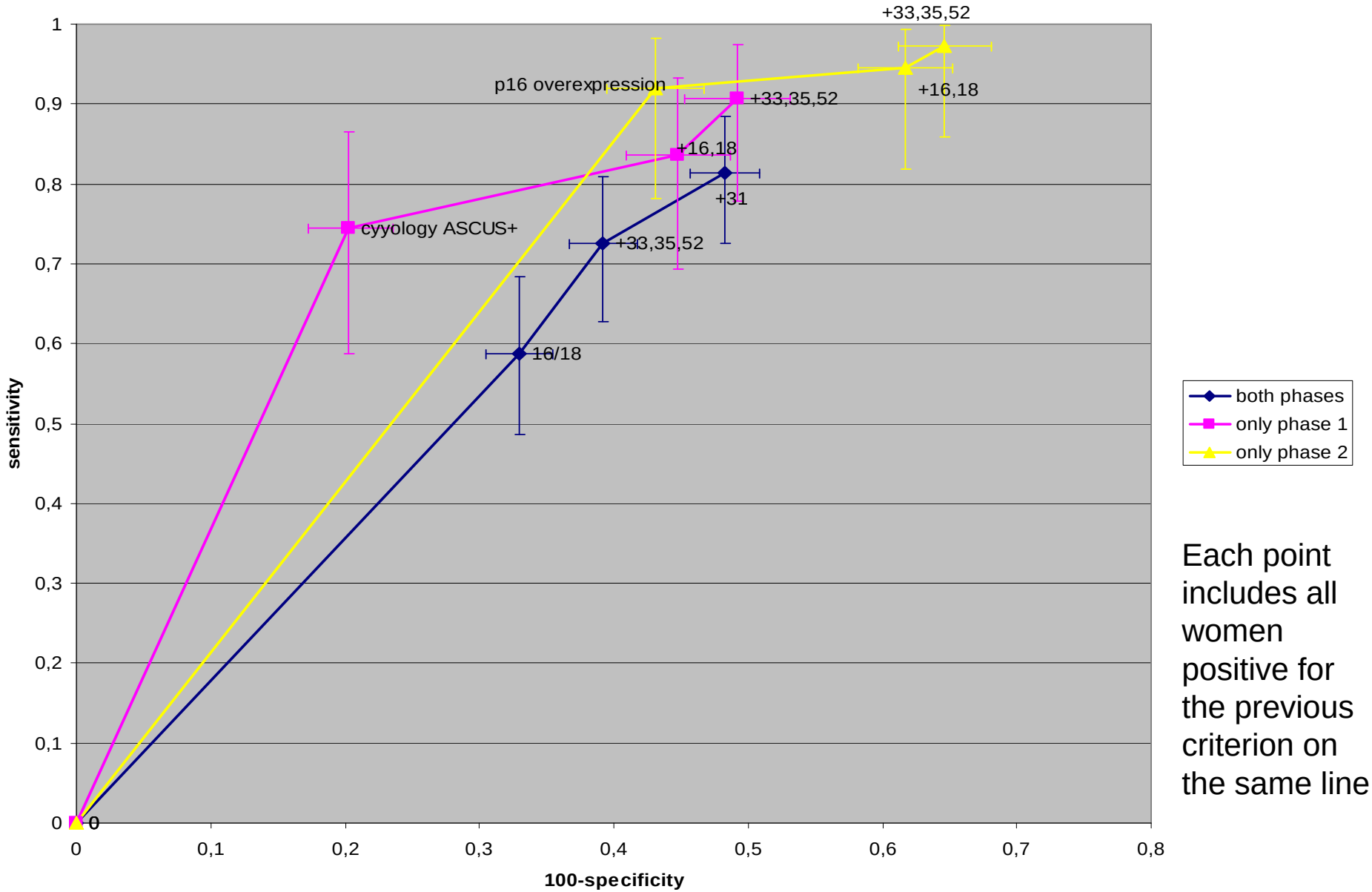
NTCC study - Cumulative incidence of CIN3 after recruitment among women HPV positive at baseline, by age and p16 status at baseline



