

p16^{INK4a}- und Ki-67-Immunzytochemie als Zusatzmethode für die Gruppe IIID der gynäkologischen Zytologie

Der positive prädiktive Wert eines zytologischen Befundes der Gruppe IIID ist schwer ermittelbar, in der Literatur werden 13 bis etwa 25% [1, 15, 16] angegeben. Am zytologischen Material der Gemeinschaftspraxis für Pathologie in Potsdam ließ sich für die Gruppe IIID ein positiver prädiktiver Wert für CIN 2+ („cervical intraepithelial neoplasia“) von etwa 32% ermitteln, was mit den Erfahrungen anderer Zytologen übereinstimmt [17, 28]. Diese Situation ist für die behandelnden Gynäkologen und für die Patientinnen unbefriedigend. Eine Überbewertung mit unnötiger Stigmatisierung der Patientin führt u. U. zur Übertherapie mit einer in der Literatur mitgeteilten erhöhten Frühgeburtsrate [7]. Aber auch die Unterbewertung ist für die Patientin durch Verzögerung von Kontroll- und Therapiemaßnahmen nicht ungefährlich.

Die Einführung diagnostischer Zusatzverfahren in der *Basismethode* Zytologie setzt den Nachweis ihrer informativen Effektivität in Studien voraus. Das Design solcher Studien ist überwiegend dem Ziel untergeordnet, eine diagnostische Information durch die zu untersuchende Zusatzmethode mit einer *übergeordneten* Methode als *Goldstandard* zu überprüfen. Üblicherweise setzt man dazu kolposkopisch gestützt entnommene Biopsien ein. Dies kann aber immer nur eine auf den aktuellen Zustand beschränkte Aussage sein, die auch noch unter dem Vorbehalt methodischer Fehler der Prüfmethode steht [20, 29].

Das Ausgangsmaterial von Studien ist größtenteils asserviertes, liquidbasiertes entnommenes Zellmaterial aus früheren Untersuchungsreihen, sodass realistische klinische Bezüge fehlen. Die anonymisierte diagnostische Neubewertung ist also auch *nur* morphologisch und nicht klinisch orientiert, was nicht den Routinebedingungen ärztlicher Tätigkeit entspricht. Zudem ist die Anzahl positiver Fälle in einem Routinematerial gewöhnlich klein, sodass eine Anreicherung z. B. durch Aufnahme weiterer positiver Fälle und durch Zusammenfassung suspekter und positiver Diagnosen zu einer *positiven* Befundgruppe nötig wird. Praxisrelevante Aussagen sind durch Verlaufsstudien zu erzielen, die eine statistisch auswertbare Patientenzahl und ausreichend lange Beobachtungszeiten aufweisen. Unter konstanten Bedingungen kann bei Einhaltung aller Kontroll- und Therapiestandards die Entwicklung bei jeder Patientin verfolgt werden. Unsere Untersuchung hatte zum Ziel, unter den Routinebedingungen einer Praxis für Pathologie zu prüfen, ob der kombinierte Nachweis von p16^{INK4a} und Ki-67 die prognostische Aussagekraft zytologischer Befunde verbessern kann.

Material und Methoden

Der Nachweis der kombinierten Expression von p16^{INK4a} und Ki-67 mittels CINTec[®] PLUS (im Folgenden Dualstain) an zytologischem Material wurde für 222 Patientinnen parallel zur zytologischen Diagnostik an 82 entfärbten konventionellen Präparaten (36,9%) und 140 Präparaten liquidbasierter Zytologie („liquid based cytology“, LBC, ThinPrep[®]) durchgeführt. Konsekutiv wurden Patientinnen mit der Gruppe IIID aufgenommen. In **Tab. 1** sind die Patientendaten getrennt nach der zytomorphologischen Graduierung mit entsprechenden Unterschieden hinsichtlich des Anteils histologischer Klärungen sowie der Beobachtungsdauer dargestellt.

Primär wurde der zytologische Befund am nach Papanicolaou gefärbten konventionellen oder LBC-Präparat erstellt. Alle zytologischen Befunde wurden von einem Facharzt für Pathologie mit langjähriger Erfahrung in der gynäkologischen Zytologie im Routinebetrieb erbracht und später anonymisiert von einem weiteren Pathologen gelesen. Bei Differenzen wurde der Befund konsentiert. Ein zweites LBC-Präparat bzw. das entfärbte und

Tab. 1 Basisdaten zum Untersuchungsmaterial

Zytologie-Gruppe IIID	n	Durchschnittsalter (Jahre)	Mittlere Beobachtungsdauer (Monate)	Histologische Klärung n (%)
Leichte Dysplasie	130	34,3	17,6	36 (27,7)
Mäßige Dysplasie	92	32,7	8,9	71 (77,2)
Alle	222	33,5	14	107 (48,2)

n Anzahl.