HPV Typing: possibili utilizzi

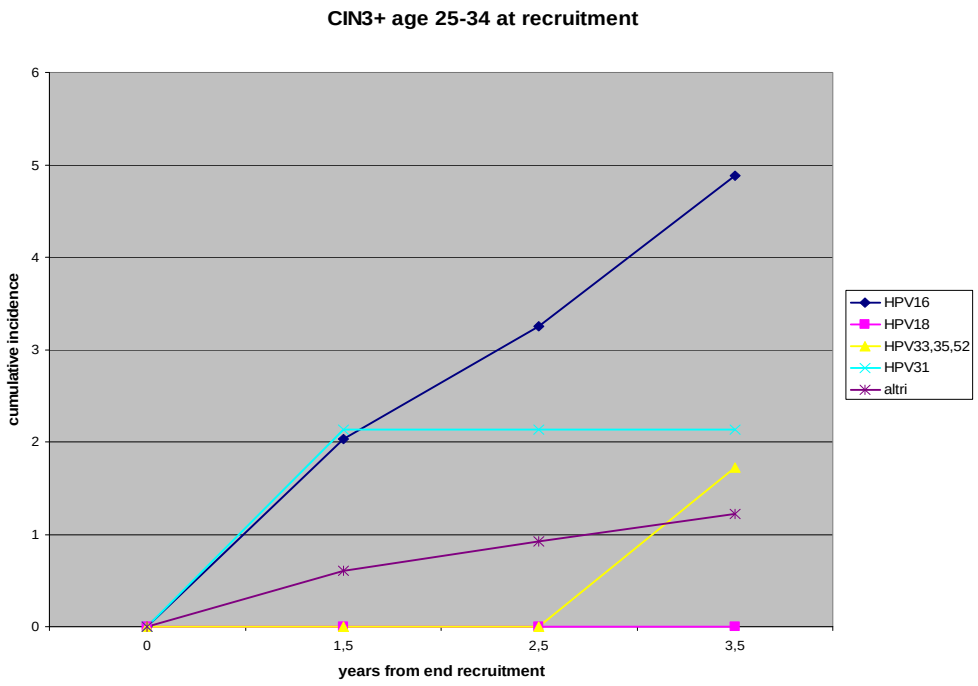
- Come triage per aumentare la specificità del test HPV primario
- Come test per orientare il follow up post colpo negativa o post trattamento

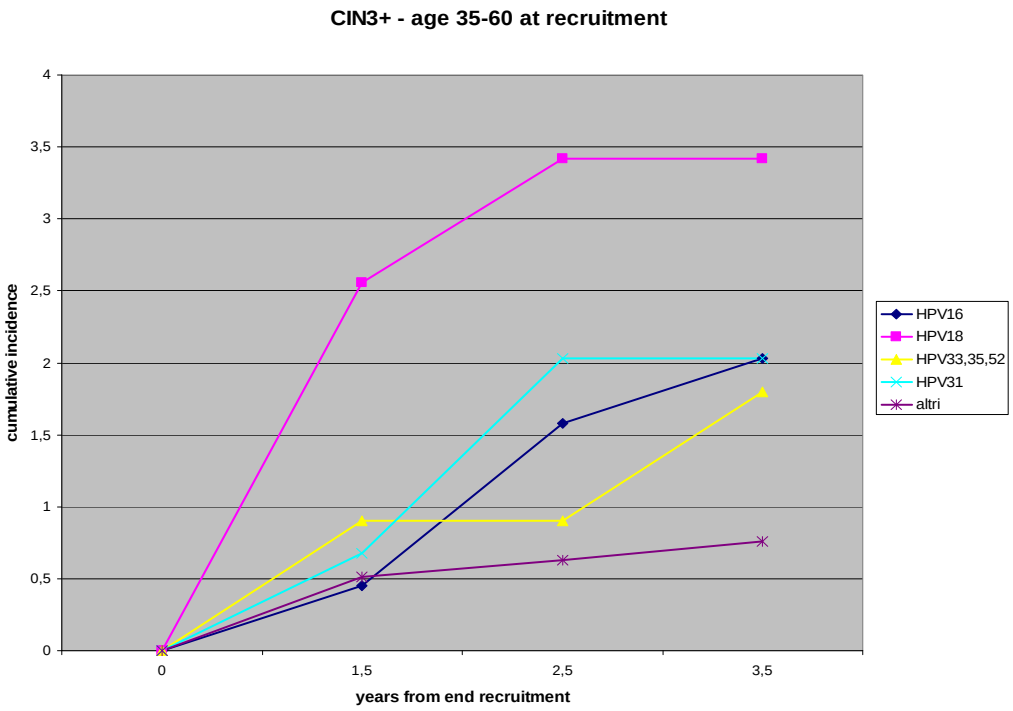
NTCC STUDY – women age 35-60
ROC curves for different triage strategies among HC2 positive women
Endpoint: presence of CIN2 or more severe histology