Tab. 2 Statistische Validierung von Zytologie, HPV-Test und Dualstain für alle Patientinnen (Follow-up mit histologischem und zytologischem Endpunkt)

	Zytologie	HPV-Test	Dualstain
Sensitivität	100	95,8 (90,5–98,2)	92,4 (86,2–96)
Spezifität		23,3 (16,2–32,3)	72,8 (63,5–80,5)
Positiver prädiktiver Wert	53,6	59,1 (52–65,8)	79,7 (72,2–85,6)
Negativer prädiktiver Wert		82,8 (65,5–92,4)	89,3 (80,9–94,3)

Angaben in % (95%-Konfidenzintervall); HPV humane Papillomaviren („high risk“); Dualstain kombinierte p16^{INK4a}- und Ki-67-Immunzytochemie.

Tab. 3 Patientinnen mit histologischem Endpunkt, differenziert nach Methoden und deren Ergebnis

	Alle	Negativ	CIN 1	CIN 2	CIN 3
n (%)	107 (100)	3 (2,8)	12 (11,2)	44 (41,1)	48 (44,9)
Zytologie					
Leichte Dysplasie	36 (33,6)	3 (100)	12 (100)	16 (36,4)	5 (10,4)
Mäßige Dysplasie	71 (66,4)	0	0	28 (63,6)	43 (89,6)
HPV-Test					
Negativ	7 (6,5)	1 (33,3)	3 (25)	1 (2,3)	2 (4,2)
Positiv	100 (93,5)	2 (66,7)	9 (75)	43 (97,7)	46 (95,8)
Dualstain					
Negativ	16 (15,0)	3 (100)	8 (66,7)	3 (6,8)	2 (4,2)
Positiv	91 (85,1)	0	4 (33,3)	41 (93,2)	46 (95,8)

n Anzahl; CIN, „cervical intraepithelial neoplasia“; HPV humane Papillomaviren („high risk“); Dualstain kombinierte p16^{INK4a}- und Ki-67-Immunzytochemie.

Tab. 4 Patientinnen mit zytologischem Endpunkt, differenziert nach Methoden und deren Ergebnis

Gruppe IIID	Alle	Negativ (II)	Positiv (IIID, IVA)
n (%)	115 (100)	88 (76,5)	27 (23,5)
Zytologie			
Leichte Dysplasie	94 (81,7)	77 (87,5)	17 (63,0)
Mäßige Dysplasie	21 (18,3)	11 (12,5)	10 (37,0)
HPV-Test			
Negativ	22 (19,1)	20 (22,7)	2 (7,41)
Positiv	93 (80,9)	68 (77,3)	25 (92,6)
Dualstain			
Negativ	68 (59,1)	64 (72,7)	4 (14,81)
Positiv	47 (40,9)	24 (27,3)	23 (85,2)

n Anzahl; CIN, „cervical intraepithelial neoplasia“; HPV humane Papillomaviren („high risk“); Dualstain kombinierte p16^{INK4a}- und Ki-67-Immunzytochemie.

fotographisch dokumentierte konventionelle Präparat wurden einer immunzytochemischen Reaktion gegen p16^{INK4a} und Ki-67 unterzogen.

Die von den jeweiligen Einsendern mitgeteilten HPV-Testergebnisse für die Hochrisiko-Typen wurden von unterschiedlichen Labors im Routinebetrieb erstellt. In den meisten Fällen kam der

Hybrid-Capture-Test II (Qiagen) zum Einsatz, nur vereinzelt eine Polymerasekettenreaktion.

Das zytologische Follow-up wurde vom selben Untersucher ausgewertet und dokumentiert (MS Excel).

Die histologischen Befunde im Follow-up wurden bei den die jeweiligen Patientinnen betreuenden Gynäkologen erfragt.

In etwa 20% der Fälle wurde die histologische Diagnose an Konisationspräparaten in der Gemeinschaftspraxis für Pathologie Potsdam erstellt.

Endpunkte und Verlaufsbeobachtung

Als mögliche Endpunkte des Follow-ups wurden gewertet:

- a) positiv:
- *zytologisch*: nachfolgend mindestens zwei gleichlautend positive aufeinanderfolgende Befunde (Mindestbeobachtungsdauer 6 Monate),
 - *histologisch*: Konisation und Biopsie mit nachfolgender Laservaporisation, jeweils ab CIN 2;
- b) negativ
- *zytologisch*: nachfolgend mindestens zwei gleichlautend negative aufeinanderfolgende Befunde (Mindestbeobachtungsdauer 6 Monate),
 - *histologisch*: Konisation und Biopsie mit nachfolgender Laservaporisation, jeweils bei negativem Befund oder bei CIN 1.