Each point includes all women positive for the previous criterion on the same line

NTCC study - Cumulative incidence of CIN3 after recruitment among women HPV positive at baseline, by age and HPV type at baseline





Possibili utilizzi E6-E7 mRNA

Test (no. assessed)	Sensitivity (95% CI)	Specificity (95% CI)	PPV (95% CI)
Hybrid Capture II (*n* = 567)			
CIN3+	100.0 (92.6-100.0)	26.0 (22.3-30.0)	11.1 (8.3-14.5)
CIN2+	100.0 (95.9-100.0)	28.2 (24.2-32.4)	20.4 (16.7-24.5)
PreTect HPV-Proofer (*n* = 558)			
CIN3+	89.4 (76.9-96.5)	72.8 (68.7-76.6)	23.2 (17.3-30.0)
CIN2+	70.6 (59.7-80.0)	74.4 (70.2-78.3)	33.1 (26.3-40.5)
APTIMA (*n* = 573)			
CIN3+	97.9 (88.9-99.9)	39.4 (35.2-43.8)	12.9 (9.6-16.8)
CIN2+	96.6 (90.4-99.3)	42.3 (37.8-46.8)	23.3 (19.0-28.0)
CINtec p16^{INK4a} Cytology (*n* = 323)			
CIN3+	88.0 (68.8-97.5)	67.1 (61.5-72.4)	18.3 (11.9-26.4)
CIN2+	66.7 (52.5-78.9)	68.8 (62.9-74.3)	30.0 (22.0-39.0)

Szwareski Cancer Epidemiol Biomark Prev, 2008

Possibili utilizzi E6-E7 mRNA

Test 5 tipi:

Assimilabile alla p16

- Triage dell'ASC-US e dell'L-SIL
- Triage del test HPV

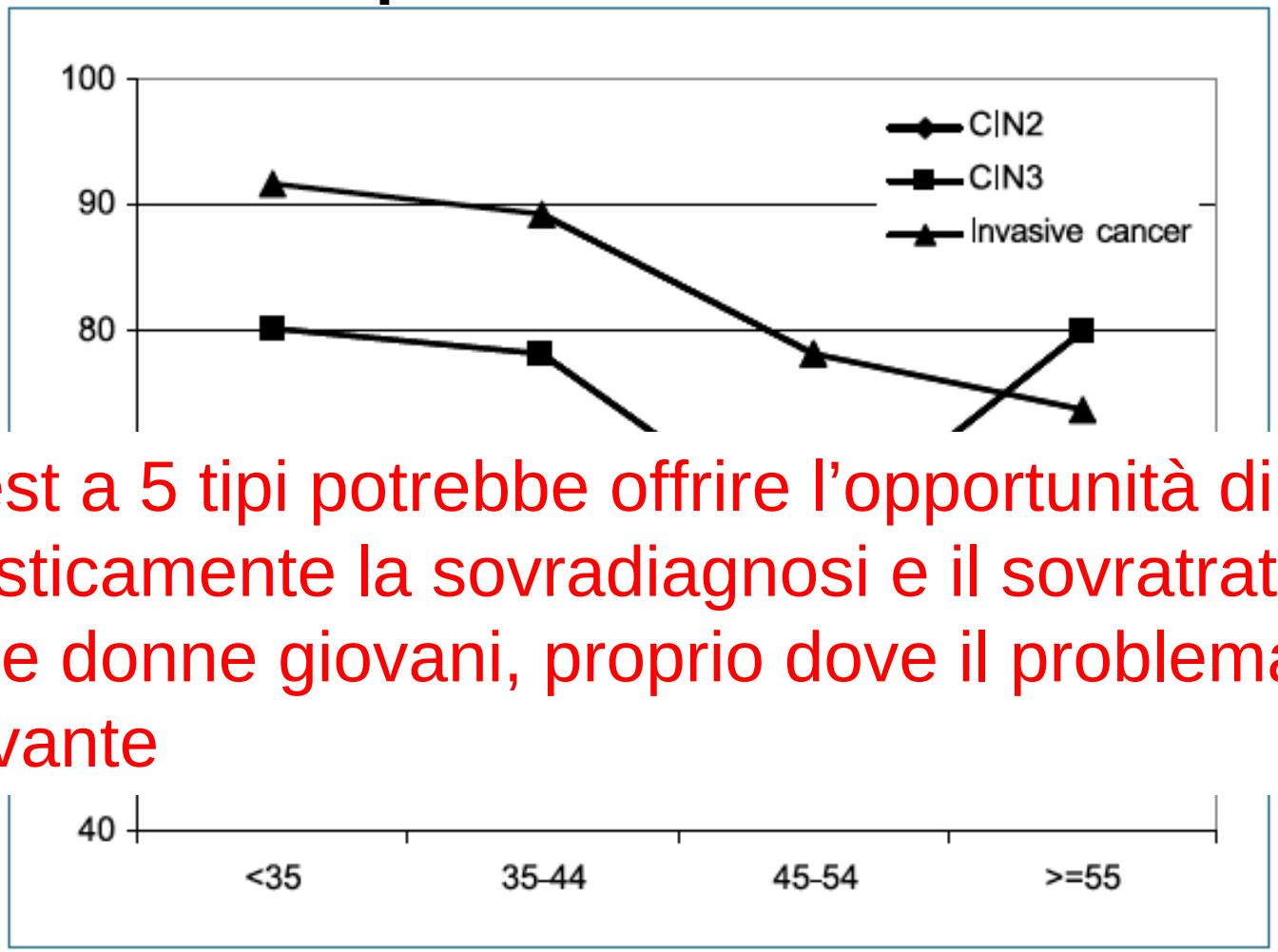
Se non si vuole rinunciare a un 10% dei Ca invasivi si deve prevedere l'invio in colposcopia di donne HPV+ mRNA- in qualche momento

Test 14 tipi:

Assimilabile al HPV DNA

- Triage dell'ASC-US e dell'L-SIL
- Test primario di screening (test 14 tipi): quale intervallo? (studio di Monsonego in corso)