Die Verlaufsbeobachtung fand unter Praxisbedingungen statt, sodass ein direkter Einfluss auf das Follow-up ausgeschlossen war. Das führte abhängig von der individuellen Vorgehensweise der betreuenden Gynäkologen zu einer Beobachtungsdauer von einem Monat (bei kurzfristiger histologischer Klärung) bis zu 36 Monaten (Durchschnitt 14 Monate). Für das Management der Patientinnen war der zytologische Befund ausschlaggebend, therapeutische Maßnahmen wurden entsprechend den Leitlinien durchgeführt.

Statistische Analyse

Die statistische Auswertung erfolgte durch Vergleich des Eingangsbefundes (Zytologie, HPV-Test, Dualstain) mit dem zytologischen oder histologischen Ergebnis am Auswertungszeitpunkt nach Einstufung des Eingangsbefundes als falsch- oder richtig-positiv bzw. falsch- oder richtig-negativ. Damit sind bei Festlegung unterschiedlicher Auswertungsansätze univariate statistische Analysen leicht möglich [11].

Ergebnisse

Wesentliches Ziel der Untersuchung ist die Gegenüberstellung der Maßzahlen der Validität für die IIID-Zytologie allein und in Kombination mit den beiden angewendeten Zusatzmethoden (HPV-Test, Dualstain; **Tab. 2**). Die zytologischen Eingangsbefunde sind *positiv* (Gruppe IIID). Für eine therapierelevante Auswertung mit Orientierung auf ein histologisch positives Ergebnis CIN 2+ erscheint auch eine zytomorphologische Dysplasigraduierung (gering- bzw. mittelgradig) sinnvoll.

Die immunzytochemische Untersuchung wurde bei Nachweis mindestens einer eindeutig kombiniert p16^{INK4a}- und Ki-67-markierten Plattenepithelzelle positiv gewertet. Für 107 Patientinnen (48,2%) konnte als Endpunkt ein histologischer Befund ermittelt werden, die durchschnittliche Zeit bis zur Operation betrug 7,1 Monate (1–32 Monate). Die Verteilung der histologischen Diagnosen für alle Patientinnen und getrennt für die untersuchten Methoden in Abhängigkeit von deren Ergebnis ist in **Tab. 3** aufgeführt. Die Verlaufsbewertung für die lediglich zytologisch kontrollierten 115 Patientinnen mit einer mittleren Verlaufs-dauer von 20,5 Monaten ist in **Tab. 4** dargestellt. Zytomorphologisch erfolgte Graduierungen von IIID-Befunden (Zellen einer gering- oder mittelgradigen Dysplasie) sind die Grundlage für das weitere Patientenmanagement. Sie wurden deshalb getrennt ausgewertet (**Abb. 1**). Für die mittelgradigen Dysplasien sind für beide Zusatzmethoden so wenige richtig negative Ergebnisse vorhanden, dass eine seriöse Berechnung von Spezifität und negativer Prädiktion nicht möglich ist. Unterschiede in der positiven Prädiktion bei Anwendung von Dualstain bei einem ersten und bei späteren Befunden einer Gruppe IIID zeigt **Abb. 2**. Zum Vergleich sind die Werte für die zytologische Untersuchung allein eingetragen.

Für eine Bewertung der Effektivität der hier eingesetzten Zusatzmethoden HPV-Test und Dualstain erfolgte die Berechnung des Odds Ratios (95%-Konfidenzintervall). Dabei wird die Erhöhung des Risikos hinsichtlich der Entwicklung einer

Pathologie 2012 · [jvn]:[afp]–[alp] DOI 10.1007/s00292-012-1613-9
© Springer-Verlag 2012

P. Ziemke · K. Marquardt

p16^{INK4a}- und Ki-67-Immunzytochemie als Zusatzmethode für die Gruppe IIID der gynäkologischen Zytologie

Zusammenfassung

Befunde der Gruppe IIID in der gynäkologischen Zytologie stigmatisieren Patientinnen und führen zu Unsicherheiten hinsichtlich weiterer Maßnahmen. Wir haben bei 222 Patientinnen mit einer IIID-Zytologie die kombinierte p16^{INK4a}- und Ki-67-Immunzytochemie (im Folgenden: Dualstain) eingesetzt. Die diagnostische Aussage von Zytologie, „High-risk“-HPV-Test und Dualstain wurde mit dem Verlauf korreliert. Als positiven Endpunkt werteten wir histologische Befunde ab CIN 2+ („cervical intraepithelial neoplasia“) bei Konisation oder bei Biopsie vor Laservaporisation sowie nachfolgende zytologische Befunde mit mindestens 2-mal wiederholter Klassifizierung als IIID oder einer Gruppe IVa. Für Zytologie, HPV-Test und Dualstain ergaben sich folgende statistische Aussagen (%): Sensitivität 100, 95,8 und 92,4; Spezifi-

tät –, 23,3 und 72,8; positiver prädiktiver Wert 53,6, 59,1 und 79,7; negativer prädiktiver Wert –, 82,8 und 89,3. Bei zytologisch geringgradiger Dysplasie konnten mittels Dualstain Spezifität und positive Prädiktion signifikant gesteigert werden (positive Prädiktion: Zytologie 29,2%, HPV 34,0%, Dualstain 57,4%). Bei zytologisch mittelgradiger Dysplasie fanden sich ebenfalls bessere Werte, aber keine signifikanten Unterschiede. Eine objektive individuelle Prognosezuweisung für Patientinnen mit IIID-Zytologie ist auch mittels der Dualstain-Anwendung nicht möglich, wohl aber ein deutlich besseres Patientenmanagement.