Nelle donne giovani i Ca invasivi sono quasi tutti 16-18-45

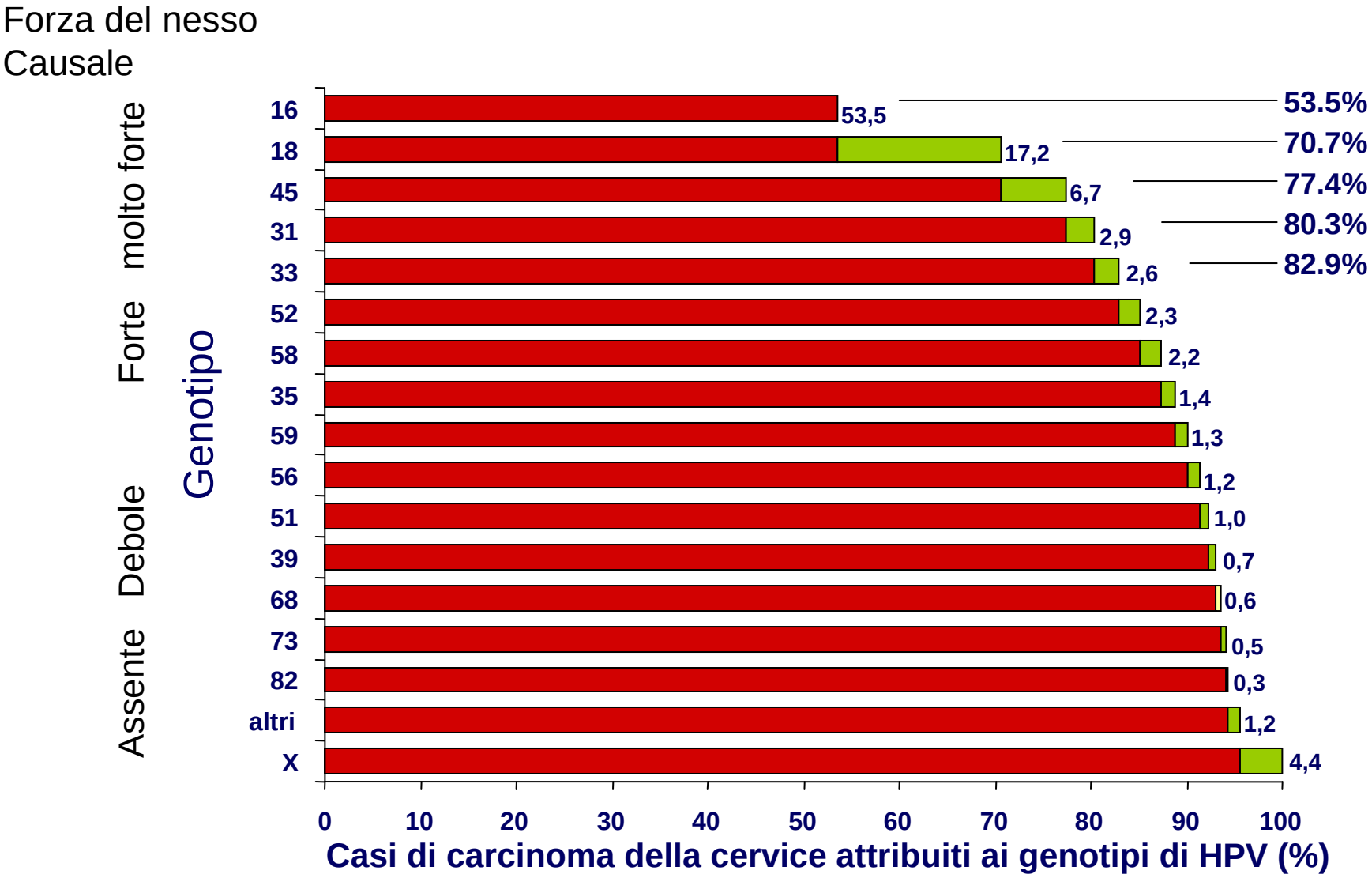


Il test a 5 tipi potrebbe offrire l'opportunità di ridurre drasticamente la sovradiagnosi e il sovratrattamento nelle donne giovani, proprio dove il problema è più rilevante

Figure 2. Proportion of HPV16/18 types by grade of cervical lesion and age.

Carozzi et al Cancer Epidemiol Biom Prev 2010; DeSanjosè Lancet oncol 2011

I tipi 5 tipi più frequenti sono presenti nell'83% dei Ca invasivi, ma dell'89% dei casi con HPV HR



Munoz N *et al*. *Int J Cancer* 2004; 111: 278–85.