Schlüsselwörter

Zervikale intraepitheliale Neoplasie · Dysplasie · Zytologie · p16 · Ki-67

Immunocytochemistry of p16^{INK4a} and Ki-67 as adjunctive method for routine gynecological cytology of mild and moderate dysplasia

Abstract

Especially the cytological diagnoses of mild and moderate dysplasia are often followed by unnecessary stigmatization of patients and uncertainty in further clinical follow-up and therapy. Data from 222 patients including additional investigations by high-risk human papillomavirus (HPV) testing and combined immunocytochemistry for p16^{INK4a} and Ki-67 were documented, including cytological and histological follow-up. Overall for cytology, high risk HPV testing and dual staining the following characteristics concerning the presence of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) 2+ were calculated (in %): sensitivity 100, 95.8 and 92.4, specificity –, 23.3 and 72.8, positive predictive value 53.6, 59.1

and 79.7, negative predictive value –, 82.8 and 89.3, respectively.

There was a statistically significant advantage for higher specificity and positive predictive value for dual staining, especially for cytological diagnosis of low grade dysplasia. An objective individual risk stratification of patients with cytology of mild or moderate dysplasia is not available but the uncertainty in the management of these patients will be clearly reduced.

Keywords

Cervical intraepithelial neoplasia · Dysplasia · Cytology · p16 · Ki-67

CIN-2+-Läsion für eine eingangs-HPV- bzw. Dualstain-positive IIID-Patientin gegenüber einer Patientin mit HPV- bzw. Dualstain-Negativität berechnet. Für alle Patientinnen ergibt sich für den HPV-Test ein Odds Ratio (95%-Konfidenzintervall) von 6,927 (2,535–18,929) und für Dualstain von 32,738 (14,617–73,324). Für die IIID-Befunde einer geringgradigen Dys-

plasie finden sich Werte von 5,657 (1,259–25,413) bzw. 13,286 (5,157–34,225).

Diskussion

Additive Methoden in der Zytologie werden außer bei zweifelhaften Befunden (Gruppe III) bei gering- und mittelgradigen Dysplasien (Gruppe IIID) eingesetzt

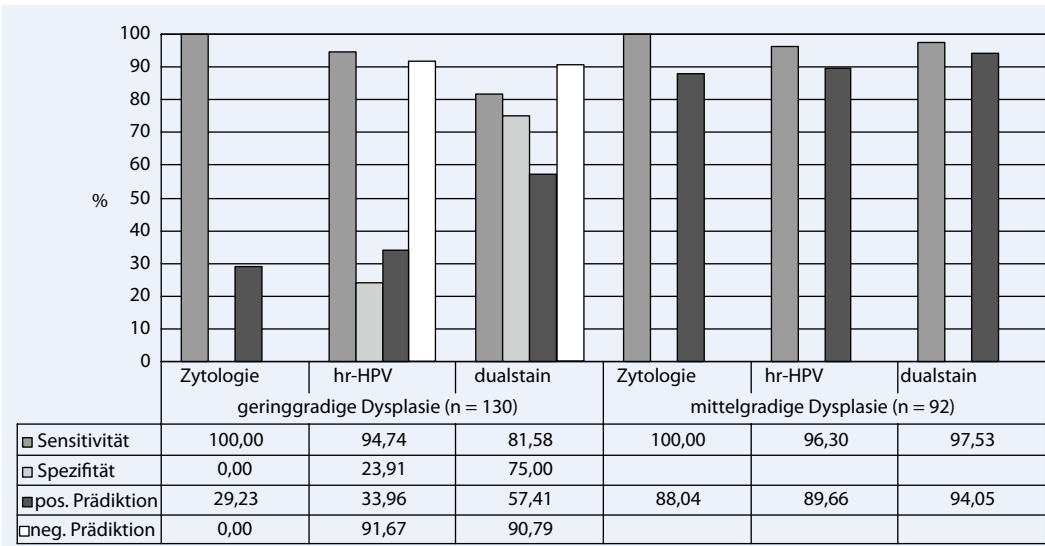


Abb. 1 Validierung von Zytologie, HPV-Test und Dualstain bei getrennter Betrachtung der zytomorphologisch erfolgten Graduierung des IIID-Befundes in gering- bzw. mittelgradige Plattenepitheldysplasie. *hr-HPV* „High-risk“-HPV-Test; *dualstain* kombinierte p16^{INK4a}- und Ki-67-Immunzytochemie