Conclusioni nuove tecnologie nei programmi di screening

HPV DNA:

- Follow up post trattamento
- Triage dell'ASC-US e dell'L-SIL (<35 aa)
- Test di primo livello solo in studi pilota

Typing:

- In studi per decidere il FU post colpo

P16:

In istologia

- In studi per ridurre intensità del FU delle CIN 1
- In studi sperimentali per il non trattamento delle CIN2

In citologia:

- In studi per il triage dell'ASC-US e dell'L-SIL
- In studi per il triage dell'HPV

E6/E7 mRNA:

- In studi sperimentali come test primario di screening (test 14 tipi)
- In studi per il triage dell'ASC-US e dell'L-SIL
- In studi per il triage dell'HPV

Specificità dei biomarcatori

Test (no. assessed)		Sensitivity (95% CI)	Specificity (95% CI)	PPV (95% CI)
Hybrid Capture II (*n* = 567)				
	CIN3+	100.0 (92.6-100.0)	26.0 (22.3-30.0)	11.1 (8.3-14.5)
	CIN2+	100.0 (95.9-100.0)	28.2 (24.2-32.4)	20.4 (16.7-24.5)
PreTect HPV-Proofer (*n* = 558)				
	CIN3+	89.4 (76.9-96.5)	72.8 (68.7-76.6)	23.2 (17.3-30.0)
	CIN2+	70.6 (59.7-80.0)	74.4 (70.2-78.3)	33.1 (26.3-40.5)
APTIMA (*n* = 573)				
	CIN3+	97.9 (88.9-99.9)	39.4 (35.2-43.8)	12.9 (9.6-16.8)
	CIN2+	96.6 (90.4-99.3)	42.3 (37.8-46.8)	23.3 (19.0-28.0)
CINtec p16^{INK4a} Cytology (*n* = 323)				
	CIN3+	88.0 (68.8-97.5)	67.1 (61.5-72.4)	18.3 (11.9-26.4)
	CIN2+	66.7 (52.5-78.9)	68.8 (62.9-74.3)	30.0 (22.0-39.0)

Szwareski Cancer Epidemiol Biomark Prev, 2008

Sensibilità e specificità

Malattia

Test	+	-	
+	95	70	165
-	5	30	35
	100	100	200

Specificità = 30/100

Sensibilità = 95/100

Prevalenza 50%

Valore Predittivo Positivo e Negativo

Malattia

Test	+	-	
+	95	70	165
-	5	30	35
	100	100	200

VPP = 58%

VPN = 87%

Prevalenza 50%?

Valore Predittivo Positivo e Negativo

CIN2+

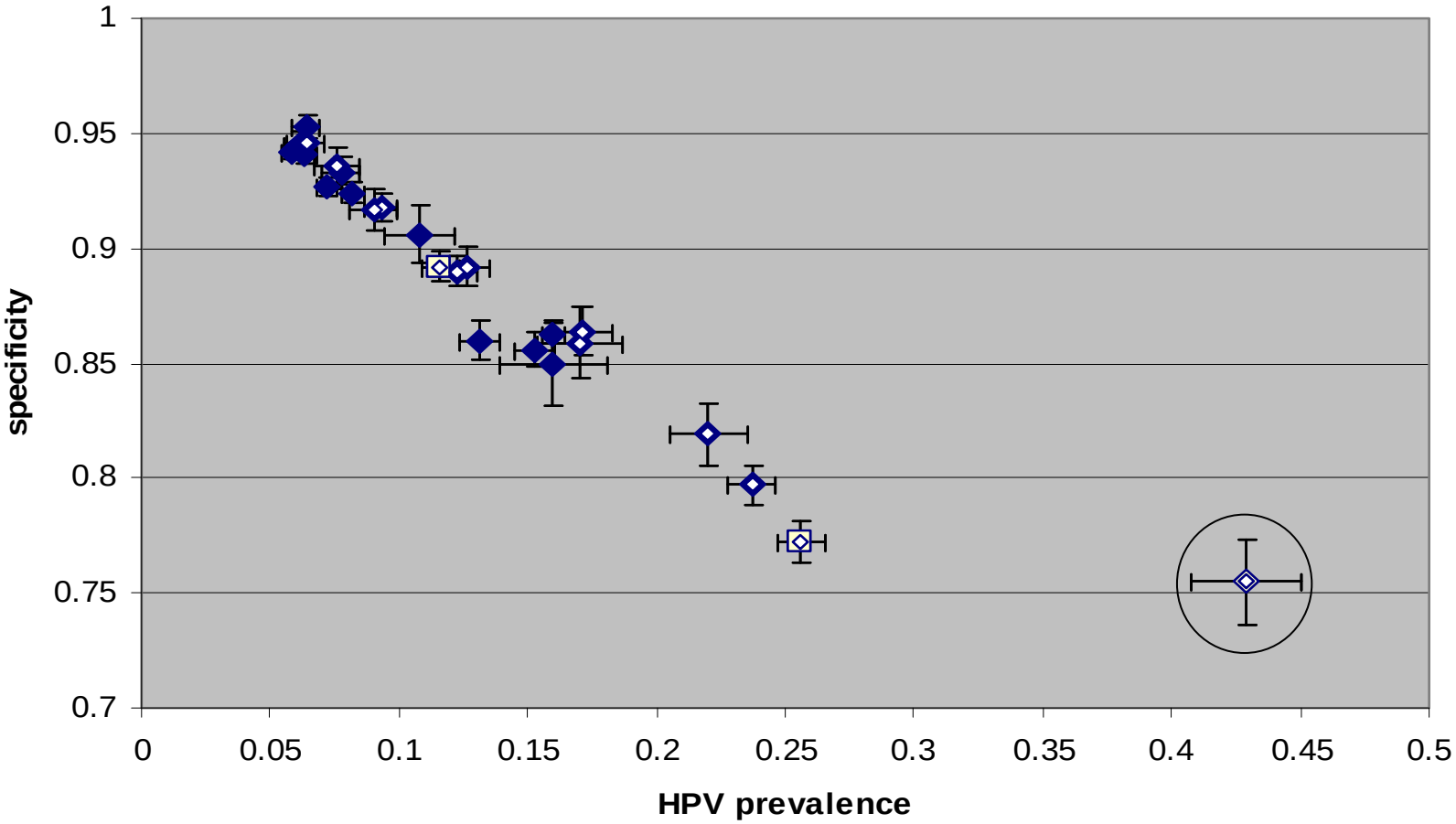
mammografia	+	-	
+	19	6990	7009
-	1	2990	2991
	20	9980	10000