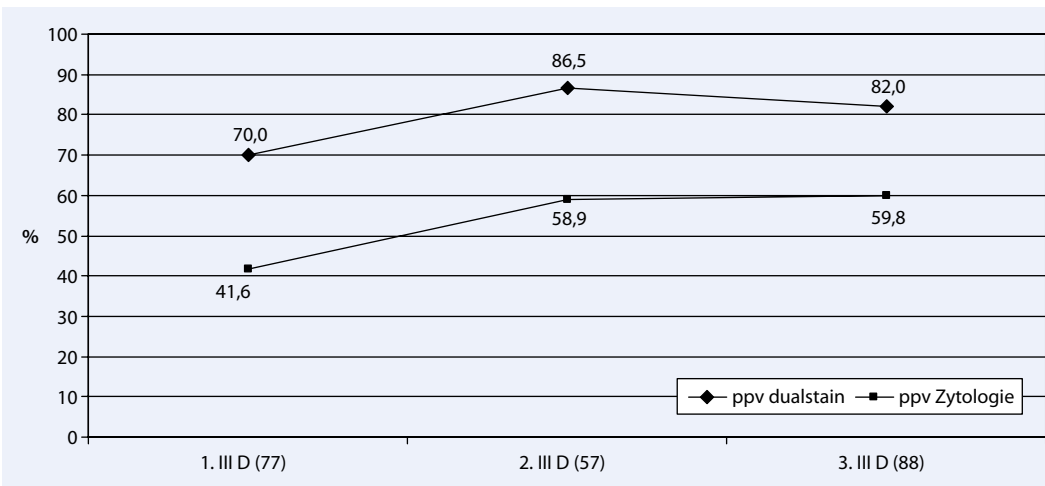


Abb. 2 Positive Prädiktion für Zytologie und Dualstain in Abhängigkeit vom Dualstain-Einsatz bei einem 1., 2. und 3. zytologischen Befund der Gruppe IIID. *dualstain* kombinierte p16^{INK4a}- und Ki-67-Immunzytochemie; *ppv* positiver prädiktiver Wert

[5, 13, 26]. Da einerseits eine hohe Rate spontaner Regressionen dieser Dysplasieformen bekannt ist [10, 15, 16, 28], diese Befundgruppe andererseits aber gleichzeitig oder in der weiteren Entwicklung mit einer höhergradigen Dysplasie (CIN 3) vergesellschaftet sein kann, bleibt auch bei diagnostisch korrekter Anwendung der zytologischen Kriterien das Kontroll- und Therapiemanagement für Gynäkologen und Patientinnen mit Unsicherheiten belastet [2]. Die Prognose ist bei einem einmaligen zytologischen Befund einer Gruppe IIID mittels zytologischer Kriterien nicht ausreichend sicher vorherzusagen. Erst bei Persistenz dieser zytologischen Diagnose findet sich bei histologischer Klärung ein ausreichend hoher Anteil zumindest mittelgradiger Plattenepitheldysplasien (CIN 2+).

Bedeutung der Biomarker p16^{INK4a} und Ki-67

Die Zusatzmethoden basieren auf den wissenschaftlichen Erkenntnissen zur Rolle der humanen Papillomaviren in der Pathogenese des Zervixkarzinoms [6, 12, 30]. Beginn und Ablauf der Kanzerogenese sind gebunden an die Expression der viralen Onkogene E6 und E7. Beide wirken an mehreren verschiedenen Stellen des Zellzyklus und begünstigen in proliferierenden Zellen über jeweils unterschiedliche Schadensmechanismen die proliferative Aktivität bis hin zur Immortalisation. Sie setzen u. a. mutationsverhindernde Kontrollmechanismen der späten G1-Phase außer Kraft. Die Verdrängung des Transkriptionsfaktors E2F aus seiner Bindung an ein Protein des Retinoblastom-

Gens durch E7 bewirkt dabei im Nebenschluss eine Aktivierung des p16-Gens mit immunzytochemisch darstellbarer Überexpression von p16^{INK4a} [22].

Da p16^{INK4a} Bestandteil einer inhibitorischen Kaskade am G1-Checkpoint ist, kann es auch in physiologisch proliferations-supprimierten Zellen (Metaplasie, Atrophie, post partum) immunzytochemisch darstellbar sein. Erst die Kombination mit gleichzeitig nachweisbaren Zellkernatypien in Dysplasiezellen lässt eine positive Wertung als Surrogatmarker der Wirkung des viralen Onkogens E7 zu [21]. Als eindeutig pathologisch kann der immunzytochemische p16^{INK4a}-Nachweis angesehen werden, wenn er in ein- und derselben Zelle in Kombination mit dem Antikörper Ki-67 auftritt [19]. Ki-67 ist zellkerngebunden in Zellen der späten

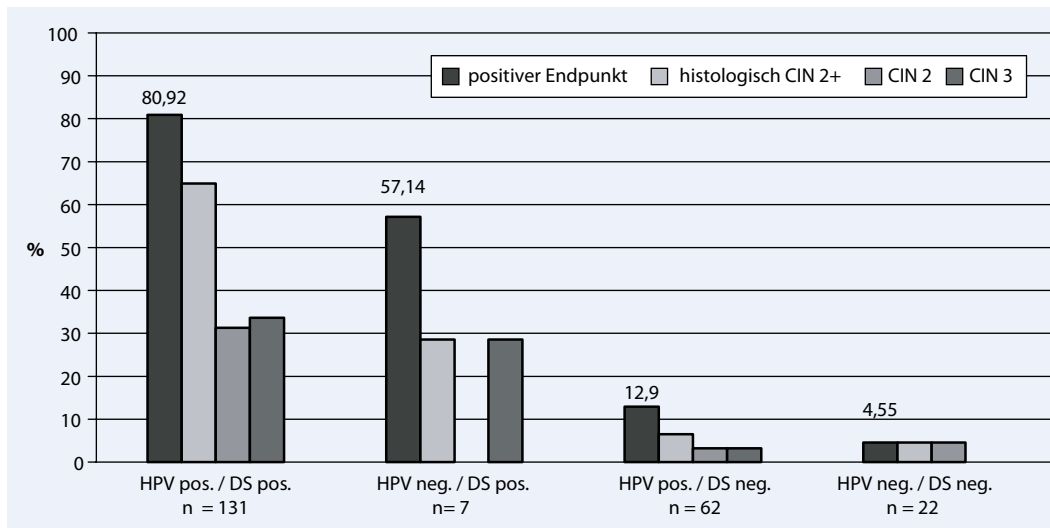


Abb. 3 ◀ Kombinierte Ergebnisse von HPV-Test (HPV) und Dualstain (DS) mit dem jeweiligen prozentualen Anteil positiver Endpunkte: positive zytologische und histologische Verläufe insgesamt, positive histologische Befunde (CIN 2+) sowie CIN 2 und CIN 3 getrennt. *CIN*, „cervical intraepithelial neoplasia“; *dualstain* kombinierte p16^{INK4a}- und Ki-67-Immunzytochemie; *ppv* positiver prädiktiver Wert; *pos.* positiv; *neg.* negativ

G1-, der S- und der Mitosephase positiv, also in Zellen, in denen p16^{INK4a} physiologisch keinesfalls exprimiert wird. Eine unterschiedliche Visualisierung zeigt bei kombinierter Reaktion p16^{INK4a} im Zytoplasma braun (DAB) und Ki-67 im Zellkern rot („fast red“) markiert.

Die praktische Anwendung von p16^{INK4a} als einzelner Biomarker zur prognostischen Stratifizierung zytologischer Befunde gering- und mittelgradiger Plattenepitheldysplasien hat keinen überzeugenden Erfolg gezeigt. Zwar sind die Werte für die Spezifität und positive Prädiktion im Vergleich zur Zytologie und der HPV-Testung deutlich besser, reichen aber für eine therapierelevante Prognose nicht aus. Literaturangaben reichen in der Spezifität von 29,6 bis 91,7% und in der positiven Prädiktion von 32,1 bis 71,4%. Der Mittelwert für die Spezifität und die positive Prädiktion aus den hier ausgewerteten Publikationen beträgt 68,1% bzw. 50,8% [3, 4, 8, 9, 14, 18, 23, 24, 25, 27]. Diese Arbeiten sind in der prognostischen Aussage durch einen Endpunkt, der ganz überwiegend auf kolposkopisch gestützt entnommenen Biopsien basiert, und z. T. sehr geringe Fallzahlen eingeschränkt.

Ergebnisse der Dualstain-Methode

Die in der vorliegenden Verlaufsbeobachtung berichteten Ergebnisse der Anwendung von CINtec® PLUS (Dualstain) zeigen sowohl für alle einbezogenen zytologischen Befunde unterschiedlicher Dysplasiegrade als auch allein für die gering-

gradige Plattenepitheldysplasie deutlich bessere prädiktive Werte (■ **Abb. 1**).

Die Ursachen für das Auftreten falsch-positiver und falsch-negativer Dualstain-Ergebnisse sind im Einzelfall nicht sicher erkennbar. Für die falsch-positiven Befunde ist wohl die Tatsache verantwortlich, dass der oben dargestellte, durch E6 und E7 vermittelte Schädigungsmechanismus am G1-Checkpoint nur einer von mehreren oder vielen Einwirkungen dieser Onkoproteine im Zellzyklus ist [30]. Möglicherweise führen also andere parallele Schädigungsmechanismen zum späteren Untergang der in der aktuellen Dualstain-Untersuchung positiv zu wertenden Zellpopulation oder die aktuell dargestellte Dysregulation im Zellzyklus führt nicht zu onkogenen Veränderungen späterer Zellgenerationen. Der Nachweis einer Überexpression von p16^{INK4a} in einer mit Ki-67 als proliferierend markierten Zelle stellt also nicht zwangsläufig einen „point of no return“ in der Pathogenese des Zervixkarzinoms dar. Dafür spricht schon die Tatsache, dass falsch-positive Dualstain-Befunde bei zytomorphologisch geringgradiger Dysplasie erheblich häufiger sind als bei Diagnosen mittelgradiger Dysplasien. Weiterhin finden sich bei einem Einsatz von Dualstain für den ersten zytologischen Befund einer gering- und/oder mittelgradigen Dysplasie deutlich, aber nicht signifikant schlechtere positiven prädiktiven Werte im Vergleich zur Anwendung bei persistierenden Dysplasiebefunden (■ **Abb. 2**).