Valore Predittivo Positivo = 0.3%

Valore Predittivo Negativo = 99,98%

Prevalenza di lesioni maligne = 2/1000

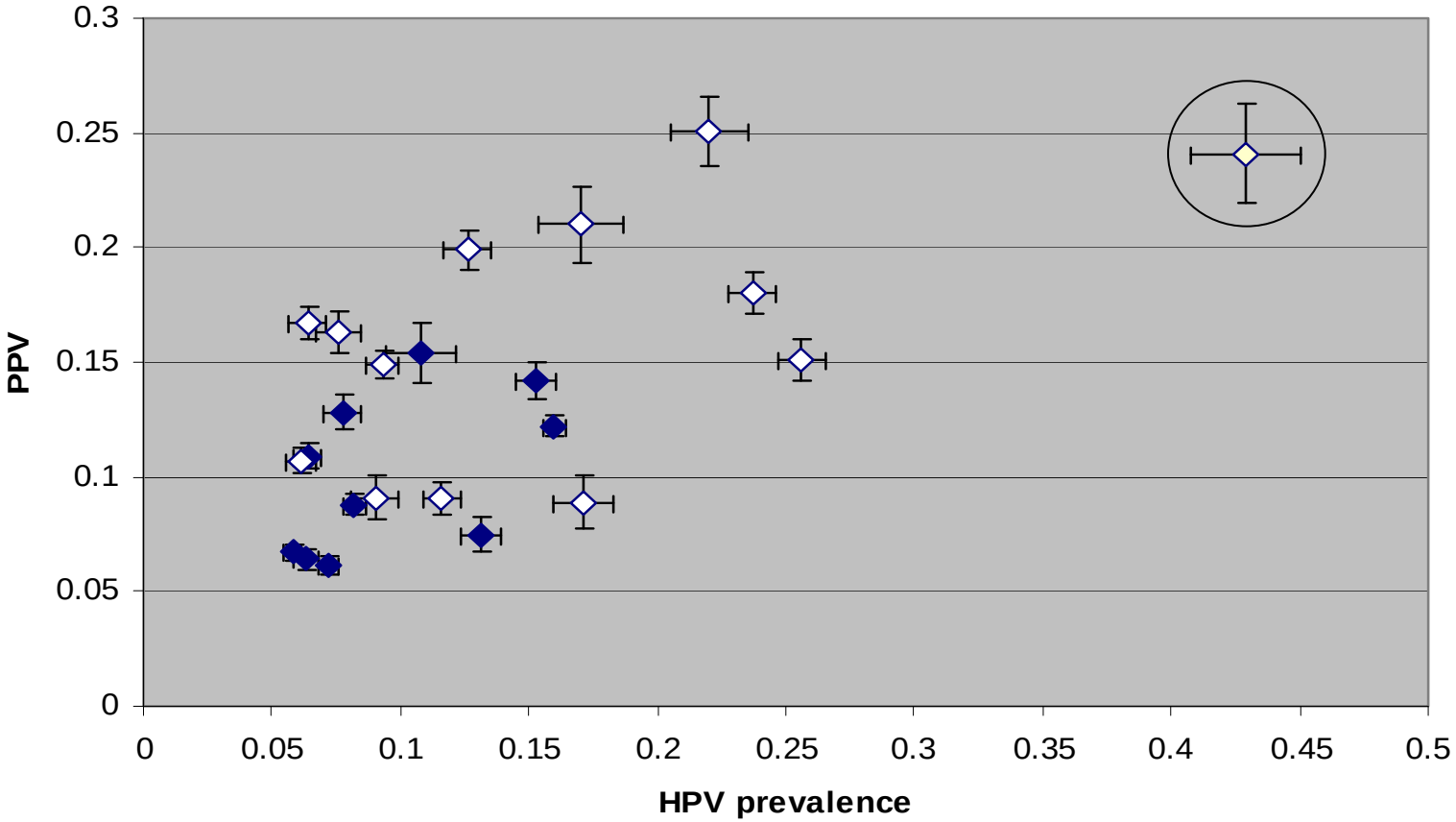
Metanalis degli studi di accuratezza del HPV DNA test (HCII): specificità in funzione della prevalenza di HPV+



White diamonds: low and low medium income countries
Blue diamonds: high income countries

Giorgi Rossi, Ronco, Franceschi, submitted

Metanalis degli studi di accuratezza del HPV DNA test (HCII): VPP in funzione della prevalenza di HPV+



White diamonds: low and low medium income countries
Blue diamonds: high income countries

Giorgi Rossi, Ronco, Franceschi, submitted

A new model to interpret HPV test accuracy indicators

Prevalence of HPV+ testing = 5%

Analytical Accuracy
Infection

Biological PPV 10.0%

Test	+	-	
+	950	190	1140
-	50	18810	18860
	1000	19000	20000

Clinical Accuracy
CIN2 or more severe

Test	+	-	
+	95	1045	1140
-	5	18855	18860
	100	19900	20000

Sensitivity for infection = 95.0%
Specificity for infection = 99.0%
PPV for infection = 83.3%

Sensitivity for CIN2+ = 95.0%
Specificity for CIN2+ = 94.8%
PPV for CIN2+ = 8.3%
Prevalence of HPV test positive = 5.7%

Giorgi Rossi, Ronco, Franceschi, submitted