Falsch-negative Dualstain-Befunde sind bei fehlender Erfassung der wirklich geschädigten Zellen möglich. Sie können theoretisch zustande kommen, wenn zytomorphologisch Dysplasiezellen diagnostiziert werden, ohne dass eine Überexpression von E6 und E7 schon zu irreparablen Schäden im Zellzyklus geführt hat. Aber auch Probleme der Präparatequalität spielen für Auffindung und Interpretation von Dualstain-markierten Zellen eine entscheidende Rolle: Bei einem Vergleich von konventionellen mit liquidbasierten Präparaten sind alle neun falsch-negativen Dualstain-Ergebnisse bei der Diagnostik konventioneller Präparate aufgetreten. Dies schlägt sich in einer signifikant schlechteren Sensitivität [konventionell 80,4% (CI 95%: 66,8–89,3) vs. LBC 100%] und negativen Prädiktion [konventionell 76,3% (CI 95%: 60,8–87) vs. LBC 100%] nieder. Allerdings ist diese Aussage infolge der kleinen Fallzahlen falsch-negativer Ergebnisse mit Einschränkung zu werten.

Ein Vergleich der diagnostischen Effektivität der hier einbezogenen Zusatzmethoden HPV-Test und Dualstain zeigt bei Berechnung des Odds Ratios deutlich bessere Werte für Dualstain im Vergleich zum HPV-Test als Zusatzmethode. Dies ist auch in ■ **Abb. 3** ersichtlich, die die Anteile der positiv gewerteten Verläufe bei den Ergebniskombinationen von HPV-Test und Dualstain darstellt.

Fazit für die Praxis

- Bei zytomorphologisch geringgradiger Plattenepitheldysplasie werden Spezifität und positive Prädiktion für die Gruppe IIID durch die Anwendung von kombinierter p16^{INK4a}- und Ki-67-Immunzytochemie (Dualstain) erheblich angehoben. Eine objektive individuelle Prognosezuweisung ist nicht möglich, wohl aber ein deutlich besseres Patientenmanagement.
- Bei zytomorphologisch mittelgradiger Plattenepitheldysplasie wird die positive Prädiktion der Zytologie durch die Anwendung von Zusatzmethoden nicht wesentlich verbessert. Die Dualstain-Anwendung bietet aber eine hohe Sicherheit bei der Indikation therapeutischer Maßnahmen.
- Die Anwendung von Dualstain bei einem ersten zytologischen Dysplasiebefund ist schlechter in der Spezifität und positiven Prädiktion als bei späterem Einsatz.
- Sensitivität und negative Prädiktion der Dualstain-Anwendung sind bei Verwendung konventioneller Präparate gegenüber liquidbasiertem Untersuchungsmaterial signifikant niedriger.

Korrespondenzadresse



Dr. P. Ziemke
Gemeinschaftspraxis für
Pathologie
Amtsstr. 5 a, 14469 Potsdam
gppathopotsdam@t-online.de

Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor gibt für sich und seine Koautorin an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur

1. Böcking A, Motherby H (1999) Abklärung zervikaler Dysplasien mittels DNA-Bild-Zytometrie. *Pathologie* 20:25–33
2. Böhmer G, Petry KU, Iftner T et al (2002) Der DNS-Nachweis humaner Papillomviren mittels Hybrid Capture ist als sekundäre Screeningmethode bei rezidivierenden atypischen Abstrichen der Befundklasse Pap IIID ungeeignet. *Zentralbl Gynakol* 124:111–115
3. Denton KJ, Bergeron CH, Klement P et al (2010) The sensitivity and specificity of p16^{INK4a} cytology vs HPV testing for detecting high-grade cervical disease in the triage of ASC-US and LSIL pap cytology results. *Am J Clin Pathol* 134:12–21
4. Guo M, HU L, Baliga M et al (2001) The predictive value of p16^{INK4a} and hybrid capture 2 human papillomavirus testing for high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Clin Pathol* 122:894–901
5. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D et al (2001) Overexpression of p16^{INK4a} as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. *Int J Cancer* 92:276–284
6. Knebel Doeberitz M von (2001) Aspekte der molekularen Pathogenese des Zervixkarzinoms für neue Marker in der Krebsfrüherkennung und Diagnostik. *Zentralbl Gynäkol* 123:186–191
7. Kyrgiou M, Koliopoulous G et al (2006) Obstetric outcomes after conservative treatment for intraepithelial or early invasive cervical lesions: systematic review and meta-analysis. *Lancet* 367:489–498
8. Ma YY, Cheng XD, Zhou CY et al (2001) Value of P16 expression in the triage of liquid-based cervical cytology with atypical squamous cells of undetermined significance and low-grade squamous intraepithelial lesions. *Chin Med J* 124:2443–2447
9. Meyer JL, Hanlon DW, Andersen BT et al (2007) Evaluation of p16^{INK4a} expression in ThinPrep cervical specimens with the CINtec p16^{INK4a} Assay. *Cancer Cyt* 111:83–92
10. Nasiell K, Roger V, Nasiell M (1986) Behavior of mild cervical dysplasia during long-term follow-up. *Obstet Gynecol* 67:665–669
11. Raab S (1993) Diagnostic accuracy in cytopathology. *Diagn Cytopathol* 10:68–75
12. Reuschenbach M, Vinokura S, Knebel Doeberitz M von (2011) HPV-associated carcinomas of the female genital tract. Molecular mechanisms of development. *Pathologie* 32:451–460
13. Ridder R, Wentzensen N, Knebel Doeberitz M v (2003) Biomarker in der Differenzialdiagnostik von HPV-assoziierten Läsionen. *Gynäkologie* 36:323–330
14. Rocha AS (2009) Antibody Anti-p16^{INK4a} in Cervical Cytology. *Acta Cytol* 53:253–262
15. Rummel HH, Frick R, Heberling D, Schubert D (1977) Verlaufskontrolle bei Patientinnen mit suspekter Zytologie (Papanicolaou IIID). *Geburtshilfe Frauenheilkd* 37:521–526
16. Sander H, Kattner W, Soost HJ (1978) Die zytologische Diagnose einer Dysplasie leichten und mittleren Grades. *Geburtshilfe Frauenheilkd* 38:726–734
17. Schenck U (2009) IIID- und IVa-Befunde: Aspekte zu Verlauf und Patientenmanagement. 20. Fortbildungstagung Klinische Zytologie. München
18. Schledermann D, Andersen BT, Bisgaard K et al (2008) Are adjunctive markers useful in routine cervical cancer screening? *Diagn Cytopathol* 36:453–459
19. Schmidt D, Bergeron CH, Denton KJ et al (2011) p16/Ki-67 Dual-stain cytology in the triage of ASCUS and LSIL papanicolaou cytology. *Cancer Cytopathol* 119:158–166
20. Stoler MH et al (2011) The accuracy of colposcopic biopsy: analyses from the placebo arm of the Gardasil clinical trials. *Int J Cancer* 128:1354–1362
21. Trunk MJ, Dallenbach-Hellweg G, Ridder R et al (2004) Morphologic characteristics of p16^{INK4a}-positive cells in cervical cytology samples. *Acta Cytol* 48:771–782
22. Trunk MJ, Wentzensen N, Knebel Doeberitz M von (2005) Molecular pathogenesis of cervical cancer. *Pathologie* 26:283–290
23. Tsoumpou I, Valasoulis G, Founta C et al (2011) High-risk human papillomavirus DNA test and p16^{INK4a} in the triage of LSIL: a prospective diagnostic study. *Gynecol Oncol* 121:49–53
24. Valasoulis G, Tsoumpou I, Founta C et al (2011) The role of p16^{INK4a} immunostaining in the risk assessment of women with LSIL cytology: a prospective pragmatic study. *Eur J Gynaecol Oncol* 32:150–152
25. Wentzensen N, Bergeron CH, Cas F et al (2007) Triage of women with ASCUS and LSIL cytology: use of qualitative assessment of p16^{INK4a} positive cells to identify patients with high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Cancer Cytopathol* 111:58–66
26. Wentzensen N, Klug ST (2008) Früherkennung des Zervixkarzinoms. *Dtsch Arztebl* 105:617–622
27. Ziemke P (2005) Immunzytochemie (p16INK4a) als Zusatzuntersuchung bei zytologischen Befunden der Gruppe IIID. *Zentralbl Gynäkol* 127:140–145
28. Ziemke P, Adams HP (2009) Predictive value of the cytological diagnosis class IIID (Munich II, low and moderate dysplasia) without and with additional methods. *Verh Dtsch Ges Zyt*, S 204–205
29. Zuchna C, Hager M, Tringler B et al (2010) Diagnostic accuracy of guided cervical biopsies: a prospective multicenter study comparing the histopathology of simultaneous biopsy and cone specimen. *Am J Obstet Gynecol* 203:321–326
30. Hausen H zur (2002) Papillomavirus and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2:342–350